

UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA



**“CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y NUTRICIONAL DE LECHE
FERMENTADAS DE CABRA”**

TESIS DOCTORAL

ALIDA VERÓNICA QUINTANA LÓPEZ

(Becaria de MAE-AECID)

2011

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: Alida Verónica Quintana López
D.L.: GR 911-2012
ISBN: 978-84-694-9336-6

Dr. Manuel Olalla Herrera. Profesor Titular de la Universidad de Granada

Dra. M^a Dolores Ruiz-López. Profesora Titular de la Universidad de Granada

Dr. Miguel Navarro Alarcón. Catedrático de la Universidad de Granada

CERTIFICAN:

Que los trabajos de investigación que se exponen en la Memoria de Tesis Doctoral: **“Caracterización fisicoquímica y nutricional de leches fermentadas de cabra”** han sido realizados bajo nuestra dirección por la Licenciada Alida Verónica Quintana López y la encontramos conforme para ser presentada y aspirar al Grado de Doctor por la Universidad de Granada con el tribunal que en su día se designe.

Y para que conste, en el cumplimiento de las disposiciones vigentes, extendemos el presente en Granada, julio de 2011.



**MEMORIA QUE PRESENTA LA LICENCIADA ALIDA VERÓNICA
QUINTANA LOPEZ PARA ASPIRAR AL GRADO DE DOCTOR POR LA
UNIVERSIDAD DE GRANADA.**

ESTA TESIS DOCTORAL HA SIDO REALIZADA BAJO LA DIRECCIÓN DE:

Dra. D^a. María Dolores Ruíz López

Dr. D. Manuel Olalla Herrera

Dr. D. Miguel Navarro Alarcón

Lda. D^a Alida Verónica Quintana López

Granada, 2011

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS

En esta etapa tan importante de mi vida que ahora llega a su fin, quiero expresar mi agradecimiento a todas las personas que directa o indirectamente han hecho posible la realización de esta tesis.

Especialmente quiero agradecer a mis directores, al Dr. Manuel Olalla, al Dr. Miguel Navarro Alarcón y a la Dra. M^a Dolores Ruíz-López, por haberme permitido trabajar con ellos, por su dedicación, buenos consejos, por el tiempo y ayuda que me han brindado en cada momento.

A la Dra. Carmen Cabrera Viqué por su constante apoyo y por su amistad y al Dr. Rafael Giménez Martínez, por su gran humanidad y cercanía y por su ayuda en muchos momentos de este trabajo.

A Tarsi por su disposición a ayudarme en todo momento y por su buen humor que alegran todas las mañanas. Al Dr. Eduardo Guerra y a todas las personas que trabajan en el Dpto. de Nutrición y Bromatología con los que he compartido gratos momentos.

A todos mis compañeros y amigos del laboratorio, sin los cuales no hubiese sido tan agradable mis días en él, a Marta por su carme de apuro tantas veces, porque siempre está dispuesta a ayudar y especialmente por su buena amistad, a José del Carmen, Jessenia y María de Alba que aunque ahora están lejos, los considero mis grandes amigos y los quiero muchísimo, a Cristi, Melqui, Jimmy, Triana, Miriam, Silvia, José Ángel, Rosa, Vane, Roció, Nacira y a todas las personas con las que he compartido a lo largo de estos 4 años.

A Jéssica, mi gran amiga querida, que siempre estuvo ahí, en los buenos y malos momentos, por sus consejos, por su ayuda, por lo bien que la pasamos juntas y por ser cómplice de mis sueños y también de mis desilusiones.

A mi amiga Isabel por su amistad y ayuda incondicional.

A mis padres por su amor incondicional, porque siempre me han apoyado, especialmente mi padre que quería que terminara el doctorado, aun pasado por sus peores momentos.

GRACIAS.

A mis padres...

ÍNDICE

ÍNDICE GENERAL

I. OBJETIVOS.....	1
II. INTRODUCCIÓN.....	5
1. LECHE DE CABRA	
1.1. Definición.....	5
1.2. Antecedentes históricos.....	5
1.3. Producción de leche de cabra.....	5
1.4. Propiedades físico-químicas.....	9
1.5. Composición química.....	10
2. LECHE FERMENTADAS	
2.1. Definición.....	24
2.2. Historia.....	25
2.3. Producción y consumo de leches fermentadas.....	25
2.4. Características.....	28
3. YOGUR.....	30
3.1. Historia.....	30
3.2. Definición.....	31
3.3. Composición química.....	32
3.4. Valor nutritivo.....	36
3.5. Tipos de yogur.....	39
3.6. Requisitos.....	41
3.7. Proceso de elaboración del yogur.....	42
3.8. Conservación.....	51
3.9. Problemas de fabricación.....	52
3.10. Propiedades organolépticas.....	53

4. LABNEH.....	55
5. KEFIR.....	56
5.1. Definición.....	56
5.2. Antecedentes históricos.....	56
5.3. Tipos de kéfir.....	58
5.4. Características generales.....	58
5.5. Granos de kéfir.....	59
5.6. Parámetros físico-químicos.....	62
5.7. Composición Físico-química.....	62
5.8. Valor nutritivo.....	63
5.9. Procedimiento de elaboración.....	64
5.10. Otra manera de producir kéfir.....	66
5.11. Diferencias entre el yogur y el kéfir.....	68
5.12. Beneficios del kéfir para la salud.....	68
6. OTRAS LECHES FERMENTADAS.....	69
7. IMPORTANCIA DEL YOGUR Y OTRAS LECHES FERMENTADAS EN LA SALUD.....	73
III. MATERIAL Y MÉTODO.....	81
1. Muestras.....	81
2. Tratamiento de las muestras.....	83
3. Técnicas analíticas.....	83
3.1. Análisis físico químicos.....	83
3.2. Métodos enzimáticos.....	95
3.3. Minerales.....	106
3.4. Ácidos grasos.....	134
3.5. Estudio estadístico.....	147

IV. RESULTADOS.....	151
V. DISCUSIÓN.....	165
VI. CONCLUSIONES.....	221
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	227
/III. ANEXOS.....	265

I. OBJETIVOS

I. OBJETIVOS

Existen múltiples factores que pueden influir en la composición de las leches fermentadas: entre ellos podemos indicar la especie de origen, las diferencias genéticas e individuales de los animales, la alimentación, el estado de lactación, las condiciones de almacenamiento, tratamientos tecnológicos, etc. Es importante reseñar que la composición final de las leches fermentadas comerciales puede verse influenciada por las especies y cepas de bacterias ácido lácticas usadas en la fermentación, así como por los parámetros que pueden determinar ésta.

Existen pocos estudios relativos a la influencia de los factores implicados en la composición de las leches fermentadas, sobre todo de cabras. Dada la importancia económica que el sector caprino supone en Andalucía, consideramos de gran interés el desarrollo del presente trabajo, habida cuenta de los beneficios nutricionales asociados al consumo de leche de cabra descritos en bibliografía.

Teniendo en cuenta lo descrito, los objetivos planteados en el estudio son:

- Caracterizar físico química y nutricionalmente las leches comerciales de cabra y vaca, y las crudas de cabra.
- Establecer una base de datos de los principales parámetros físico-químicos y nutricionales de las leches fermentadas comerciales de cabra y vaca.
- Caracterizar físico química y nutricionalmente las leches fermentadas con una bacteria de uso probiótico desarrollada por nuestro grupo de investigación.
- Poner a punto las diferentes técnicas para la determinación de los principales parámetros físico-químicos (pH, acidez, extracto seco y cenizas), y la composición nutricional y de calidad (acetaldehído, lactosa, galactosa, proteínas, grasas, ácido láctico, calcio, cobre, cromo, fósforo, magnesio, manganeso, selenio, zinc y el perfil de ácidos grasos) de las leches fermentadas estudiadas.

- Aplicación de las técnicas optimizadas al control de calidad y valor nutricional aplicable a cualquier tipo de leche fermentada.
- Determinar si existe una relación entre los parámetros analizados y la especie de procedencia de la leche (cabra/vaca) y el tipo de cultivo añadido (kéfir, *Bifidobacterium bifidus*, bacterias del yogur: *S. thermophilus* y *L. bulgaricus* y otras bacterias probióticas).

II. INTRODUCCION

1. LECHE DE CABRA

1.1. Definición

Según el Código Alimentario Español (CAE, 2006), se entiende por leche natural el producto íntegro, no alterado ni adulterado y sin calostros, del ordeño higiénico, regular, completo e ininterrumpido de las hembras mamíferas domésticas sanas y bien alimentadas. También la legislación indica que la denominación genérica de “leche” se aplica única y exclusivamente a la leche natural de vaca. Las leches provenientes de otras hembras de animales domésticos se designarán indicando además el nombre de la especie correspondiente, en este caso leche de cabra.

1.2. Antecedentes históricos

Existen evidencias arqueológicas de la existencia de las cabras en la cultura Natufia que abarcó desde el año 11.000 hasta el 9.300 a.C. y que se expandió por Palestina y Levante (Vega y cols., 2005).

Con el transcurso del tiempo, la leche y los derivados lácteos, se fueron incluyendo y arraigando al repertorio alimentario humano.

La adaptabilidad a climas variados y condiciones de manejo, aunado a su docilidad y la posibilidad de obtener leche diariamente, hacen de la cabra un animal de gran valor actual y futuro para mejorar el nivel de vida de los productores. Ha sido considerada como uno de los animales domésticos de mayor aprovechamiento sobre todo por su leche y carne, aunque también por su piel y otras partes de su cuerpo (Sánchez, 2004).

1.3. Producción de leche de cabra

Aunque en algunas partes del mundo puede que no sea importante la contribución de la leche de cabra para el bienestar económico y nutricional de la humanidad, es innegable en muchos países en desarrollo, especialmente en el Mediterráneo, Oriente Medio, Europa Oriental y los países de América del Sur (Ribeiro y Ribeiro, 2010). La producción de lácteos de cabra y de ovejas, son una

parte vital de la economía nacional en muchos países, especialmente en el Mediterráneo y región del Oriente Medio (FAO, 2003), y está particularmente bien organizada en Francia, Italia, España y Grecia (Park y Haenlein, 2006).

A pesar de que la producción mundial de leche de cabra es menor comparada con la leche de vaca (2,1% vs 84,6% de la producción total), la producción láctea ha alcanzado los 12,2 millones de toneladas, logrando un aumento del 58% en el año 2004 (FAO, 2004).

En las naciones pobres, donde el ganado caprino tiene todavía a su cargo la misión fundamental de producir alimentos y rentas a sus pobladores, el censo caprino ha tenido un enorme incremento, muy por encima de otras especies. En estas zonas en desarrollo, especialmente en las zonas más pobres de Asia, África e Iberoamérica, el ganado caprino juega un papel social y económico muy destacado, ya que es el ganado que sustenta a las poblaciones más pobres y marginales, representando de masiadas veces la frágil barrera que se para el hambre de la subsistencia. En Asia y África, la leche de cabra juega un importante papel en la economía nacional y especialmente en la rural (Pandya y Ghodke, 2007). El principal país productor mundial de leche de cabra es India, con 2,6 millones de toneladas (22% de la producción mundial), seguido por Bangladesh con 1,4 millones de toneladas y Sudán con un total de 1,3 millones de toneladas.

Se puede decir que la producción mundial de este tipo de leche se concentra, principalmente, en países caracterizados por rentas bajas y condiciones ambientales poco favorables para la explotación de otro tipo de rumiantes, es decir áreas tropicales o muy áridas. En estos países el destino fundamental de la leche es el consumo humano.

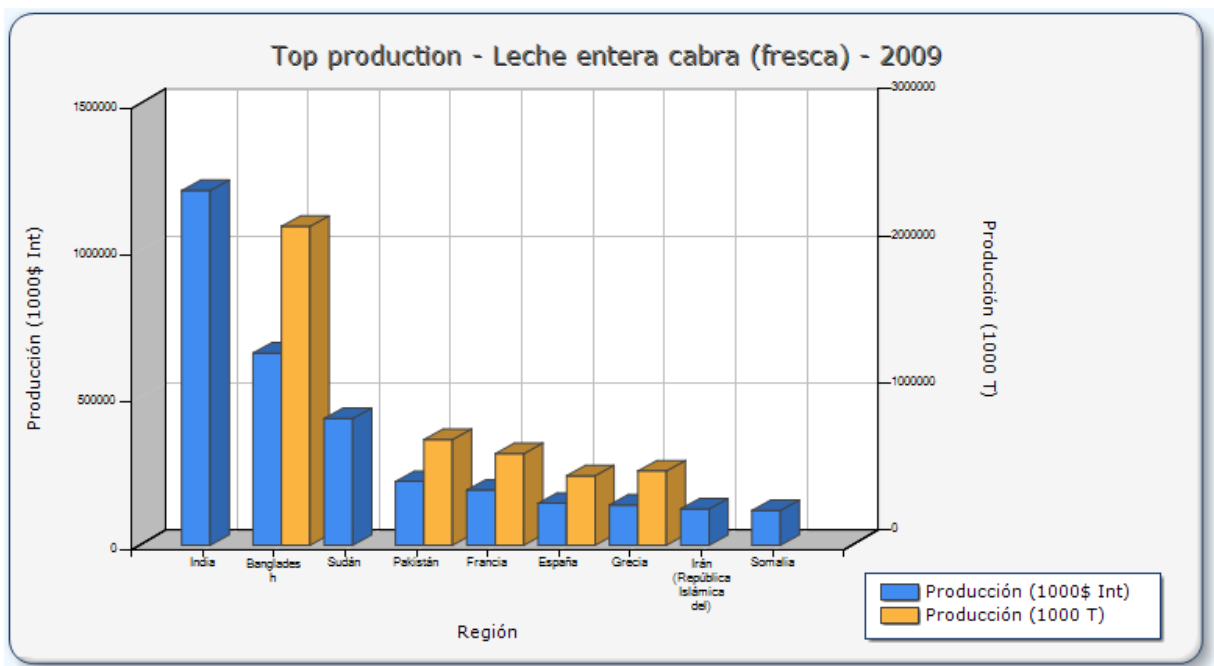
Por otra parte, en las naciones con mayor nivel de renta, el caprino tiene poca importancia numérica, si n embargo juega un interesante papel como productor de alimentos de alta calidad gastronómica y precio, especialmente en Europa. Así, en la UE apenas hay unos 14 millones de cabras y su producción de leche no representa más allá del 1% de la leche total producida, pero este ganado y sus sistemas de producción están muy arraigados, sobre todo en el área del Mediterráneo. Durante la última década, el ganado caprino lechero se ha expandido en las zonas áridas y semiáridas del sur del continente. Francia,

España y Grecia representan los principales productores de leche de cabra, con un total de 540, 470 y 460 millones de toneladas de leche, respectivamente.

La leche de cabra en España

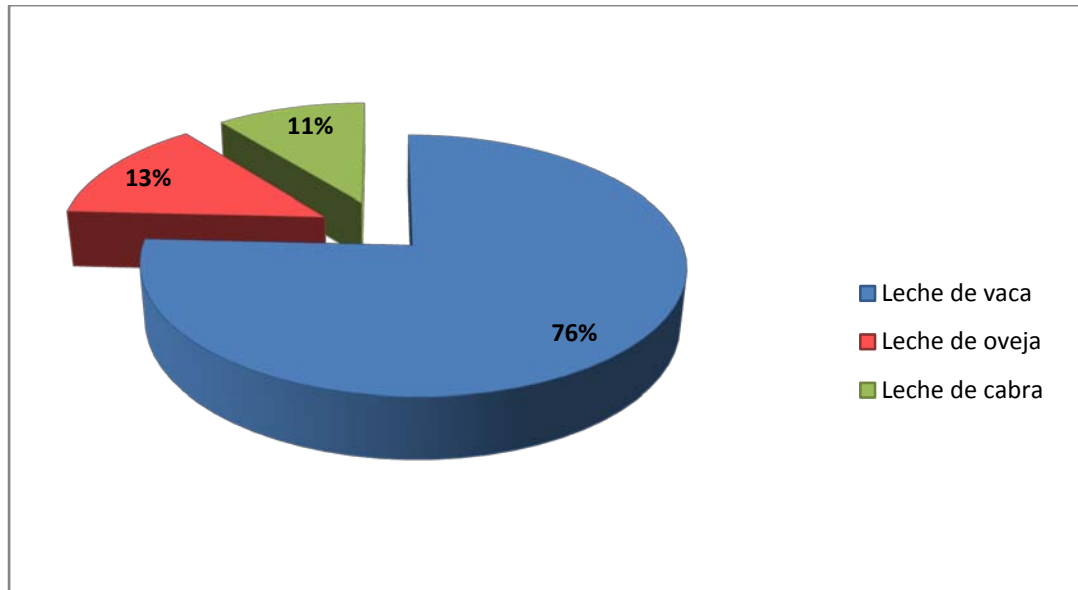
Con respecto a la producción de leche de cabra a nivel mundial, España se sitúa en el sexto puesto. En la figura 1 se muestran los 9 países más importantes productores de leche de cabra en el año 2009.

FIGURA 1. Producción media de leche de cabra a nivel mundial



Fuente: FAOSTAT, 2009.

España conserva un excelente patrimonio genético caprino, con razas autóctonas muy rústicas y otras ya bastante seleccionadas y productivas, conservando sistemas todavía muy tradicionales junto a otros modernos y optimizados. Asimismo, los productos de las cabras están dejando de ser productos tradicionales locales y están desarrollando un mercado de alimentos de calidad con alta demanda y precio (quesos de calidad y cabrito lechal). En la figura 2 se muestra la producción de leche de distintas especies animales en España.

FIGURA 2. Producción de leche de distintas especies animales en España

Fuente: MARM, 2008.

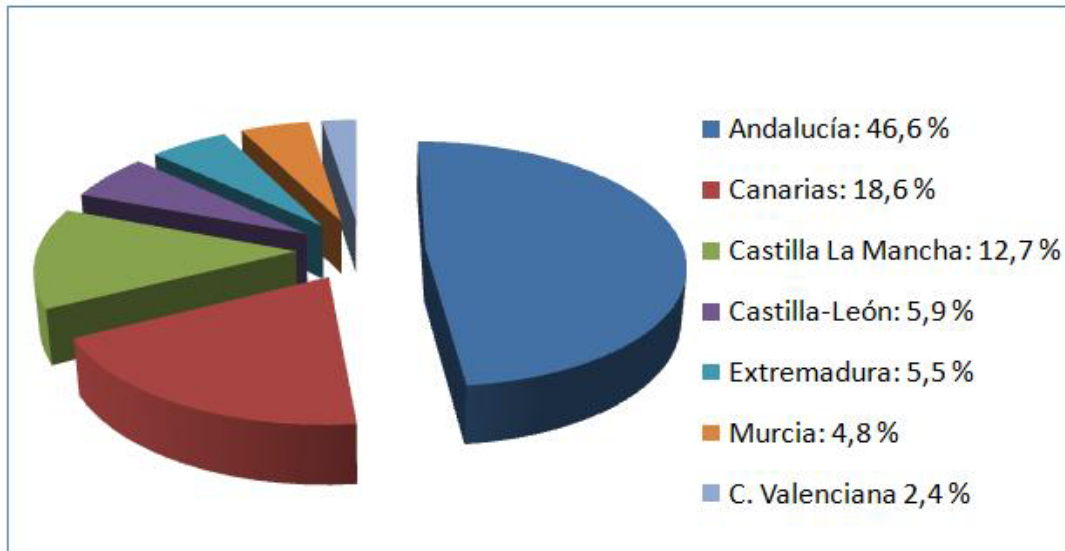
España, y concretamente Andalucía, se encuentran a la cabeza de la producción mundial de leche de cabra, con varias razas autóctonas (figura 3). El ganado caprino ha sido un pilar económico en el desarrollo de zonas geográficas desfavorecidas en Andalucía. La utilización de este producto como materia prima para elaborar leches fermentadas contribuye al mantenimiento de la población en las zonas de producción y a la diversificación de sus actividades económicas, conjugando tradiciones con los nuevos avances científicos y tecnológicos. Esto propicia la revalorización, promoción y mantenimiento del medio y de sus recursos naturales y humanos, impulsando el desarrollo sostenible.

El censo de ganado caprino se ha mantenido estable en los últimos años gracias al buen mercado, tanto de la leche como del cabrito lechal. En cuanto a la producción lechera se ha pasado de 370 millones de litros en 1996 a más de 423 en 2006, incrementándose en un 15 % la producción con el mismo censo, lo que denota la mejora que se está produciendo en este sector.

En Andalucía el ganado caprino ha evolucionado hacia sistemas lecheros, y se concentra en las provincias de Málaga, Sevilla, Granada y Almería, donde estos sistemas se han modernizado más rápidamente, en tanto que en la

provincia de Huelva aún predominan los sistemas semiextensivos carne-leche. (Mena y cols., 2005)

FIGURA 3. Producción de leche de cabra en distintas regiones españolas



Fuente: MARM, 2008.

A pesar de su bajo consumo, la leche de cabra está adquiriendo un gran interés nutricional por la actual tendencia hacia una alimentación saludable en los países desarrollados (Chandan y cols., 1992). La demanda de la misma y de sus productos derivados ha ido en aumento en los últimos años debido a sus beneficios nutricionales y de salud. Esto incluye una mayor digestibilidad y menor poder alergénico respecto a la leche de vaca (Spuergin y cols., 1997; Alférez y cols., 2001; Barrionuevo y cols., 2002).

1.4. Propiedades físico – químicas

La *acidez* está en función del período de lactación y del contenido de caseínas, iones y sales minerales. Al final de dicho período su valor normal es de 16 a 18°Dornic (°D), en tanto que en el momento del ordeño, oscila entre 12 y 14°D (1°D= 0,1 mg de ácido láctico en un litro de leche)

La *densidad de la leche de cabra* presenta valores similares al de la de vaca, con un intervalo entre 1,026 y 1,042 g/ml. El *pH* normal se encuentra comprendido entre 6,3 a 6,8 y el *punto de congelación* es de -0,580°C.

La *viscosidad* se encuentra comprendida entre 1,288 a 1,585 centipoises a 27°C. La misma disminuye a medida que aumenta la temperatura (Le Mens, 1993; Alcalde Aldea, 1998).

Las características organolépticas de la leche de cabra están condicionadas directamente con la dieta que recibe el animal (Boza, 1992).

La leche de cabra tiene un color muy blanco debido a la ausencia de carotenos y a que sus micelas son muy pequeñas, permitiendo de esta manera una mayor difusión de luz (Alcalde Aldea, 1998; Raynal-Ljutovac y cols., 2008), su aspecto debe ser limpio y sin grumos.

El olor de la leche recién ordeñada es neutro, aunque al final de la lactación suele aparecer un olor cáprico que la distingue (Le Mens, 1993).

El sabor característico de la leche de cabra se debe, a los ácidos grasos libres, especialmente los de cadena ramificada 4-metiloctanoico y 4-etiloctanoico y a la presencia de ácidos grasos de cadena corta: cáprico, caprílico y capróico (Silanikovea y cols., 2010). El sabor fuerte y penetrante, se le atribuye al ordeño de la leche bajo condiciones antihigiénicas, un tratamiento y almacenamiento incorrecto o a su descomposición.

1.5. Composición química

Los componentes de la leche de cabra son sintetizados desde precursores presentes en el plasma sanguíneo (glucosa, acetato, ácidos grasos no esterificados, etc.), que son captados por las células de la glándula mamaria y usados para la síntesis de los componentes de la leche, según el estado nutricional del animal (Fehr y cols., 1982).

El rendimiento y la composición dependen de varios factores tales como: raza, herencia, tamaño, edad del animal, estado y persistencia de la lactancia, gestación y tamaño de la camada, condición corporal, nutrición, clima y período

del año, procedimiento, frecuencia e intervalos del ordeño (De la Fuente y cols., 2005; Park, 2007).

Chandan y cols., (1992), indican que en un clima templado, a finales del verano, la leche tiene mayor contenido de grasas y sólidos totales.

En la Tabla 1 se presentan los componentes mayoritarios de la leche de cabra, según los diversos autores consultados.

**TABLA 1. Composición química de la leche de cabra
(Valores por 100 ml)**

Componente	Intervalo de valores
Sólidos totales (g)	11,70 - 15,21
Lactosa (g)	3,80 - 5,12
Proteínas (g)	2,60 - 4,60
Caseína (g)	2,45 - 2,72
Materia grasa (g)	3,00 - 6,63
Cenizas (g)	0,69 - 0,89
Calcio (mg)	140 - 200
Fósforo (mg)	75 - 150
Vitamina A (UI)	182,0
Riboflavina (mg)	1,0
Niacina (mg)	0,3

Fuente: Rivas García y cols. (2005); Güler-Akın y Serdar Akın (2007); Sanz Ceballos y cols. (2009); Costa y cols. (2010).

a) Hidratos de Carbono

El principal hidrato de carbono es la lactosa. Su contenido varía entre 3,80 – 5,12 g/100 ml (Le Mens, 1993).

Las dos formas isómeras de la lactosa α y β se hallan en equilibrio en la leche, con una proporción del 38% de α -lactosa y 62% de β -lactosa, conociéndose que la β -lactosa favorece la formación de una microbiota intestinal

acidófila (*bífidus*), mientras que la α -lactosa induce a un medio al calino (*enterococos*).

Las lactasas, imprescindibles para la hidrólisis de la lactosa en glucosa y galactosa, sean de origen intestinal o microbiano, producen β -d-galactosidasas que sólo pueden actuar sobre los β -galactósidos, y entre ellos la β -lactosa. Por ello cuanto más elevada sea en la leche la proporción de β -lactosa, más fácil será el ataque microbiano para su posterior absorción. A medida que la β -lactosa va desapareciendo por la hidrólisis y la absorción, la α -lactosa se irá transformando en β para reestablecer el equilibrio natural. Esta transformación es lenta y, a medida que vaya disminuyendo el contenido intestinal de lactosa, lo será más, quedando una parte de la α -lactosa que no tendrá tiempo de transformarse en β , pasando al intestino grueso donde el proceso continuará (Boza y Sanz Sampelayo, 1997).

Junto a la lactosa, destacan otros glúcidos cuantitativamente menos importantes, como son los glúcidos nitrogenados (glucosamina N-acetilada y galactosamina N-acetilada) y los glúcidos ácidos (ácidos siálicos). Además se pueden encontrar pequeñas cantidades de inositol (14 a 26 mg/ml), así como, compuestos resultantes del desdoblamiento de la lactosa: glucosa y galactosa (Martínez-Férez, 2004).

Otra característica importante es el elevado contenido de galactosa, útiles para el desarrollo cerebral en las primeras etapas de la vida (Riordan, 1998; Martínez-Férez, 2004).

La leche de cabra contiene una concentración 10 veces superior en oligosacáridos respecto a la leche de vaca. Los oligosacáridos caprinos se caracterizan por su gran variabilidad estructural, lo que los hace lo más parecidos a la leche humana (Martínez-Férez, 2004).

La similitud de los oligosacáridos de la leche de cabra con los de la leche humana, sugiere que estos compuestos podrían tener una bioactividad similar. Martínez-Férez (2004), ha demostrado "*in vivo*" que los oligosacáridos de la leche de cabra inducen la maduración del epitelio intestinal y a que favorecen su diferenciación de las células Caco-2.

b) **Proteínas**

Las proteínas que contiene la leche de cabra, tienen dos orígenes diferentes: unas se sintetizan en la glándula mamaria de la ubre, como es el caso de los diferentes tipos de caseínas y proteínas del suero como β lactoglobulinas y α albúminas, y las que provienen de la vía sanguínea como seroalbúminas (Vega y cols., 2005).

El aprovechamiento a nivel nutricional de la leche de cabra resulta mayor respecto a la de vaca, y es más digerible, y a que forma en el estómago un coágulo más pequeño, blando y fragmentable, lo que favorece la acción de las proteasas digestivas (Bevilacqua y cols., 2001; Haenlein, 2004; Park, 2006).

Su composición proteica varía mucho de una raza a otra, debido a la gran variabilidad genética que caracteriza a este animal (Martin, 1996).

Es más pobre en proteínas que la leche de vaca, sin embargo sus proteínas son de alta digestibilidad y valor biológico, aspectos que resultan superiores a los de la proteína de la leche de vaca (López-Aliaga y cols., 2001; Ramos Morales y cols., 2005). La cantidad total (Tabla 1), varía entre 2,6 y 4,6 g/100 ml (Rivas García y cols., 2005; Albenzio y cols., 2006; Pirisi y cols., 2007). En la Tabla 2 se presentan las diferentes fracciones de proteínas del suero presentes en leche de cabra y vaca.

TABLA 2. Fracciones de proteínas del suero

Compuestos	Vaca	Cabra
Inmunoglobulinas	13,7 %	18,3 %
α - Lactoalbúminas	27,4 %	7,1 %
Globulinas	4,4 %	-
β - Lactoglobulinas	52,8 %	74 %
Seroalbúminas	1,7 %	0,6 %

Fuente: Rivas García y cols. (2005).

Está compuesta por un 80% de caseínas y por un 20% de proteínas de suero lácteo. Entre ellas, las principales son α -lactoalbúmina y β -lactoglobulina, aunque el contenido de esta última es inferior. Las proteínas del suero, lactoferrina, transferrina e inmunoglobulina, se encuentran en una concentración inferior a 1 mg/ml (Rivas García y cols., 2005).

Las cantidades y composición de las caseínas determinan el tamaño de las micelas de proteína de la leche, debido principalmente a los tipos de aminoácidos y los grupos que ocupan en las cadenas polipeptídicas y las diferentes cantidades de grupos fosforados. Todo lo anterior varía las cargas eléctricas, su peso molecular y su hidrofobicidad lo que puede causar cambios en las propiedades físicas y químicas de las mismas (Vega y cols., 2005).

Las caseínas son importantes por lo que respecta a su comportamiento químico y tecnológico. Están presentes en forma de micelas. La aptitud de la leche a la coagulación, la reología de las cuajadas y ciertos comportamientos del afinado están unidos directamente con la estructura y composición de las micelas de caseína. La cantidad depende del tipo genético de los animales. Existen cuatro clases: α_{S1} , α_{S2} , β y κ (Tabla 3). La presencia de α_{S1} -caseína da lugar a una leche con mayor tiempo de coagulación, y en consecuencia mayor rendimiento para la elaboración de queso, mientras que la ausencia de dicha caseína origina un mayor aprovechamiento digestivo de diferentes nutrientes, si se la consume directamente, debido a que presentará menor tiempo de coagulación (Haenlein, 1996). Esta fracción proteica es considerada uno de los principales alérgenos responsables de la alergia a la proteína de la leche de vaca (Exl y Fritsché, 2001, Bianca-María y cols., 2001). En la leche de cabra, el contenido de α_{S1} es escaso, mientras que el de β es elevado (Le Mens, 1993; Tziboula-Clarke, 2003). Los niveles de α_{S1} caseína se encuentran entre 0 a 7 g/L. Esta variabilidad se asocia con los polimorfismos en el gen de la alfa s1-caseína, que son muy comunes en las cabras (Martin y cols., 2002).

TABLA 3. Fracciones de caseínas de la leche de cabra y vaca

Fracción de caseína	Cabra	Vaca
Caseína α_{s1}	5 %	35 %
Caseína α_{s2}	25 %	10 %
Caseína β	50 %	40 %
Caseína k	20 %	15 %

Fuente: Tziboula-Clarke, 2003.

La relación entre caseínas y proteínas del suero puede verse alterada cuando la leche proviene de animales enfermos de mastitis o en leche con contenido elevado de calostro, en ambos casos aumenta la proteína del suero, con posible disminución del rendimiento quesero (Landau y Molle, 2004).

Con respecto a las enzimas, la lipasa presenta baja actividad, es termolábil y se inactiva después de algunos segundos de calentamiento a 72°C. Un 45% se encuentra en la fase grasa y un 8% está unida a la caseína. Su cantidad está relacionada con la lipólisis espontánea y juega un papel importante en el desarrollo de olor y sabor de la leche de cabra (Chilliard y cols., 2003).

La leche de cabra posee cantidades adecuadas de aminoácidos esenciales, a excepción del triptófano (Agnihotri y Prasad, 1993). En la Tabla 4 se muestra la composición media de aminoácidos de la leche de cabra.

La leche de cabra contiene un perfil similar de aminoácidos al de la leche de vaca, excepto por una menor concentración de cisteína (Rutherford y cols., 2008). También contiene una serie de aminoácidos libres que pueden ser utilizados directamente por el intestino, los principales aminoácidos libres presentes en la leche de cabra son taurina, glicina y ácido glutámico (Duggan y cols., 2002; Rutherford y cols., 2008).

TABLA 4. Composición de aminoácidos de la leche de cabra

Aminoácidos	Proteína (%)
Cistina	1,14
Metionina	3,42
Triptófano	7,64
Aspártico	6,53
Glutámico	22,08
Serina	5,58
Histidina	3,55
Glicina	2,41
Treonina	5,01
Alanina	4,75
Arginina	2,92
Tirosina	3,59
Valina	6,60
Fenilalanina	5,84
Isoleucina	5,30
Leucina	7,72
Lisina	6,42

Fuente: Muñoz, 1984

c) Materia Grasa

La composición lipídica es uno de los componentes más importantes de la calidad tecnológica, nutricional y sensorial de la leche de cabra (Chilliard y cols., 2003; Park y cols., 2007).

El contenido graso es el componente más variable de la leche, tanto cualitativa como cuantitativamente, dependiendo del período de lactación, raza, estación, genética y alimentación de la cabra (Sanz Sampelayo y cols., 2007).

Posee aproximadamente entre 3,00 y 6,63 g/100 ml (Tabla 1). El 98,5% de los lípidos son triglicéridos (Alcalde A Ideia, 1998), de los cuales el 30% está representado por los triglicéridos de cadena media (C6-14). Estos son de gran

interés en determinadas enfermedades metabólicas, ya que se absorben por vía porta, y son directamente transportados al hígado y tejidos periféricos (Haenlein, 1992, 1996; Boza y Sanz Pelayo, 1997).

Los glóbulos grasos de la leche de cabra se encuentran en menor proporción y son más pequeños que los de la leche de vaca. El tamaño promedio es de 2,5 a 3,5 micrones, esto facilita una mejor dispersión, una distribución más homogénea, disminuye el tiempo de permanencia gástrica y el tránsito intestinal (Haenlein, 1996; Attaie y Ritcher, 2000; Silanikovea y cols., 2010). Esta característica tiene la ventaja de mejorar la digestibilidad, especialmente en niños y personas mayores.

Su punto de fusión es de 23 a 25°C (Le Mens, 1993).

El contenido de colesterol es de 19,6 mg/100 ml (Le Mens, 1993). Se encuentra libre y también asociado a la lecitina (esterificado). Existen variaciones significativas en la concentración de colesterol entre las distintas razas.

La leche de cabra tiene mayor cantidad de la mayoría de los ácidos grasos de cadena corta y media, así como en las cantidades de ácidos mono insaturados que la leche de vaca. Sin embargo, es bajo su contenido en ácido linoléico (Grandpierre y cols., 1988; Dostaloya, 1994).

El estudio del perfil de ácidos grasos de la leche es importante desde el punto de vista nutricional, teniendo en cuenta que la incidencia de enfermedades cardiovasculares se relaciona con el perfil lipídico de los alimentos. Algunos ácidos grasos son importantes para la salud humana por presentar un efecto cardioprotector, que promueve una acción antiaterogénica en el sistema vascular, por ejemplo el ácido oleico. El porcentaje de grasa de la leche está directamente relacionada con la dieta de los animales, ya que la energía suministrada a los animales proporciona precursores de la glándula mamaria (Morand Fehr y cols., 2007). Esto significa que la manipulación de la dieta puede mejorar la calidad nutricional de la grasa de la leche (Bernard y cols., 2005).

La composición de ácidos grasos de los productos de origen animal (huevos, leche y carne) es el reflejo tanto de la biosíntesis de ácidos grasos del tejido, como de la composición de ácidos grasos de los lípidos ingeridos (Kouba y Mourot, 2011).

En la leche de cabra, predominan los ácidos grasos de cadena corta y media. Los principales son: caprónico, caprílico, cáprico, mirístico y palmítico (Maree, 2003; Chilliard y cols., 2006; Silanikovea y cols., 2010). Por lo general, la leche de cabra tiene 35% de ácidos grasos de cadena media versus el 17% de la de vaca, de los cuales el caprónico, caprílico y cáprico representan un 15% en la leche de cabra contra un 5% en la de vaca (Chacón, 2005). Estos tres últimos, (C6 - C10), en altas concentraciones, son los responsables del flavor de la leche (Arora y Singh, 1986; Haenlein, 2001; Guo y cols., 2004; Silanikovea y cols., 2010), razón por la cual se les ha puesto el nombre de las cabras, debido a su predominio en este tipo de leche (Haenlein, 2004). En un estudio realizado por Bindal y Wadhwa, (1993), se encontraron cantidades superiores de AGCC en leche de cabra, respecto a la de vaca, lo cual sugieren que son los responsables de las diferencias de flavor encontradas en ambos productos.

Los ácidos grasos de cadena media poseen propiedades diferentes de los de cadena larga cuando son metabolizados por el ser humano, especialmente el caprílico y cáprico, debido a su tendencia a proporcionar energía y no contribuir a la formación de tejido adiposo y a su habilidad para limitar y disolver los depósitos de colesterol sérico, lo que se relaciona con una disminución de las enfermedades coronarias, fibrosis quística y cálculos biliares (Haenlein, 2002). Los triglicéridos de cadena media (TCM: C6 al C10), resultan de interés nutricional, debido a que se metabolizan de una manera diferente de los de cadena larga, y a que se hidrolizan rápidamente en el tracto digestivo, un proceso que comienza en el estómago con la acción de la lipasa salival pregástrica, y por lo tanto pueden absorberse sin necesidad de reesterificación. Son una excelente fuente de energía debido a su rápida digestión, seguido por un metabolismo oxidativo más eficiente (Matsuo y Takeuchi, 2004). Por lo tanto, junto con el alto grado de digestibilidad (Alferez y cols., 2001; Sanz Ceballos, 2007), y el rápido suministro de energía obtenidos a partir de esta fuente, conduce a una mejor utilización metabólica de la proteína (Sanz Ceballos, 2007), por esta razón, se ha empleado en el tratamiento de ciertas enfermedades metabólicas (Haenlein, 1992, 1996). Los ácidos grasos cáprico y caprílico y los triglicéridos de cadena media (MCT) se han establecido como tratamiento médico para una gran variedad de trastornos clínicos, incluyendo los síndromes de malabsorción, queiluria, esteatorrea,

hiperlipoproteinemia, resección intestinal, en la alimentación de lactantes prematuros, desnutrición infantil, epilepsia, fibrosis quística, by-pass coronario, y cálculos biliares, debido a su capacidad metabólica única para proporcionar energía directa, en lugar de ser depositado en los tejidos adiposos, y otros efectos beneficiosos comentados con anterioridad (Alfárez y cols., 2001). Estudios experimentales en modelos animales (cerdos) y en estudios clínicos (niños, principalmente) han demostrado que la leche de cabra tiene propiedades bioquímicas que favorecen su valor nutricional al compararla con la leche de vaca y la leche humana (Pellerin, 2001). El consumo de leche de cabra reduce los niveles de colesterol y mantiene normales los niveles de triglicéridos, HDL, GOT y GPT. La leche de cabra, rica en triglicéridos de cadena media, presenta la ventaja sobre la leche de vaca en el metabolismo de los lípidos por lo que se sugiere su uso en pacientes con síndrome de malabsorción (Alfárez, 2001).

La leche de cabra posee prácticamente el doble de ácidos grasos volátiles que la leche de vaca (16,6% frente al 8%). El porcentaje de ácidos grasos saturados varía entre 65,9% y 71,9%. La variabilidad de ácidos grasos está en función de la composición de la dieta, raza y estado fisiológico de la hembra (Le Mens, 1993).

Hay Lindsay (1993) determinaron los ácidos grasos de cadena ramificada con menos de 11 átomos de carbono por primera vez en la leche de cabra, estableciendo al mismo tiempo, como resultan prácticamente inexistentes en la de vaca. Chilliard y cols., (2003) indican que algunos de estos ácidos intervienen de manera significativa en el desarrollo de las características organolépticas de los productos lácteos derivados de la leche del pequeño rumiante.

Respecto del contenido en ácidos grasos *trans*, los que resultan por sus efectos metabólicos tan perjudiciales como los ácidos grasos saturados, Chilliard y cols., (2003) en su revisión sobre los factores que afectan a la síntesis de grasa en la leche de cabra, indican que entre el 5 -15% de la cantidad total de C18:1 es de configuración *trans*, tanto en la leche de cabra (Calderón y cols., 1984; Alonso y cols., 1999) como en la de vaca (Selner y Schultz, 1980), resultando en ambos tipos de leche el principal ácido C18:1 *trans*, el ácido *trans*-vaccénico. Alonso y cols., (1999) encuentran que la cantidad total de C18:1 *trans* de la leche de cabra

era de un 2,12% de la grasa total, comentando que esta cantidad resultaba menor que la del 3,80% hallada en la leche de vaca por Wolf (1995). Sin embargo, Ledoux y cols., (2002) informan de que el contenido en ácidos grasos *trans* C18:1, resulta semejante en la leche de cabra y vaca.

Otro aspecto importante sobre el contenido graso, tanto en la leche de cabra como en la de vaca, se debe al contenido de las diferentes formas del ácido linoléico conjugado (CLA), la proporción de CLA en leche de cabra es más alta que en leche de vaca, a lo que se le atribuyen diversas propiedades beneficiosas para la salud. El contenido en CLA en la leche ha sido asociado con varios factores como el estado de lactación, la paridad (Kelly y cols., 1998) y la raza (Secchiari y cols., 2001; White y cols., 2001). Sin embargo, la dieta es el factor más importante que influye en la concentración de CLA (Collomb y cols., 2002). Los niveles más altos de CLA se observaron en animales alimentados con pasturas frescas o con una dieta suplementada con aceites vegetales ricos en PUFA (Loor y cols., 2005; Raynal-Ljutovac y cols., 2008).

El CLA tiene varios isómeros del ácido linoléico (C18:2). Varios estudios han investigado los posibles efectos del CLA sobre la salud humana, sus propiedades están relacionadas con los isómeros específicos, con propiedades anticancerígenas (Ip C y cols., 1999), antiaterogénicas (McGuire y McGuire, 2000) y antidiabéticas frente a la diabetes tipo II (Ryder y cols., 2001), alterando la división de sustancia nutritiva y el metabolismo lipídico (Park y cols., 1999), reduciendo la hiperglucemia, con modulación inmune y mejora de la mineralización del hueso (McGuire y McGuire, 2000; Pariza y cols., 2001). Algunos de los efectos observados en animales se pueden también referir a humanos, entre ellos, la reducción de la obesidad (disminución del depósito de grasa) y el efecto inmunomodulador (la inhibición de la inflamación producida por citoquinas y el aumento en la formación de anticuerpos) (Wahle y cols., 2004).

Los fosfolípidos representan del 0,5 al 1% de los lípidos de la leche (30 a 40 mg/100 g), situándose un 40% en la fase no grasa y el resto en la membrana de los glóbulos grasos. Cumplen un papel importante en la estructura de la membrana de los glóbulos grasos porque tiene grupos hidrófilos y lipófilos y producen la estabilización de los glóbulos grasos en la emulsión.

En un estudio realizado por Alférez y cols. (2001), se demostró que la utilización dietética de la grasa fue mayor en ratas alimentadas con leche de cabra que en aquellas alimentadas con leche de vaca. En otro estudio posterior realizado por López-Aliaga y cols. (2005), se demostró que el consumo de este tipo de leche reduce los niveles de LDL-colesterol, manteniendo dentro de los valores normales los niveles de triglicéridos, HDL-colesterol y transaminasas (GOT y GPT).

d) Minerales

Actualmente se considera a la leche de cabra de mejor calidad alimenticia que la de vaca, no solo por los minerales que aporta, sino también por su utilización en el organismo, tanto en procesos digestivos como metabólicos (Barrionuevo y cols., 2002; López-Aliaga y cols., 2003; Alférez y cols., 2006).

Las sales minerales representan el 0,70 - 0,85% (Rivas García, 2005).

Aunque la composición mineral depende de la especie animal y de la alimentación proporcionada, la leche de cabra, en comparación con la de vaca, posee cantidades más altas de Ca, P, K, Mg y Cl, y cantidades inferiores de Na, Fe, Se, S, Mo y Zn (Maree, 2003; Park, 2006; San Ceballos, 2009) (Tabla 5).

De los minerales que contiene, los que más se destacan son el calcio y el fósforo, porque intervienen en el proceso de coagulación, en los equilibrios salinos, en la aptitud de la leche a la ultrafiltración y en su estabilidad frente al calor (Le Mens, 1993).

La leche es la principal fuente de **calcio** para el ser humano, sin importar si es de vaca, cabra u otra especie. La leche de cabra, aporta 13% más de calcio que la de vaca (Rodden, 2004). La cantidad de calcio varía entre 140 - 200 mg/100 ml y el de **fósforo** entre 75 -150 mg/100 ml (Alcalde Aldea, 1998). La mayoría de los estudios que se han realizado *in vitro*, en ratas, indican que la biodisponibilidad de minerales, a excepción de calcio, es mayor en la leche de cabra que en la de vaca (Shen y cols., 1995).

TABLA 5. Contenido de minerales en leche de cabra (mg/100g de leche)

Minerales	Leche de cabra	Leche de vaca
Calcio	158,57	113,58
Fósforo	118,97	87,04
Magnesio	12,92	9,40
Zinc	0,528	6,463
Hierro	0,15	0,09
Cobre	0,042	0,014

Fuente: Sanz Ceballos y cols., 2009.

La leche de cabra contiene **selenio**, el cual actúa como antioxidante. Este mineral ayuda a controlar el sistema inmunológico y actúa directamente sobre ciertos virus impidiendo su multiplicación (USDA, 2004). El selenio se vincula más con la parte acuosa que con la fracción grasa de la leche, pues en la leche desnatada queda el 94% del selenio total, del cual el 69% se asocia con la fracción de caseína (Dael y cols., 1992).

También contiene una cantidad ligeramente superior de **hierro** respecto a la leche de vaca, con una biodisponibilidad mucho mayor. López Aliaga y cols. (2000), compararon la absorción de hierro en ratas alimentadas con leche liofilizada de vaca y cabra, presentando ésta última un índice mayor de absorción. Esto podría deberse al mayor contenido en triglicéridos de cadena media (TCM) de la leche de cabra, lo que al ser una fuente de energía rápida, podrían favorecer la síntesis de proteínas transportadoras. Otros autores indican que es debido al mayor nivel de nucleótidos contenidos que contribuyen a una mejor absorción en el intestino (Schlimme y cols., 2000; Mc Cullough, 2003).

En cuanto a la biodisponibilidad de **zinc**, Shen y cols. (1995) encontraron valores más altos para la leche humana, que en la leche de cabra, mientras que la biodisponibilidad para el zinc es similar en ambos tipos de leches (Shen y cols., 1996).

El contenido de minerales puede incrementarse a medida que avanza el estado de lactancia, especialmente P, K, Na, Ca y Mg. Entre los inicios y los finales de este periodo, el Ca puede presentar un incremento de hasta 15 mg/100 g, el P de 23 mg/100 g, el Na de 6 mg/100 g y el Mg de 2 mg/100 g. Por el contrario, el K y el citrato decrecen en cantidades de hasta 26 y 64 mg/100 g, respectivamente (Brendehaug y Abrahamsen, 1986).

e) Vitaminas

Posee elevado contenido de vitamina A (2,074 UI frente a 1560 UI en leche de vaca), debido a que las cabras convierten íntegramente los carotenos en retinol, proporcionándole a la leche su color blanco característico (Raynal-Ljutovac y cols., 2008).

La leche de cabra tiene niveles más altos que la leche de vaca, en vitaminas del complejo B, especialmente en riboflavina (B₂), importante como factor de crecimiento (Chacón, 2005). Sin embargo contiene menor cantidad de vitamina B₁₂ y B₆ (Haenlein, 2007). El ácido fólico (B₉) también es menor con respecto a la leche de vaca y a la humana (Maree, 2003; Chacón, 2005).

f) Compuestos bioactivos

A la leche de cabra se le atribuyen propiedades anticancerígenas debido a su contenido de coenzima Q y de ácido linolénico conjugado (Chacón, 2005).

Es rica en nucleótidos, pero a diferencia de otras leches, la de cabra contiene solo cantidades trazas de ácido orótico, lo cual se ha asociado con el síndrome de hígado graso (American Dairy Goat Association, 2004). Este ácido es un producto intermedio de la biosíntesis de los nucleótidos de la pirimidina (Belitz y Grosch, 1997).

Las poliaminas (espermidina, espermina y putrescina) son compuestos presentes en la leche de los mamíferos, importantes en el desarrollo intestinal de neonatos. Su concentración en la leche de cabra permanece estable durante todo el periodo de lactación y siempre sus niveles son superiores a los de la leche de vaca. Este patrón de secreción es similar al de la leche humana (Ploszaj y cols., 1997; Martínez-Férez, 2004).

La mayor concentración de estos compuestos se ha relacionado con la reducción del riesgo de padecer alergias alimentarias, y a que al favorecer la maduración intestinal, se dificulta el paso de alérgenos alimentarios. Existen diferentes estudios que sugieren que el menor riesgo de padecer este tipo de reacciones alérgicas en niños amamantados podría explicarse, al menos parcialmente, por la mayor concentración de espermina y espermidina en la leche humana, comparada con las fórmulas infantiles disponibles en el mercado (Dandrifosse y cols., 2000).

2. LECHES FERMENTADAS

2.1. Definición

Bajo este nombre se engloban todos los productos que se obtienen utilizando como materia prima leche de diferentes especies (vaca, cabra, oveja, búfala y yegua), a la cual se le inocula un cultivo de microorganismos específicos, que la fermentan. Como consecuencia de esta acidificación se modifican sus componentes y propiedades organolépticas, característicos de las leches fermentadas o leches ácidas (FAO, 1997; Ordoñez y cols., 1998; Baró y cols., 2010).

Las leches fermentadas son preparados lácteos, en cuya elaboración, la leche, por acción de microorganismos específicos, es sometida a un proceso fermentativo que permite conferir características sensoriales específicas a los productos, a la vez que se prolonga el tiempo de conservación, debido a la disminución del pH. En este proceso, parte de la lactosa se transforma en ácido láctico por acción de los cultivos seleccionados. La formación de ácido láctico produce una acidificación y, en muchos casos, la coagulación del producto. Además, la actividad de estos microorganismos origina fenómenos de proteólisis y lipólisis, ayudando de esta manera al desarrollo de las características nutritivas y organolépticas propias de las leches fermentadas.

Actualmente existe un gran interés por las mismas, gracias a sus potenciales efectos beneficiosos para la salud, lo que ha llevado a un incremento de la variedad de productos disponibles y de su consumo para todo el mundo.

2.2. Historia

Las leches fermentadas se consumen desde la antigüedad, especialmente en algunos países orientales (Asia, Europa Central). Su origen se ha establecido en el Oriente Medio. Su producción se inicia cuando el estilo de vida del ser humano pasa de ser recolector a productor de alimentos. La fermentación es uno de los medios más antiguos para la transformación de la leche en productos de mayor vida útil, debido a que al transformarse la lactosa en ácido láctico, se produce una disminución del pH, lo que inhibe el crecimiento de microorganismos (Baró y cols., 2010).

2.3. Producción y consumo de leches fermentadas

En la actualidad existe una amplia oferta de fermentados lácteos elaborados a partir de leche de vaca y según la Federación Nacional de Industrias Lácteas (FeNIL) parece que su consumo genérico se sostiene gracias a los nuevos productos enriquecidos y funcionales, yogures y leches fermentadas. Hay empresas multinacionales muy bien posicionadas en este mercado y cuyos productos van desde los elaborados de forma tradicional a los que incorporan ingredientes que les proporcionan un valor nutricional añadido.

El sector lácteo es uno de los más importantes de nuestra alimentación, como así también en el sector industrial y económico. Su consumo aporta cantidades valorables de energía (14% en población adulta y 17% en población infantil), proteínas de buena calidad nutricional, calcio, fósforo, vitaminas A, D y del complejo B y otros elementos nutritivos que actualmente se encuentran incorporados a través de los lácteos funcionales: ácidos grasos omega-3, ácido oleico, folatos, calcio, fibra, ácido linoléico conjugado (CLA), etc. En los últimos años, el desarrollo de productos funcionales dentro del sector lácteo ha aportado un valor añadido a algunos productos al contribuir con efectos beneficiosos en el consumidor. Dentro de éstos se destacan los probióticos, los enriquecidos en fibra, calcio y/o vitaminas (vitamina A, vitamina D, ácido fólico) y los lácteos con modificaciones en su contenido lipídico, y a su vez por reducción de la grasa (desnatados y semidesnatados), o por cambios en la calidad de las mismas

(ácidos grasos omega-3, CLA). Sin embargo, esta situación aún no se produce cuando se utiliza como materia prima la leche de cabra.

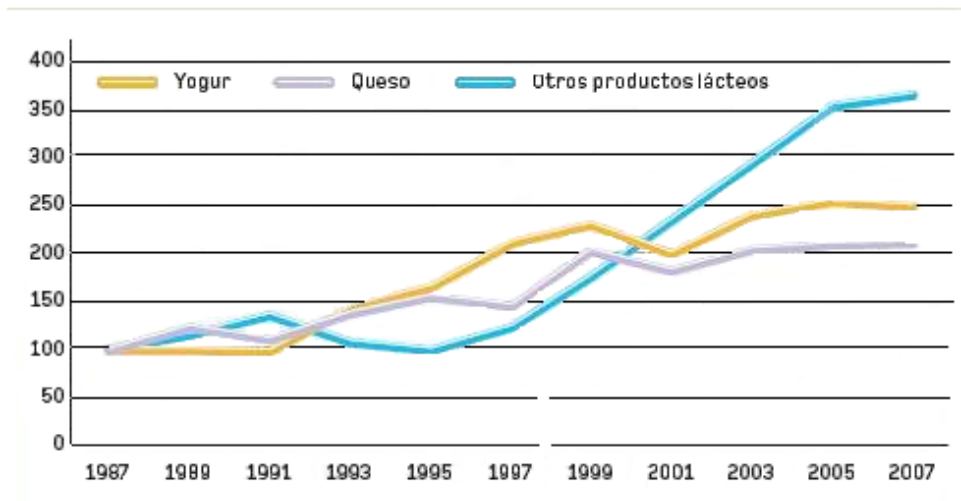
A lo largo de estos últimos años, la rama de las leches fermentadas se ha convertido en una de las más dinámicas del sector lácteo, debido a los constantes lanzamientos que buscan adaptarse a las nuevas exigencias del consumidor y que suponen en la mayor parte de los casos, una fuerte inversión en I+D+i (investigación, desarrollo e innovación), publicidad y nuevas tecnologías (SAGPyA, 2009).

En cuanto al consumo de yogur, en los años 60 era casi inexistente, solo se limitaba a las recomendaciones médicas destinadas a paliar alteraciones intestinales por alguna enfermedad y se vendían exclusivamente en farmacias. Desde entonces hasta la actualidad el yogur ha ido introduciéndose con fuerza en la cesta de la compra, influido, entre otras cosas, por la publicidad y la aparición de nuevas variedades llegando a convertirse en un alimento fundamental en muchas familias (Carvajal, 2008).

En la Unión Europea (UE), el consumo total de lácteos ha disminuido en un 2,5%, especialmente en lo que respecta a mantequilla, leche líquida y leches conservadas. Sin embargo, se aprecian aumentos importantes en el consumo de productos lácteos frescos como leches fermentadas (yogures), quesos y postres lácteos.

Por el contrario, en España, como puede observarse en la figura 4, el consumo de derivados lácteos ha ido en aumento con los años, tomando un mayor protagonismo, y su consumo ha experimentado un importante incremento, triplicándose en los últimos 20 años, y siendo el grupo de las leches fermentadas uno de los principales. Se estima su consumo medio per cápita anual en 16 kg (MARM, 2008).

FIGURA 4. Evolución del consumo per cápita de productos lácteos en España, durante el período 1987-2007



Fuente: MARM, 2008.

En los últimos años se produjo una tendencia creciente en el consumo per cápita de yogures. El crecimiento más importante ha sido para los yogures desnatados (15%) y los bifidus (20%). Durante el año 2003 hubo un aumento en el consumo de los cremosos, los étnicos (los tradicionales de diferentes etnias), mousses y probióticos, mientras que los yogures de sabores, con frutas y los enriquecidos tendieron a disminuir. Por otro lado, la innovación en las marcas blancas se hace evidente (Aranceta Bartrina, 2005; MERCASA, 2007). En la Tabla 6 se presenta la evolución del consumo de yogures en España, en los últimos años.

TABLA 6. Consumo nacional de yogures por tipos, en el hogar (en tm)

Año	2000	2001	2002	2003	2004	2006	2007	2008
Natural	139.22	129.71	127.14	113.33	104.85	99.54	96.06	92.17
Sabores	166.41	150.10	134.42	125.46	115.68	109.93	106.21	108.31
Frutas	52.58	50.62	48.58	44.26	36.92	28.52	28.81	26.16
Otros	126.09	133.06	149.25	156.63	53.89	57.55	63.37	55.39
Bífidus	--	--	--	--	99.29	108.17	107.48	117.18
Otras LF	--	--	--	--	60.83	73.83	101.53	133.58
Desnatados	--	--	--	--	118.37	127.46	130.48	132.00
Total	484.30	463.49	459.41	439.70	589.84	605.00	633.96	664.81

Hasta el año 2004 no incluye el cálculo de yogurt con bífidus, de otras leches fermentadas y de desnatados. / * Al incluir el cálculo de nuevas categorías, la cuantificación en Otros a partir de 2004, también ha cambiado. /
Fuente: Alimarket en base a MAPA.

Fuente: IDEPA, 2010.

2.4. Características

Las características propias de cada una de ellas, se deben a las variaciones en la composición de la leche, a la temperatura de incubación y a la naturaleza de la microbiota utilizada, ya sea láctica u otra (Mahaut y cols., 2004).

Los microorganismos inoculados transforman la lactosa en ácido láctico. En las rutas metabólicas de estas bacterias se originan además dióxido de carbono, ácido acético, diacetilo, acetaldehído y muchos otros compuestos que determinan la textura, el sabor, y aroma característico de cada uno de los productos lácteos fermentados (Staff, 2000).

El cambio principal que se da en la leche es el descenso del pH hasta 4,6 – 4,0. Como consecuencia de este descenso, se produce la coagulación de la caseína que forma un gel y la inhibición del desarrollo de un gran número de microorganismos, entre ellos la mayoría de los patógenos, debido a la producción de ácido láctico y otros metabolitos menores, como el ácido acético, el agua oxigenada o las bacteriocinas, un potencial óxido reductor bajo y el consumo por

parte de las bacterias lácticas de componentes que son vitales para otros microorganismos.

Además, durante la fermentación se producen metabolitos como el acetaldehído y diacetilo, que aportan aroma al producto. Algunas bacterias también producen polisacáridos que confieren a la leche fermentada una textura suave y cremosa (Staff, 2000).

Mediante el proceso de fermentación se mejora la biodisponibilidad de las proteínas y lactosa, como consecuencia de la predigestión producida por las bacterias lácticas sobre estos nutrientes (Aamant, 1995).

La Federación Internacional de Lechería clasifica a los productos lácteos fermentados según el tipo de fermentación en:

- Leches fermentadas mediante microorganismos termófilos (30 - 45°C):
 - Yogur: obtenido por la acción de las bacterias *Lactobacillus delbrueckii sub. Bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*.
 - Leche acidófila: obtenida por *Lactobacillus acidophilus*.
- Leches fermentadas mediante microorganismos mesófilos (<30°C):
 - Por fermentación láctica: p. ej., leche acidificada por *Lactococcus Lactis*.
 - Por fermentación láctica y alcohólica: p. ej., kéfir y koumis.

Según Ordoñez y cols., (1998), las leches fermentadas pueden clasificarse en dos grupos:

- **Leches fermentadas acidificadas**: se produce ácido láctico por fermentación de la lactosa. El producto más conocido de este grupo es el yogur, aunque existen otras leches fermentadas procedentes de otros países, tales como Leber (Egipto), Labneh o yogures de estilo griego (Oriente Medio), Tarto (Hungría), Mazún (Armenia) y Skyr (Islandia), en cuya elaboración intervienen microorganismos de otro tipo.

- **Leches fermentadas ácido-alcohólicas:** por acción de las bacterias y levaduras que fermentan la lactosa, se produce ácido láctico, alcohol etílico y dióxido de carbono. El ejemplo más característico es el Kéfir (Cáucaso). Otros productos semejantes son el Koumis (Asia central y Rusia) y el Fuli (Finlandia).

Todas las leches fermentadas tienen una característica común: se obtienen a partir del desarrollo de una microbiota, que a su vez puede estar compuesta por probióticos los que pueden generar prebióticos de origen metabólico o de origen lácteo por degradación de los componentes de la leche (Mahaut y cols., 2004).

3. YOGUR

3.1. Historia

El yogur, cuyo origen podría proceder de Asia, ha permanecido durante muchos años como comida propia en la India, Asia Central, Sudeste asiático y Europa del Este. Se extendió en los países occidentales desde principios del siglo XX a raíz de trabajos realizados por Elie Metchnikoff (miembro del Instituto Pasteur y Premio Nobel en 1908), quien demostró que el yogur contenía bacterias capaces de convertir la lactosa en ácido láctico, y que éste ácido hacía imposible el desarrollo de bacterias patógenas en el intestino, derivadas de la descomposición de los alimentos. También descubrió que es fuente de vitaminas del complejo B (Tur Marí, 2005; Mahaut y cols., 2004).

Es la más conocida y la de mayor consumo en todos los niveles de población, aunque en los últimos años ha cobrado auge la producción y consumo de leche fermentadas en las que se incluyen microorganismos con propiedades probióticas (Ordoñez y cols., 1998).

A partir de los años 60, se produjo en todo el mundo, un aumento significativo en la producción industrial de leches fermentadas, especialmente yogures. El mismo se ha convertido en un alimento muy popular y su consumo sigue en aumento. Este éxito, puede atribuirse a diversos factores tales como su valor nutritivo, sus excelentes características organolépticas, sus propiedades

terapéuticas y profilácticas, su amplia variedad y a su moderado costo (Yukuchi, y cols., 1992; Roissart y Luquet, 1994).

3.2. Definición

El Real Decreto 179/2003, por el cual se aprueba la norma de calidad para el yogur, define “**Yogur o Yoghourt**” al producto de leche coagulada obtenida por fermentación láctica mediante la acción de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* a partir de leche pasteurizada, leche concentrada pasteurizada, leche total o parcialmente desnatada pasteurizada, leche concentrada pasteurizada total o parcialmente desnatada, con o sin adición de nata pasteurizada, leche en polvo entera, semidesnatada o desnatada, suero en polvo, proteínas de leche y/u otros productos procedentes del fraccionamiento de la leche.

En la legislación vigente también se especifica que los microorganismos productores de la fermentación láctica deben ser viables y estar presentes en el producto terminado en cantidad mínima de 1 por 10^7 colonias por gramo o mililitro.

En su elaboración queda permitido el agregado de leche en polvo entera, semidesnatada o desnatada, nata pasteurizada, suero de leche en polvo, proteínas de leche y otros productos del fraccionamiento de la leche, en una cantidad máxima de hasta el 5% para yogures naturales y hasta 10% para otros tipos de yogures.

También se admitirá, para yogures con frutas zumos o yogures aromatizados, el agregado de gelatina, almidones comestibles, modificados o no, en cantidades máximas de hasta 3 g por kilo de producto terminado.

En todos los yogures el pH deberá ser igual o inferior a 4,6. El contenido mínimo de extracto seco magro debe ser de 8,5 por 100 ml y el de materia grasa láctea, variará en función al tipo de producto (Real Decreto 179/2003).

La cantidad de ácido láctico no debe ser inferior a 0,7 g/100 g en el momento de la venta al consumidor (Mahaut y cols., 2004).

Todos los productos que contengan otros fermentos distintos a los mencionados, no pueden denominarse yogur y tienen que llamarse leches fermentadas.

3.3. Composición química

Los factores que pueden influir sobre la composición nutricional de los distintos yogures son muy diversos. Entre ellos se pueden citar la composición de la leche de partida (tipo de leche utilizada y raza del animal de la cual procede la leche), del proceso de elaboración del yogur (evaporación, cantidad de leche en polvo o proteínas séricas añadidas, etc.), del contenido y actividad de las cepas bacterianas y las condiciones de fermentación y conservación (Deeth y Tamime, 1981; Amiot, 1991; Baró, 2010).

Los productos fermentados como el yogur, tienen una composición en nutrientes similar a la de la leche. La materia prima empleada, los ingredientes añadidos y el proceso de elaboración, determinan el contenido de proteínas, grasas, vitaminas y minerales (Staff, 2000). La tabla 7 muestra la composición media de un yogur entero y desnatado.

TABLA 7: Composición química típica de un yogur entero y desnatado de leche de vaca

Componente (Unidades/100g)	Yogur entero	Yogur desnatado
Proteínas (g)	3,9	4,5
Grasa (g)	3,4	1,6
Carbohidratos (g)	4,9	6,5
Calcio (mg)	145	150
Fósforo (mg)	114	118
Sodio (mg)	47	51
Potasio (mg)	186	192

Fuente: Tamime y Robinson (2007).

3.3.1. Hidratos de carbono

Contiene trazas de diversos mono y disacáridos, pero el principal hidrato de carbono es la lactosa, que se encuentra en una proporción del 4 - 5% (Staff, 2000). Si bien, parte de la lactosa es fermentada, en los yogures existentes en el mercado, el contenido de la misma resulta similar al de la leche de partida, puesto que en el proceso de elaboración, ésta se adiciona como tal o como leche en polvo desnatada. También se suele adicionar un 14 -16% de extracto seco lácteo, lo que representa un 7% de lactosa (Tamime y Robinson, 2007; Mataix-Verdú y cols., 2009; Baró y cols., 2010).

3.3.2. Proteínas

Deeth y Tamime (1981), sugieren que el porcentaje de proteínas en el yogur es mayor respecto a la leche debido al proceso de elaboración (evaporación, adición de leche en polvo) y a la fermentación por las bacterias ácido lácticas, las cuales constituyen el 1% de la materia seca del yogur.

Tanto las caseínas como las proteínas del suero del yogur son fuentes ricas de todos los aminoácidos esenciales, con una elevada disponibilidad intestinal de nitrógeno (del 93%) (Bissonnette y Jeejeebhoy; 1994; Gaudichon y cols.1994).

Sin embargo, la fermentación origina un aumento del 7 al 12% de aminoácidos libres, y como consecuencia la digestibilidad proteica es algo mejor (Amiot, 1991).

Algunos cultivos bacterianos han de mostrado que tienen mayor actividad proteolítica que otros. Por ejemplo, el *L. bulgaricus* demostró tener una actividad proteolítica más alta durante la fermentación y almacenamiento de la leche que el *S. thermophilus*, indicado por las concentraciones elevadas de péptidos y de aminoácidos libres después de la fermentación (Beshkova y cols., 1998).

3.3.3. Lípidos

El contenido de lípidos dependerá del tipo de producto elaborado, es decir, si se trata de un yogur entero, desnatado o enriquecido con nata (Staff, 2000; Baró y cols., 2010).

Se debe tener en cuenta que la grasa de la leche contiene una amplia variedad de ácidos grasos, la mayoría de los cuales se encuentran formando parte de triglicéridos (Tamime y Robinson, 2007).

Se ha demostrado que el yogur tiene una concentración más alta del ácido linoléico conjugado (CLA), que la leche de la cual procede (Shantha y cols., 1995). El CLA se caracteriza por tener propiedades inmunoestimulantes y anticarcinogénicas (Whigham y cols., 2000).

3.3.4. Minerales

Como todos los lácteos, el yogur constituye una excelente fuente de minerales. Debido a la acidez del medio, algunos minerales como hierro, cobre y zinc pueden formar sales parcialmente solubles. Iones como calcio, magnesio y fósforo forman complejos con productos resultantes de la hidrólisis proteica (péptidos, aminoácidos, etc.). Todos estos mecanismos favorecen la absorción de minerales (Baró y cols., 2010).

Es bien conocido que la principal fuente de calcio es la leche y sus derivados. Numerosos componentes de la leche como lactosa, citratos y fosfopéptidos tienen efectos positivos en la absorción del calcio. Además la leche se encuentra libre de factores antinutricionales como oxalatos, fitatos o fibras que inhiben su absorción (Pirkul y cols., 1997). El yogur representa una excelente fuente de calcio, contiene aproximadamente 120 mg/ 100 g.

Algunos estudios han investigado el efecto del calcio del yogur en la mineralización ósea en animales (Pointillart, 1986). Kaup y cols. (1987), demostraron que las ratas alimentadas con yogur presentaron mayor mineralización ósea que las alimentadas con una dieta que contenía carbonato de calcio. Estos estudios pueden sugerir que la biodisponibilidad del calcio en yogur

es mayor y que puede aumentar la mineralización del hueso más que los productos lácteos no fermentados.

El mayor contenido en extracto seco magro del yogur en relación con la leche líquida da como consecuencia una mayor concentración de iones inorgánicos, lo cual queda evidente en los datos que se presentan en la Tabla 8.

TABLA 8: Contenido de minerales en leche y yogur

Compuesto (mg/100 g)	Leche		Yogur		
	Entera	Desnatada	Entero	Desnatado	De frutas
Calcio	119	121	145	150	176
Fósforo	94	95	114	118	153
Sodio	50	52	47	51	-
Potasio	152	145	186	192	254

Fuente: Mantello, 2007.

3.3.5. Vitaminas

La mayoría de las vitaminas son sensibles al procesado, de modo que el método de enriquecimiento, y a sea por adición de leche en polvo o por ultrafiltración, el tratamiento térmico de la mezcla, la cepa de bacterias starter empleada y las condiciones en las que se lleva a cabo la fermentación pueden modificar la concentración absoluta o relativa de las vitaminas más importantes (Buttriss, 1997; Mantello, 2007).

Es fuente de vitaminas del grupo B, especialmente riboflavina, niacina, piridoxina y vitamina A (Tamime y Robinson, 2007; Baró y cols., 2010). Durante la fermentación se consumen las vitaminas B₁₂ y C y se forma ácido fólico. No se alteran las vitaminas B₁, B₂, B₆, biotina y ácido pantoténico (Mantello, 2007).

Durante el desarrollo microbiano se produce también la síntesis de algunas vitaminas (Amiot, 1991). Mientras que algunas especies de bacterias ácido lácticas requieren de vitaminas del complejo B para su crecimiento, otras son capaces de sintetizarlas (Buttriss, 1997). Una de las vitaminas que es utilizada por

las bacterias es la vitamina B₁₂. Las pérdidas significativas de esta vitamina se pueden corregir con el uso cuidadoso de los cultivos suplementarios de bacterias ácido lácticas que sean capaces de sintetizarla (Kneifel y Mayer, 1991).

El folato es otra de las vitaminas sintetizadas por las bacterias ácido lácticas (Kneifel y cols., 1992; Crittenden y cols., 2003). Dependiendo del tipo de bacteria utilizada, el contenido de folato en el yogur puede variar de 4 a 19 µg/100g. El *S. thermophilus* y *Bifidobacterium* son productores de folato, mientras que el *Lactobacillus* lo disminuyen del medio.

3.4. Valor nutritivo

El valor nutritivo de un alimento no solo depende de su contenido en nutrientes, sino que es función de otros parámetros como la biodisponibilidad, digestibilidad y asimilación de estos mismos nutrientes. Así, el yogur posee el mismo valor calórico que el de la leche de base, sin embargo, es mejor desde el punto de vista nutricional, por su fácil digestión, elevada concentración de enzimas y un ligero aumento de la concentración de vitaminas del grupo B (Salcedo y cols., 1988).

3.4.1. Aporte glucídico

a) **Lactosa:** el aporte de lactosa al organismo está en función de su capacidad de absorción de la misma por parte del intestino y ésta a su vez depende de su capacidad de desdoblarla en sus dos componentes: glucosa y galactosa, que son los que pasan la barrera intestinal. En los adultos disminuye la actividad lactásica debido a que su intestino no segrega suficiente lactasa, lo que provoca una estimulación del peristaltismo. El efecto del yogur en poblaciones afectadas por esta intolerancia es debido a que el mismo aporta fermentos que poseen actividad lactásica.

También se debe recordar que la lactosa estimula la absorción del calcio y que ésta estimulación se manifiesta, preferentemente, en dietas de bajo contenido de este elemento.

El contenido de lactosa varía según el tiempo de duración de almacenamiento tras la fermentación. Además la actividad láctica de las bacterias se corresponde con el tiempo de sobrevivencia del lactobacilo después de la ingestión (Hickey y cols., 1986; Foucaud y Poolman, 1992).

Los microorganismos reducen el contenido de lactosa hasta el 50% , disminuyendo su contenido desde aproximadamente 5 g/100 ml hasta 2 g/100 ml. Sin embargo, si la leche es enriquecida con leche en polvo o concentrada, el contenido en lactosa se incrementa a 7- 8 g/100 ml (Law, 1997).

Debido a la utilización de este azúcar por los microorganismos que intervienen en la fermentación, desde el punto de vista nutritivo la digestibilidad es mayor. Por ello, es importante destacar que la lactosa presente en este tipo de leches es más asimilable por personas que presentan mala absorción de este hidrato de carbono. Existen evidencias suficientes de que el yogur disminuye los síntomas de intolerancia a la lactosa, debido a que las bacterias lácticas presentes en el yogur incrementan la actividad láctica total en el intestino delgado (Kolars y cols., 1984; Baró y cols., 2010).

b) Galactosa: glúcido estructural de vital importancia que forma parte de las células cerebrales.

c) Ácido láctico: es el metabolito mayoritario de la fermentación de la lactosa y su presencia en el yogur es deseable, ya que actúa como agente natural que contribuye a la inocuidad bacteriológica del yogur y proporciona sabor y aroma agradables, contribuyendo a obtener una textura adecuada al producto.

El ácido láctico se encuentra en dos formas isoméricas L⁽⁺⁾ y D⁽⁻⁾. La forma isomérica D⁽⁻⁾ se metaboliza más lentamente y ha sido, a veces, relacionada con una serie de trastornos metabólicos. Sin embargo, el aporte que puede proporcionar al yogur es inocuo en una ración equilibrada.

La presencia de ácido láctico mejora la digestibilidad de la caseína y favorece la asimilación de calcio por el intestino (Law, 1997).

3.4.2. Aporte proteico

Las proteínas del yogur poseen una característica que hace aumentar su valor biológico, que es una buena digestibilidad, debida a tres factores: la propia fermentación, la acidificación y la coagulación de la caseína.

Además, debido al aporte proteico y energético, contribuye a que éstas se destinen principalmente a cubrir las necesidades plásticas del organismo.

Las proteínas son de alto valor biológico, y tanto las caseínas como las proteínas del lactosuero, contienen una elevada proporción de aminoácidos esenciales. Presentan alta digestibilidad debido a la proteólisis causada por los microorganismos starters. El grado de la misma depende de la cepa bacteriana utilizada, pero durante la incubación se produce una pequeña liberación de aminoácidos y péptidos, que actúan como precursores del sabor (Rivas-Gonzalo, 2009). Otra característica es que antes de la ingestión del yogur, las proteínas ya están coaguladas, por lo que resultan de fácil digestión (Tamime y Robinson, 2007). El descenso del pH produce la precipitación de la caseína en forma de finas partículas, lo que facilita la acción de las enzimas intestinales una vez en el organismo (Hewitt y Bancroft, 1985; Baró y cols., 2010). Por ello, el valor nutritivo de las proteínas de las leches fermentadas es mayor que la de la leche, ya que se ha demostrado "*in vitro*" mayor digestibilidad y valor biológico que las proteínas de la leche.

3.4.3. Aporte lipídico

Estará en función del tipo de producto que se consume, y a que variará según se trate de un yogur desnatado o uno elaborado a partir de leche entera, pero en general el contenido graso porcentual es ligeramente menor que el de la leche, debido principalmente a los ingredientes lácteos que se utilizan en su elaboración, lo que contribuye a disminuir el aporte calórico (Rivas-Gonzalo, 2009).

La grasa láctea sufre cambios bioquímicos durante el proceso de fermentación. Es más digerible debido a que sufre una predigestión durante la fermentación (Tamime y Robinson, 2007). Las lipasas bacterianas procedentes de

los microorganismos fermentadores hidrolizan una pequeña porción de los lípidos produciendo cambios en el perfil de ácidos grasos libres, que variarán en función de las especies bacterianas que intervengan en la fermentación. Por otro lado como consecuencia del metabolismo del ácido láctico y de aminoácidos libres se producen ácidos grasos volátiles (ácido acético, fórmico, caproico, caprílico, butírico, propiónico, isovalérico), que contribuyen al aroma (Rivas-Gonzalo, 2009; Baró y cols., 2010).

3.4.4. Aporte mineral

El yogur y las leches fermentadas son buena fuente de minerales, destacando el calcio, fósforo, potasio, magnesio, zinc y yoduro (Rivas-Gonzalo, 2009). La fermentación de la leche, no altera la composición mineral de ésta. Sin embargo, la presencia de ácido láctico favorece la absorción de calcio.

3.4.5. Aporte vitamínico

El contenido vitamínico es difícil de establecer, y a que en este tipo de producto, los microorganismos presentes asimilan unas vitaminas y sintetizan otras. Se destacan la vitamina A, B₁, B₂, B₆, B₁₂, niacina, ácido pantoténico y ácido fólico (Rivas-Gonzalo, 2009).

Debido al tratamiento térmico elevado que sufre la leche, se destruye una parte de vitaminas C, B₆, B₁₂ y ácido fólico. Por otro lado, los microorganismos fermentadores producen durante su actividad metabólica vitaminas B₁ y B₂ (Symons, 1993); asimismo sintetizan otras como la B₆ y B₁₂, ácido fólico, biotina, ácido pantoténico y vitamina K. La mayor parte de esta síntesis tiene lugar en el intestino grueso, donde se da una mayor población de bacterias.

3.5. Tipos de yogur

Las diferencias en sus características dependen del proceso de fabricación, de las materias primas y de los ingredientes añadidos (Staff, 2000).

➤ **Según su estado físico en el envase de venta al por menor:**

- Yogur compacto o firme: la leche sembrada con el cuajero se distribuye rápidamente en los envases de venta. Luego se incuba a 42°C, aproximadamente durante 2 a 3 h en estufa o baño maría para facilitar la fermentación, hasta que alcanza el pH necesario (3,8 - 4,2) y una acidez comprendida entre 75 - 100°D. Posteriormente se la enfría rápidamente obteniendo un cuajo de consistencia firme, liso y sin exudación del suero. El coágulo formado en el interior del envase, no se rompe debido a que no se lo extrae del mismo; resultando un gel semisólido, razón por la que el producto recibe el nombre de firme, compacto o consistente. Generalmente son yogures naturales y aromatizados (Mahaut, 2004).

- Yogur batido: la leche se siembra y se incuba en un tanque de fermentación a una temperatura de 42 - 46°C hasta alcanzar la acidez deseada (100 a 120°D). Luego se procede a trocear y batir el cuajo mediante procedimientos de agitación mecánica, con la finalidad de que se vuelva untuoso. En su mayoría son yogures naturales o con frutas.

- Yogur para beber: se diferencia del yogur batido por su estado líquido. Su fluidez se consigue disminuyendo el contenido de extracto seco. El coágulo se bate antes del llenado de los envases y suele añadirse jugo de frutas en lugar de concentrados.

➤ **Según los componentes añadidos en el proceso de elaboración:**

- Yogur natural: se define en el apartado 3.2.
- Yogur a zucarado: el yogur natural al que se le han añadido azúcar o azúcares comestibles.
- Yogur edulcorado: el yogur natural al que se le han añadido edulcorantes autorizados.
- Yogur con frutas, zumos y/o productos naturales: el yogurt natural al que se le han añadido frutas, zumos y/o otros productos naturales.
- Yogur aromatizado: el yogur natural al que se le han añadido agentes aromáticos autorizados.
- Yogur pasteurizado después de la fermentación (Real Decreto 179/2003).

➤ **Según el porcentaje de grasa de la materia prima:**

- Yogur entero: 2% de grasa láctea como mínimo.
- Yogur semidesnatado: el contenido de grasa láctea en mayor del 0,5% y menor al 2%.
- Yogur desnatado: 0,5% de grasa láctea como máximo.

3.6. Requisitos

- Los microorganismos de los cultivos utilizados deben permanecer viables y activos durante el período de validez, y estar presentes en una cantidad mínima de 1 a 10^7 colonias por gramo o mililitro.
- Francia y España establecieron que 5×10^8 UFC/ml es la cantidad mínima de bacterias ácido lácticas que deben encontrarse durante la vida útil del yogur, mientras que otros países como Italia y Suiza proponen 10^6 UFC/ml, Japón 10^7 UFC g⁻¹ y Portugal 10^8 UFC g⁻¹ (IDF, 1992).
- Deberá estar exento de gérmenes patógenos y/o toxicogénicos.
- Todos los yogures deberán tener un pH igual o inferior a 4,6.
- Deben ser envasados en envases bromatológicamente aptos, adecuados para las condiciones de almacenamiento previstas y que confieran al producto una protección adecuada (Real Decreto, 179/2003).
- Desde el momento de su fabricación hasta su adquisición por el consumidor, se deberá mantener el producto a temperaturas comprendidas entre 1 y 8°C.
- Deberá ser vendido al consumidor, como máximo, dentro de los 28 días siguientes, contados a partir de su fabricación.
- En cuanto a las características sensoriales, deberá presentar una consistencia firme, pastosa, semisólida o líquida, de textura lisa y uniforme, sin retracción del coágulo. El olor, color y sabor serán característicos o de acuerdo a las sustancias alimenticias, colorantes y/o aromatizantes agregados.

3.7. Proceso de elaboración del yogur

3.7.1. Etapas previas al proceso

➤ **Transporte de la leche:**

La leche debe transportarse hacia la planta en cisternas de acero inoxidable, isotermas o refrigeradas. Las características principales de este tipo de transporte son:

- Poseen un sistema de toma de muestras de leche al momento del llenado. Este sistema le permite rechazar la leche que no cumpla con los requisitos especificados.
- El sistema de recepción se compone de una bomba positiva autoaspirante, un desgasificador para un tratamiento suave de la leche y un contador volumétrico.
- La cisterna debe construirse por razones sanitarias en una sola pieza, y sus paredes deben ser suavemente redondeadas.
- Para evitar un movimiento excesivo de la leche y separar leches de diferentes calidades, la cisterna se divide internamente en varios compartimientos.

➤ **Recepción de la leche y nata**

La leche llega directamente de la central lechera higienizada y desnatada, de esta forma se evita instalar en la planta un sistema de desnatado-higienizado.

Antes de descargar la leche en los depósitos de leche cruda, deben realizarse una serie de mediciones que permitan conocer la calidad de la leche suministrada. El responsable de la recepción debe verificar que la leche cumpla con las especificaciones, de lo contrario la leche debe ser rechazada.

➤ **Almacenamiento de leche**

En la planta habrá sistemas de almacenamiento de la leche. Los depósitos estarán fabricados en acero inoxidable porque son sanitariamente aptos y bastante flexibles (su capacidad varía entre pocos litros y millones de litros, se

pueden aislar, pueden encajarse para efectuar toda clase de tratamientos térmicos, no transmiten olores ni sabores extraños al producto, se pueden incorporar toda clase de accesorios, entre otros).

Los depósitos de recepción de leche cruda se caracterizan por ser verticales, y su capacidad oscila entre 20.000 litros y 150.000 litros. Además deben estar provistos de un sistema de agitación suave para evitar la separación de las fases de la leche. El fondo del depósito debe ser cónico o plano con cierta inclinación que facilite el vaciado de la leche. Es recomendable que la leche no se almacene por más de 24 horas porque puede incidir en la calidad del producto final (Gösta Bylund, 2003).

3.7.2. Proceso de elaboración del yogur

La elaboración del yogur no es un proceso uniforme. Los métodos de fabricación varían considerablemente de un país a otro, según la materia prima utilizada, el volumen de producción, la formulación del producto y el tipo de yogur que se desea obtener (Staff; 2000). Las etapas fundamentales del proceso de elaboración de los distintos tipos de yogur están representadas en la figura 5.

Durante el proceso de elaboración, es necesario controlar rigurosamente un gran número de factores para obtener un producto final de calidad, que presente las características adecuadas de sabor, aroma, viscosidad, aspecto, consistencia y período de conservación (Staff; 2000). Esos factores comprenden:

- la elección de la leche como materia prima.
- los ingredientes añadidos (*lácteos*: leche entera, descremada, en polvo, concentrada; *no lácteos*: edulcorantes naturales y sintéticos, estabilizantes, aromatizantes, conservantes, fermentos, etc.).
- el tratamiento térmico.
- la homogeneización o emulsificación.
- la preparación del cultivo.

FIGURA 5. Proceso de elaboración del yogur



© Editorial Médica Panamericana - Angel Gil Tratado de Nutrición 2ª Ed
www.giltratadodenutricion.com

Las distintas etapas del proceso de elaboración del yogur son las siguientes:

a) Estandarización y preparación de la leche: ésta etapa es importante porque permite cumplir con las especificaciones exigidas por las normas legales de composición del yogur. Comprende la eliminación de células y contaminantes presentes (depuración física), estandarización de la calidad del producto en cuanto a su acidez, consistencia y viscosidad del coágulo, para satisfacer las exigencias de los consumidores (Tamime y Robinson, 2007) y el ajuste del contenido en sólidos totales y grasa para adecuarlos a la norma de calidad del yogur (Real Decreto 179/2003; Baró y cols., 2010).

Se puede elaborar con leche entera, desnatada o parcialmente desnatada, ya sea fresca, reconstituida o mezcla. La materia prima a utilizar debe ser de primera calidad, libre de olores o sabores extraños, exenta de antibióticos u otros inhibidores (FAO, 1997; Baró y cols., 2010).

La estandarización del contenido graso dependerá del producto que se desea obtener, es decir, si se tratará de un yogur con crema, entero, desnatado o parcialmente desnatado (FAO, 1997; Baró y cols., 2010).

El extracto seco magro lácteo mínimo es de 8,5% (m/m), incluye lactosa, sales minerales y proteínas. Su porcentaje está determinado por las especificaciones legales y por las propiedades físicas y de flavor buscadas. Cuanto mayor sea el contenido de sólidos no grasos, mayor consistencia y viscosidad tendrá el producto final (Tamime y Robinson, 2007). En la práctica, el extracto seco magro acostumbra a ser un 10% superior al indicado en la norma, con la finalidad de conferir mayor consistencia o dureza al gel y reducir o eliminar el fenómeno de la sinéresis (Romero del Castillo y Mestres Lagarriga, 2004). Generalmente suele aumentarse entre el 1,5 y 3% mediante concentración por evaporación, calentándola en un recipiente ancho hasta eliminar un 30% de agua; añadiendo aproximadamente un 2% de leche desnatada en polvo o proteínas del suero, o concentrando por filtración a través de membranas mediante ósmosis inversa (Spreer, 1993; Mahaut, y cols., 2004; Romero del Castillo y Mestres Lagarriga, 2004; Baró y cols., 2010).

b) Homogeneización: la leche se homogeniza para impedir la separación de la nata durante el proceso de incubación, reducir el tamaño de los glóbulos

grasos y conseguir una emulsión estable y uniforme, contribuyendo a la textura final del yogur (Burguess, 1993; Staff, 2000; Baró y cols., 2010).

También es importante para inducir cambios en la estructura de las micelas de caseína, provocando un aumento de volumen de sus partículas, lo cual provoca como consecuencia que estas se aglutinen en menor grado durante la coagulación, resultando en un coágulo más blando (Spreer, 1993; Burgess, 1993). Mejora la retención de agua y la firmeza del producto final (Mahaut y cols., 2004).

c) Tratamiento térmico: puede realizarse a 84 - 85°C, 30 min o a 90 - 95°C, 3 - 10 min. Esta etapa tiene por finalidad:

1. Eliminar las formas vegetativas de microorganismos patógenos.
2. Destruir o disminuir los microorganismos alterantes, hasta un número aceptable (Staff, 2000).
3. Reducir la población microbiana total para que no interfieran con el desarrollo de los cultivos starters del yogur (Tamime y Robinson, 2007).
4. Desnaturalizar las proteínas del suero para mejorar la textura del producto final y ayudar a evitar la separación del suero durante la conservación del yogur. Se debe desnaturalizar como mínimo el 80% de las proteínas solubles que interactúan con la κ -caseína para triplicar la capacidad de retención de agua, resultando en un coágulo de textura consistente (Staff 2000; Maree, 2003; Baró y cols., 2010).
5. Inactivación de las γ -globulinas y diversas enzimas (fosfatasa, peroxidasa).
6. Suprimir posibles inhibidores naturales (FAO, 1997).
7. Estimular el desarrollo de las bacterias lácticas, fomentando la aparición de factores del crecimiento como el ácido fórmico (Mahaut y cols., 2004, Baró y cols., 2010).

Las óptimas propiedades hidrofílicas de las proteínas y las ideales para la coagulación, se obtienen con un calentamiento a 85°C, 30 minutos (Staff, 2000).

d) Enfriamiento: una vez que la leche ha recibido el tratamiento térmico, es necesario enfriarla hasta una temperatura adecuada para la posterior siembra del cultivo (Staff 2000; Tamime y Robinson, 2007).

La temperatura óptima para el desarrollo de las bacterias lácticas es entre 42 - 45°C (Burguess, 1993).

e) Inoculación del fermento: la función de cualquier cultivo iniciador es producir su suficiente cantidad de ácido láctico en la leche, en el menor tiempo posible, haciendo descender el pH de 6,4 - 6,7 hasta 3,8 - 4,2, y desarrollar en el producto final a adecuadas características de textura, viscosidad y flavor que respondan a las exigencias de los consumidores (Staff, 2000).

Los cultivos que se utilizan para la elaboración de yogur provocan una coagulación masiva de la leche, dando un coágulo de consistencia firme y sin exudación del suero. Además le otorgan un sabor característico debido a la producción de compuestos aromáticos (acetaldehído principalmente, acetona, acetoina, diacetilo) (FAO, 1997).

El *Lactobacillus bulgaricus* es una bacteria homofermentativa. Acidifica fuertemente el medio donde crece, dado que puede formar hasta un 2,5% de ácido láctico en la leche durante la fermentación de la lactosa. Además del ácido láctico, produce pequeñas cantidades de otros productos como los ácidos grasos volátiles: acético, propiónico, butírico, isovalérico, caproico y capríco; además produce acetoina, acetaldehído, acetona y 2-butanona (Romero del Castillo y Mestres Lagarriga, 2004). La temperatura óptima para su desarrollo es entre 45 - 50°C, la cual contribuye a la producción de ácido (FAO, 1997; Bourdier, 1993).

El *Streptococcus thermophilus* también es una bacteria homofermentativa, termorresistente que sobrevive un calentamiento a 65°C durante 30 min o a 74°C durante 15 s. Produce una acidificación en el medio, pero con menor intensidad que la anterior de 0,7 a 0,8% de ácido láctico L⁽⁺⁾. Algunas cepas son capaces de producir hasta un 1% de ácido láctico (FAO, 1997; Romero del Castillo y Mestres Lagarriga, 2004). La temperatura óptima para su desarrollo es de 42 - 45°C, contribuyendo al aroma (Bourdier, 1993). Además del ácido láctico, produce ácidos grasos volátiles: fórmico, acético, propiónico, butírico, isovalérico y caproico. Algunas cepas son capaces de producir polisacáridos que forman un

mucílago, lo cual es interesante para la viscosidad del yogur (Romero del Castillo y Mestres Lagarriga, 2004).

Estas dos bacterias se emplean de manera conjunta en la elaboración del yogur, pues así se obtiene una mayor producción de ácido láctico que cuando se cultivan por separado (Tamime y Robinson, 2007). El coágulo comienza a formarse cuando el pH de la leche alcanza el punto isoeléctrico de la caseína (pH 4,6 - 4,7) (Staff, 2000). Para favorecer la asociación sinérgica se emplea una temperatura de 42 - 45°C (Bourdier, 1993).

La siembra debe realizarse con una dosis bastante elevada para garantizar una correcta acidificación (Mahaut y cols., 2004). El porcentaje de inoculación varía según la vitalidad de los cultivos. La cantidad mínima debe ser de 0,5 a 1%, mientras que la máxima entre 5 y 7%. No debe sobrepasarse estos valores, debido a que la acidificación puede ser demasiado rápida con una cantidad muy elevada de ácido láctico (Spreer, 1993; Bourdier, 1993). La proporción de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*, generalmente es de 1:1 o 2:1 para los yogures naturales y de 10:1 en los yogures de frutas (Burguess, 1993; Mahaut y cols., 2004). Actualmente se suelen utilizar cultivos disponibles en el mercado en forma de liofilizados o congelados. Con ello se minimiza el riesgo de contaminación (Staff 2000; Baró y cols., 2010).

Una vez inoculados en la leche, el *L. bulgaricus* ataca a la caseína debido a su acción proteolítica, liberando péptidos y aminoácidos necesarios para el desarrollo del *S. thermophilus* y éste a su vez estimula al *L. Bulgaricus* mediante la producción de ácido fórmico, ácido pirúvico y dióxido de carbono (FAO, 1997; Mahaut y cols., 2004).

Al inicio de la elaboración del yogur los estreptococos actúan sobre la leche dado que encuentran en el medio, el pH favorable para comenzar la fermentación láctica. Al aumentar la acidez, el medio se vuelve poco favorable para esta bacteria, la cual comienza a ser reemplazada progresivamente por los lactobacilos, que prosiguen su actividad de fermentación hasta alcanzar un pH de 4,3 - 4,2 aproximadamente. Al término de la fermentación, casi un tercio de la lactosa se ha transformado en ácido láctico (FAO, 1997).

En general, la evolución de las poblaciones bacterianas es de tipo bifásico:

El primer crecimiento preponderante de *S. thermophilus*, estimulado por los lactobacilos. Llega a alcanzar el 95% de la población total. Luego se produce la segunda fase correspondiente al desarrollo de *L. bulgaricus*, que hace volver al porcentaje de *S. thermophilus* al 85%. El lactobacilo es mucho más resistente al pH ácido que el estreptococo.

Las características buscadas en el producto final dependen de las cepas empleadas y de la temperatura de incubación. Si se desea obtener un yogur poco ácido, dulce y aromático, se utiliza un fermento láctico joven, en cambio, para obtener un producto ácido, conviene que el cultivo se a de mayor edad (FAO, 1997).

f) Incubación o fermentación: se realiza mediante tiempos y temperaturas variables dependiendo del tipo de fermentado, hasta la consecución del pH óptimo. Generalmente la fermentación se realiza a 40 - 45°C durante 2 - 3 horas (Baró y cols., 2010).

Es a partir de esta etapa cuando se diferencian los procedimientos de elaboración del yogur firme y del batido (figura 6).

En el *yogur firme* se coloca la leche sembrada con el cultivo en los envases de venta (recipientes de vidrio o plástico) (Staff, 2000).

En el caso de yogures azucarados, aromatizados con frutas, etc., los aditivos se añaden al envase vacío inmediatamente del llenado con la leche inoculada, para facilitar así una distribución más uniforme (FAO, 1997). En el Real Decreto 179/2003 se establecen las concentraciones máximas de colorantes y espesantes a añadir en el producto final.

A continuación los envases se incuban en una estufa de aire caliente o a baño maría para facilitar la fermentación. La acidificación depende de la duración de la incubación y de la temperatura, la cual se debe mantener constante y ser homogénea en todos los puntos de la estufa para que la fermentación sea regular. La incubación dura aproximadamente entre 2 a 3 h. Los envases se colocan en la estufa hasta que la leche alcance una acidez de 75 a 100 °D. El cuajo debe ser firme, liso y sin exudación del suero (FAO, 1997).

En el sistema de incubación corta, el cultivo se siembra cuando la leche esté aproximadamente a 42° C, si el periodo de incubación es más largo, la temperatura debe ser menor, aproximadamente de 30 - 32°C.

En la fabricación de yogur firme por la técnica de incubación corta, la leche se debe encontrar a la temperatura adecuada en el momento de inocular el fermento, porque si se encuentra demasiado alta inhibirá, e incluso puede llegar a destruir los microorganismos del cultivo iniciador, por el contrario, si se halla muy baja, se prolonga innecesariamente el tiempo de incubación (Staff, 2000).

En el *yogur batido* la siembra de la leche se realiza en tanques y se incuba a una temperatura de 42 - 46°C hasta alcanzar una acidez de 100 a 120°D. Luego se somete a un batido por agitación mecánica con la finalidad de romper el cuajo y obtener un producto de menor consistencia (FAO, 1997).

g) Refrigeración: En este momento, se retiran los envases de la estufa y se enfría lo más rápidamente posible hasta alcanzar temperaturas de alrededor de 15 - 20°C, con el fin de detener la acidificación por inhibición de las bacterias ácido lácticas. Después, se realiza el enfriamiento final a temperaturas menores de 4 - 5°C, en cámaras de almacenamiento refrigerado (FAO, 1997; Baró y cols., 2010). Luego se debe almacenar a 2 - 4°C durante un período de 12 a 24 h para aumentar la consistencia bajo la acción del frío y la hidratación de las proteínas.

En el caso de yogures incubados en sus propios envases, se efectúa en cámaras frías con una fuerte ventilación o en un túnel, mientras que para los yogures batidos, antes del enfriamiento se realiza el batido por diferentes técnicas (laminación de la leche coagulada pasada a través de un filtro o tamiz; agitación mecánica; homogeneización a baja presión para los yogures líquidos), lo que permite mejorar la untuosidad del producto y reducir la sinéresis. La refrigeración se efectúa en un intercambiador de placas, tubular o de superficie rascada, a 2 - 5°C (Mahaut y cols., 2004).

h) Envasado y almacenamiento refrigerado: el envasado es una etapa muy importante en el proceso de elaboración del yogur, ya que de ella depende en gran medida las condiciones en que llega el producto al consumidor (Tamime y Robinson, 2007). Cabe recordar que el envasado del yogur firme se realiza antes de la fermentación.

Los envases más utilizados son los de vidrio, cartón parafinado, porcelanas, material macromolecular o cualquier otro material autorizado para este fin por el Ministerio de Sanidad y Consumo. Los mismos no deberán transferir sustancias indeseables, tóxicas o contaminantes en cantidades superiores a las permitidas (Real Decreto 179/2003).

La adición de azúcar y de aromatizantes se realiza inmediatamente después de la siembra en el caso de yogures firmes, mientras que en los batidos, las frutas se incorporan justo después del enfriamiento (Mahaut y cols., 2004).

El envasado se debe realizar en condiciones asépticas. El contenido neto mínimo de los envases será de 125 g.

Las variaciones de temperatura durante el período de conservación ocasionan modificaciones en la viscosidad y textura, originan separación de suero y propician el desarrollo de microorganismos alterantes y patógenos. Si ésta supera a la recomendada, se acelera la oxidación de las grasas, aumenta la hidratación de las proteínas y se producen modificaciones en la superficie del producto (Staff, 2000).

3.8. Conservación

Si el yogur se prepara siguiendo estrictas condiciones higiénicas y una tecnología rigurosa, su período de conservación es aproximadamente entre 15 y 21 días a temperaturas no superiores de 8°C (FAO 1997; Staff 2000; Real Decreto 179/2003).

El almacenamiento bajo condiciones refrigeradas, impide la proliferación de las bacterias, pero no interrumpe por completo su actividad metabólica. La producción de ácido láctico prosigue lentamente y ciertas enzimas hidrolizan las proteínas con la consiguiente disminución de la consistencia y viscosidad, y la aparición de péptidos de sabor amargo (FAO, 1997).

3.9. Problemas de fabricación

3.9.1. Defectos del aspecto y textura

❖ *Decantación y sinéresis*: generalmente debido a una mala fermentación (sobre acidificación o post-acidificación), como consecuencia de una temperatura demasiado elevada o una refrigeración excesivamente larga.

❖ *Producción de gas*: debido a la presencia de coliformes o levaduras.

❖ *Separación de una capa de nata*: causado por agitación o vibraciones durante el transporte después de la refrigeración en la cámara fría.

❖ *Falta de firmeza en yogures tradicionales*: debido a una baja proporción de inóculo o a condiciones de incubación inadecuadas (tiempo y/o temperatura insuficientes).

❖ *Consistencia excesivamente líquida en los yogures batidos*: por un batido demasiado intenso, bajo contenido en extracto seco, tiempo de incubación muy corto o por la utilización de fermentos insuficientemente filantes o espesos.

❖ *Consistencia demasiado filante*: fermentos inadecuados o temperatura de incubación muy baja.

❖ *Textura arenosa*: las causas pueden ser un extracto seco demasiado alto, tratamiento térmico muy fuerte, homogeneización a temperatura excesivamente elevada, acidificación irregular o a un batido incorrecto (Mahaut y cols., 2004; Tamime y Robinson, 2007).

3.9.2. Defectos del sabor

❖ *Amargor*: se desarrolla cuando la actividad proteolítica de los fermentos es excesiva o cuando se ha producido una contaminación por gérmenes proteolíticos.

❖ *Mucha acidez*: debido a un fallo de control de la fermentación: con el uso de dosis de fermentos demasiado elevada, incubación demasiado larga o a una temperatura muy alta o incluso enfriamiento muy lento o durante poco tiempo.

❖ *Falta de acidez*: por la utilización de un fermento poco activo, una incubación excesivamente corta o a una temperatura muy baja, o a la presencia de inhibidores o de bacteriófagos.

- ❖ *Sabor a levadura, afrutado o alcohólico*: cuando se produjo una contaminación por levaduras.
- ❖ *Sabor a rancio*: por contaminación por gérmenes lipolíticos.
- ❖ *Sabor a moho*: debido al empleo de frutas de mala calidad que contienen mohos, en los yogures con frutas.
- ❖ *Carencia de aroma*: por un desequilibrio de la microbiota (demasiados estreptococos), un contenido de extracto seco demasiado bajo, incubación excesivamente corta o a una temperatura muy baja.
- ❖ *Sabor harinoso*: cuando se añade mucha cantidad de leche en polvo.
- ❖ *Sabor oxidado*: por falta de protección a la luz (vasitos de cristal) o a la presencia de metales (hierro, cobre).
- ❖ *Sabor agrio*: por contaminación con una flora láctica salvaje o por coliformes.
- ❖ *Sabor grasoso*: por un elevado contenido de materia grasa (Mahaut y cols., 2004; Tamime y Robinson, 2007).

3.10. Propiedades organolépticas

La aceptabilidad del yogur y las leches fermentadas por los consumidores está determinada por sus propiedades sensoriales. La composición y en particular el tipo de proteínas lácteas, ejercen un gran impacto en la textura del yogur y en sus propiedades de flavor (Saint-Eve y cols., 2006).

Las características más apreciables y más importantes de los productos lácteos fermentados son su sabor y su textura. Estas propiedades están estrechamente relacionadas con el pre-tratamiento de la materia prima y con el crecimiento de las cepas microbianas en unas condiciones determinadas y perfectamente controladas. En el caso del yogur, la actividad combinada de *S. thermophilus* y *L. bulgaricus* producen la acidificación rápida de la leche y el desarrollo del aroma característico.

Los principales componentes responsables del aroma son el acetaldehído, la acetona y el diacetilo. El aroma depende de la calidad de las materias primas, de la proporción de los ingredientes, de la naturaleza de la microbiota y de las condiciones de incubación.

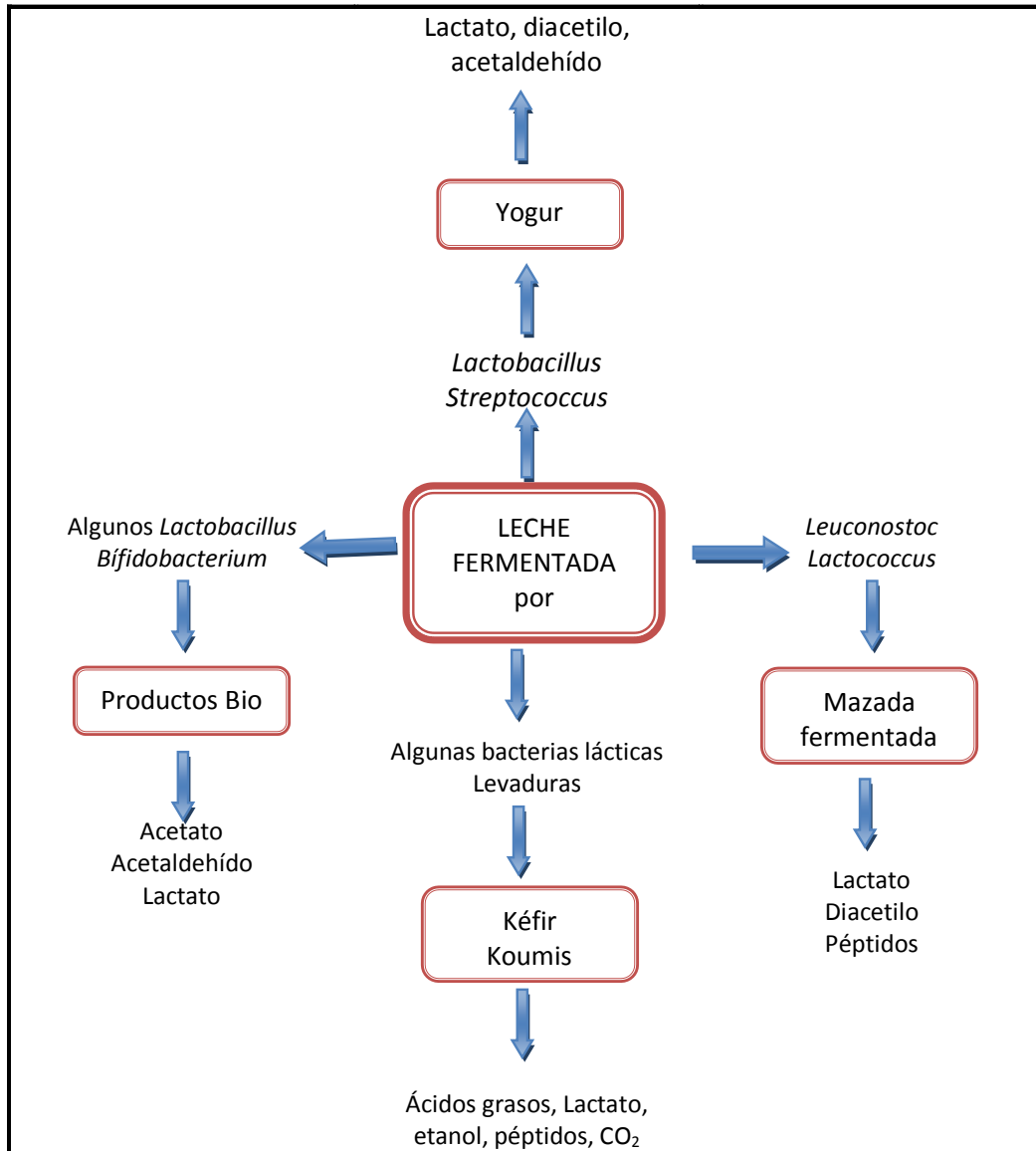
La particular textura del yogur se debe a diversos factores como el enriquecimiento en extracto seco de la leche original, la intensidad y la duración del precalentamiento, la adición de espesantes, la velocidad y el grado de acidificación, y las condiciones de refrigeración, entre otros. Todos estos factores se deben controlar rigurosamente durante el proceso de producción (Amiot, 1991).

El catabolismo de la lactosa produce compuestos que participan en el aroma y sabor. El principal es el ácido láctico, responsable de la acidez característica de todos los productos lácteos fermentados, pero también se generan otras sustancias como diacetilo, acetaldehído, péptidos, acetato, dióxido de carbono, etanol, etc. En la Figura 6, se presenta esquemáticamente, en qué productos aparecen estas sustancias y qué microorganismos la generan.

El diacetilo aparece en yogures, mazada fermentada y otros derivados lácteos, siendo el principal responsable del aroma de la mantequilla. Lo producen, *Lc. Lactis Subsp. Lactis biovar. diacetylactis* y *Leuconostoc spp.*, entre otras bacterias lácticas, en presencia de citrato. Este compuesto no se utiliza como fuente de energía, pero se metaboliza fácilmente cuando se consigue energía mediante la fermentación de la lactosa.

En el interior de la célula el citrato se cataboliza. Se libera dióxido de carbono fruto de una descarboxilación, formándose acetaldehído-tiamina-pirofosfato (acetaldehído-TPP). Tras esta descarboxilación pueden suceder diversas reacciones que generan diacetilo, acetoína ó 2,3-butanodiol a partir del acetolactato. En términos absolutos de producción de diacetilo, esta no es la vía más importante. La principal es la condensación de acetaldehído-TPP con el acetyl CoA. Esta sustancia también puede transformarse en acetaldehído (Ordoñez y cols., 1998).

FIGURA 6. Compuestos del sabor y aroma de las leches fermentadas y agentes que las producen (Ordoñez y cols., 1998).



4. LABNEH (yogures de estilo griego)

Para comprender este producto, hay que remontarse a sus orígenes, cuando los nómadas transportaban la leche en pieles de animales que permitían la acidificación del producto y la evaporación parcial del suero, con lo que se conseguía un yogur muy ácido con un elevado contenido en extracto seco y de

consistencia semisólida. Es el producto más conocido de estas características en Medio Oriente (Ballesta y cols., 2008).

En esencia, es similar al yogur natural, pero se concentra por ultrafiltración o centrifugación. Su contenido en sólidos se aumenta hasta un 22%, del que casi la mitad (alrededor del 10% es grasa). Aunque también se concentra la acidez hasta 1,8 - 2% durante el proceso, esto no provoca un sabor ácido rechazable porque queda enmascarado por el elevado porcentaje de grasas. En Grecia, esta leche fermentada no suele consumirse como *snack* o postre, sino en combinación con otros ingredientes para diversas preparaciones culinarias, como el *tzatziki*, plato elaborado a base de yogur, pepino y menta (Ordoñez; 1998).

5. KÉFIR

1.1. Definición

La legislación española no tiene una definición de kéfir, Powell y cols., (2007), la definen como una bebida láctea fermentada refrescante, carbonatada, de consistencia cremosa y con un sabor ligeramente ácido, a levadura; Honer (1993) como una leche fermentada, ligeramente alcoholizada, refrescante y espumante; y Garrote (1997), como una leche fermentada, producida a través de la acción de granos de kéfir sobre leche de distintas especies animales.

Este producto se obtiene por una doble fermentación: ácida, por bacterias y alcohólica, por levaduras (Ortega Anta y cols., 2004).

Las cantidades pequeñas de $C O_2$, alcohol y compuestos aromáticos, producidos por los cultivos, le dan su característica sabor ácido y gaseoso (International Dairy Federation, 1992).

5.2. Antecedentes históricos

El origen del kéfir se sitúa en las montañas del Cáucaso, Tibet y Mongolia. Los granos de kéfir eran considerados como un regalo de Alá entre los musulmanes, donde se ha consumido corrientemente durante millones de años, también se le conoce como "Los granos del profeta Mahoma".

Su historia se remonta a la antigüedad, al "ayrag", bebida que preparaban los campesinos de las montañas del Norte del Cáucaso, dejando remansar la leche de sus animales en odres fabricados a partir de pieles de cabras que nunca se lavaban o limpiaban y que colgaban cerca de la puerta de la casa en el exterior o el interior, según la estación. Según se iba desarrollando la fermentación se iba añadiendo leche fresca para reemplazar al "ayrag" que se iba consumiendo.

En cierto momento se observó que la corteza esponjosa y blanquecina de la pared interior de la piel era capaz, si se le añadía leche, de dar una bebida similar (sino mejor), al ayrag original. Esta bebida fermentada se denominó kéfir (Luquet, 1993).

Aunque no se tiene referencias etimológicas exactas del vocablo kéfir, se cree que proviene de *ki ef*, voz turca que significa "agradable sensación", esta definición es la causa de la sensación de bienestar que se experimenta tras ingerir esta leche fermentada (Trum, 1984).

El kéfir puede ser consumido en su forma natural, o puede ser utilizado para cocinar (en sopas, salsas, y tartas). La diferencia entre el kéfir y el yogur se encuentra en las cantidades pequeñas de CO_2 , alcohól, y de moléculas aromáticas, que son producto de la fermentación dual de las bacterias y las levaduras (Komai y Nanno, 1992).

Tradicionalmente el kéfir ha sido y es, una bebida muy popular en Rusia y países limítrofes, así como en Hungría y Polonia, los cuales reportaron en 1998 producciones de más de 3 millones de litros al año. La antigua Unión Soviética cuenta con el 70% del consumo mundial de esta leche fermentada.

Actualmente el kéfir es bastante conocido en muchos países como Suiza, Francia, Finlandia, Alemania, Grecia, Austria, Brasil, España e Israel, y recientemente se ha hecho fácilmente disponible en los EE.UU. y Japón como una bebida ética. En otros países apenas está siendo introducido en su alimentación habitual (Libudzisz y Piatkiewicz, 1990).

Tradicionalmente, se han comunicado muchos beneficios sobre la salud. Usándose para el tratamiento de la arteriosclerosis, las enfermedades alérgicas, y en los desórdenes gastrointestinales (Zourari y Anifantakis, 1988).

El kéfir es actualmente una familia de productos, en la que los granos y la tecnología que se usa pueden variar significativamente, y por lo tanto, resultar en productos de composiciones diferentes (Libudzisz y Piatkiewicz, 1990).

Inicialmente el kéfir se elaboraba fermentando leche de cabra, posteriormente se utilizó leche de yegua, leche de cabra y finalmente leche de vaca (Gösta Bylund y López Gómez, 2003).

5.3. Tipos de kéfir

Según la duración de la fermentación alcohólica se distinguen tres tipos (Boudier, 1993):

- ♦ Kéfir amarillo o suave: líquido cremoso, de consistencia homogénea, muy espumoso, de sabor dulce y ligeramente ácido y alcoholizado.
- ♦ Kéfir medio: líquido cremoso, esponjoso con gusto a nata ácida.
- ♦ Kéfir fuerte: muy esponjoso, muy aromático y de sabor agridulce.

Las características químicas de los diferentes tipos de kéfir elaborados a partir de leche de vaca, se describen en la tabla 9.

5.4. Características generales

Es un producto espumoso y muy aromático, con un sabor un poco agrio. La concentración de etanol puede alcanzar hasta un 2%. Suelen ser espumosas y efervescentes debido al CO₂ que contienen (Mahaut y cols., 2004).

Se obtiene a partir de leche fresca pasteurizada, normalizada en su contenido de grasa o desnatada. El producto acabado presenta un índice de SH entre 30 - 50, lo que expresa un contenido de ácido del 0,6 – 0,8 % (Spreer, 1993). En la tabla 9 se presentan las características químicas de los distintos tipos de kéfires.

TABLA 9: Características químicas de kéfir suave, medio y fuerte

Componentes (%)	Kéfir		
	Suave	Medio	Fuerte
Lactosa	2,78	2,24	1,67
Ácido Láctico	0,76	0,83	0,90
Alcohol	0,63	0,81	1,10

Fuente: Montes, (1981)

5.5. Granos de kéfir

El cultivo de kéfir está compuesto por granos o gránulos de kéfir que son los responsables de la fermentación (Spreer, 1993). Estos granos son de forma irregular, blancos o amarillentos, de consistencia elástica, con un diámetro muy variable (1 mm - 3 cm) dependiendo de las condiciones de cultivo y uso (Ordoñez, y cols., 1998; Güzel-Seydim y cols., 2000).

Los granos de kéfir están constituidos por una matriz de polisacárido y proteína sobre la que está inmersa, en asociación simbiótica, una microbiota compleja constituida por bacterias lácticas, ácido-acéticas y levaduras (De Antoni, 2005). Este polisacárido (kefirán) que sólo está presente en el grano de kéfir (Abraham y De Antoni, 1997), es un exopolisacárido ramificado, hidrosoluble, producido por los granos o por microorganismos aislados de estos (Medrano y cols., 2008). Numerosas especies de lactobacilos homofermentativos incluidos el *Lb. kefiranafaciens* y el *Lb. kéfir* producen este polisacárido (Toba, y cols., 1982). La composición de la matriz es de 6% de proteínas, 12% de polisacáridos y 80% de agua (Abraham y cols., 1999).

El extracto seco se compone principalmente de hidratos de carbono (56%) y de proteínas (32%).

Los desecados son masas duras pequeñas, irregulares, de color amarillo o marrón, del tamaño de una avellana. Los microorganismos están en estado latente, y se encuentran sólidamente protegidos por una funda de caseína seca (Boudier, 1993).

Los granos separados durante el proceso de elaboración, para ser utilizados en una próxima inoculación, deben ser almacenados en agua fría a 4°C (con pérdida de actividad en 8 días) o bien secados a temperatura ambiente durante 48 horas. Una vez secos y envueltos en aluminio pueden conservarse durante 12 meses a una temperatura de 16°C. Para reactivarlos, se maceran en agua hervida durante 6 horas y luego en leche pasteurizada durante 24 horas (Meyer, 1990).

Staff (2000), establece que la microbiota del kéfir está constituida generalmente por un 65 -80% de *Lactobacilos* y el 20 -35% restante por *Lactococos*, *Streptococos* y diferentes especies de levaduras.

Las levaduras son las responsables de la estructura de red de los granos de kéfir, así como de la producción de alcohol y de CO₂. Las bacterias son las principales causantes de la acidificación (Spreer, 1993).

Los gránulos de kéfir son un ejemplo de simbiosis entre levaduras y bacterias. En esta relación simbiótica, se han aislado e identificado una amplia variedad de especies microbianas que comprenden levaduras y bacterias (Lopitz-Otsoa y cols., 2006)

Las especies bacterianas que se encuentran generalmente son:

- *Streptococcus lactis*
- *Lactobacillus acidophilus*
- *Lactobacillus brevis*
- *Lactobacillus caucasicum*
- *Leuconostoc kéfir*

Las principales especies de levaduras son:

- *Saccharomyces lactis*
- *Saccharomyces cerevisiae*
- *Candida kéfir*
- *Saccharomyces kéfir*

En la tabla 10 se presentan las diferentes especies de microorganismos que pueden aislarse de los granos de kéfir.

TABLA 10. Microbiota aislada de los granos de kéfir

Género	Especies
Lactobacilos	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. casei subsp rhamnosus</i> , <i>L. casei subsp pseudopantarum</i> , <i>L. paracasei subsp paracasei</i> , <i>L. cellobiosus</i> , <i>L. delbrueckii subsp bulgaricus</i> , <i>L. delbrueckii subsp lactis</i> , <i>L. fructivorans</i> , <i>L. helveticus subsp lactis</i> , <i>L. hilgardii</i> , <i>L. kefir</i> , <i>L. kefiranofasiens</i> , <i>L. lactis</i> y <i>L. plantarum</i> (a). <i>L. kefirgranun</i> sp, <i>L. parakefir</i> sp. (b).
Streptococos/ Lactococos	<i>L. lactis subsp lactis</i> , <i>L. lactis var diacetyllactis</i> , <i>L. lactis subsp cremoris</i> , <i>S. salivarius subsp thermophilus</i> , <i>S. lactis</i> , <i>Enterococcus durans</i> , <i>Leuconostoc cremoris</i> y <i>Leuconostoc mesenteroide</i> (a).
Levaduras	<i>Cándida kefir</i> , <i>C. pseudotropicalis</i> , <i>C. rancens</i> , <i>C. tenuis</i> , <i>Kluyveromyces lactis</i> , <i>K. marxianus var marxianus</i> , <i>K. bulgaricus</i> , <i>K. fragilis/marxianus</i> , <i>Saccharomyces subsp torulopsis holmii</i> , <i>S. lactis</i> , <i>S. carlsbergensis</i> , <i>S. unisporus</i> (a). <i>Debaryomyces hansenii</i> y <i>Zygosaccharomyces rouxii</i> (c).
Acetobacterias	<i>A. aceti</i> y <i>A. rasens</i> (a).

Fuente: a) Macrae y cols., 1993 b) International Journal of Systematic Bacteriology, 1994
c) Loretana; Mosterta y Viljoen, 2003.

Según algunos autores, los cultivos del kéfir promueven la seguridad alimentaria y a que inhiben coloniformes y microorganismos patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* (Brialy y cols., 1995; Yüksekdag y cols., 2004), *Klebsiella pneumoniae* (Brialy y cols., 1995), *Pseudomonas aeruginosa* (Yüksekdag y cols., 2004) y *Bacillus cereus* (Medrano y cols., 2008).

5.6. Parámetros físico - químicos

Según Boudier (1993), y Mahaut y cols., (2004), un buen kéfir debe presentar los siguientes parámetros físico - químicos, los cuales dependen de la duración de la fermentación:

- 0,6 a 1% de ácido láctico (pH 4,2 - 4,5)
- 0,6 a 3 % de alcohol
- 50% en volumen de gas carbónico.

5.7. Composición físico-química

La composición química del kéfir es variable y no está bien definida. Ésta depende del tipo de leche empleada (vaca, cabra, oveja, etc.), de la composición de los granos o cultivo y de los procesos de elaboración utilizados (Ötles y Cagindi, 2003).

Los principales productos al final de la fermentación son ácido láctico, acetaldehído, acetoina, diacetilo, etanol y CO₂ (Güzel-Seydim y cols., 2000), sin embargo durante la fermentación aumenta el contenido en vitamina B₁, B₁₂, calcio, aminoácidos, ácido fólico y vitamina K (Ötles y Cadingi, 2003).

En la Tabla 11, se resume la composición físico-química del kéfir (Libudzisz y Piatkiewicz, 1990; Hallé y cols., 1994).

TABLA 11. Composición físico-química del kéfir

Valor de pH	4,0 - 4,5
Materia grasa (g/100g)	Depende de la fuente de la leche (cabra, vaca, yegua) 3,5
Colesterol (mg/100g)	13
Proteína (g/100g)	3 - 3,4
Triptófano (g/100g)	0,05
Fenilalanina + tirosina (g/100g)	0,35
Leucina (g/100g)	0,34
Isoleucina (g/100g)	0,21
Treonina (g/100g)	0,17
Metionina + cistina (g/100g)	0,12
Lisina (g/100g)	0,27
Valina (g/100g)	0,22
Lactosa (g/100g)	2
Ácido láctico (%)	0,6 a 1
Ácidos orgánicos	acético, fórmico, succínico, caprónico, caprílico, láurico.
Etanol (%)	0,5 a 2
CO ₂ (% p/p)	0,08 - 0,2
Compuestos aromáticos	Acetaldehído, diacetilo, acetona

Fuente: Renner y Renz-Schaven, (1986); Libudzisz y Piatkiewicz, (1990); Hallé y cols., (1994); Loretana y cols., (2003).

5.8. Valor nutritivo

La composición del kéfir es variable y no está bien definida (Zubillaga y cols., 2001). Depende de la fuente y el contenido de grasa de la leche, la composición de los granos y del proceso tecnológico.

Al igual que todas las leches fermentadas, su contenido en lactosa disminuye como resultado de la fermentación.

El kéfir contiene además vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales que ayudan al cuerpo en el mantenimiento de sus funciones vitales.

Presenta un alto contenido en proteínas fácilmente digeribles, por estar parcialmente hidrolizadas, como sucede en otras leches fermentadas. Tiene un elevado contenido en triptófano y es rico en minerales como calcio, magnesio y fósforo y vitaminas, especialmente vitaminas B₁₂, tiamina, ácido fólico y vitamina K. También es una buena fuente de biotina, que facilita la asimilación de otras vitaminas como el ácido fólico, el ácido pantoténico y vitamina B₁₂ (Saloff-Coste, 1996)

5.9. Procedimiento de elaboración

Las etapas del proceso de producción de kéfir (figura 7), son prácticamente las que se llevan a cabo en la fabricación de la mayoría de los productos lácteos acidificados (Gösta Bylund; 2003). La siguiente combinación es típica en la producción tradicional de kéfir:

a) Normalización de la grasa

El contenido de grasa de kéfir varía entre 0,1% y 6%. La leche cruda se utiliza a menudo con su contenido inicial de grasa, sin embargo, frecuentemente se establecen unos contenidos de grasa de 2,5% a 3,5%.

También se ha utilizado leche desnatada reconstituida para controlar mejor la composición microbiana de los granos de kéfir (Gösta Bylund; 2003).

b) Homogenización

Después de la normalización de la grasa, en su caso, la leche se homogeniza a unos 65 - 70°C y 17,5 - 20 MPa (175 - 200 bar).

c) Tratamiento térmico

La leche como sustrato debe ser adecuadamente tratada térmicamente para inactivar los bacteriófagos. El programa de tratamiento térmico es el mismo que

para el yogur y la mayoría de los productos lácteos acidificados: se pasteuriza a 85°C durante 30 minutos o a 90 - 95 °C durante 2 - 3 min.

d) Inoculación

Después del tratamiento térmico, la leche se enfría hasta la temperatura de inoculación, normalmente alrededor de 23°C, tras lo cual se añade un 2 - 3% de cultivo iniciador.

e) Incubación

El periodo de incubación normalmente se divide en 2 etapas, acidificación y maduración:

e.1) Etapa de acidificación:

La etapa de acidificación se prolonga hasta que se alcanza un valor de pH de 4,5%. Este proceso dura unas 12 h. El coágulo se agita a continuación y se pre-enfría mientras permanece en el tanque. El enfriamiento y la agitación se detienen a una temperatura de 14 - 16°C.

Una vez que la leche acidificada alcanza un índice de SH de 40, se filtra a través de un tamiz o una gasa de malla fina y se deja enfriar. De esta manera se separan los granos de kéfir, que se lavan con agua hervida enfriada (a veces leche desnatada), antes de ser nuevamente utilizados en la incubación de otro cultivo madre. Si se secan durante 36 - 48 h a temperatura ambiente, se pueden mantener más de un año.

La población microbiana crece alrededor de un 10% por semana durante la incubación, por lo que los granos se han de pesar y el exceso de peso debe ser eliminado antes de utilizarse en un nuevo lote.

e.2) Etapa de maduración:

El sabor típico ligeramente a "levaduras" comienza a desarrollarse durante las siguientes 12 - 14 h. El enfriamiento final comienza cuando la acidez ha alcanzado un pH de 4,4.

A continuación se envasa el producto en envases desechables, en botellas de leche o en botellas de tapón corona. La maduración se alarga durante 1 - 3 días a 18 - 22°C y durante su desarrollo tiene lugar una producción de CO₂ y de etanol, cuya intensidad aumenta a medida que transcurre el tiempo (Spreer, 1993).

El filtrado tiene un aspecto parecido al de la leche pero con burbujas y espuma como la cerveza (Amiot, 1991).

Con el fin de alcanzar una mayor rentabilidad se realiza muchas veces la maduración en tanques o depósitos calentables y en los envases. Frecuentemente se limita la maduración a solo un día. El kéfir así elaborado no alcanza del todo las típicas características organolépticas, pero no por eso deja de ser un producto fermentado de agradable sabor, aunque con menor contenido de CO₂ y de etanol (Spreer, 1993). Si se desea aumentar este contenido debe fermentarse a menor temperatura (4 - 15°C), lo que favorece el desarrollo y metabolismo de las bacterias.

f) Enfriamiento

El producto se enfría rápidamente hasta 5 - 8°C en un intercambiador de calor. Esto detiene cualquier reducción posterior de pH. Es de importancia vital que el producto se trate cuidadosamente cuando se enfría y durante el posterior envasado. Es por ello necesario minimizar la agitación mecánica que se produce en bombas, tuberías y máquinas llenadoras. Se debe también evitar la incorporación de aire, ya que éste aumenta el riesgo de sinéresis en el producto.

5.10. Otra manera de producir kéfir

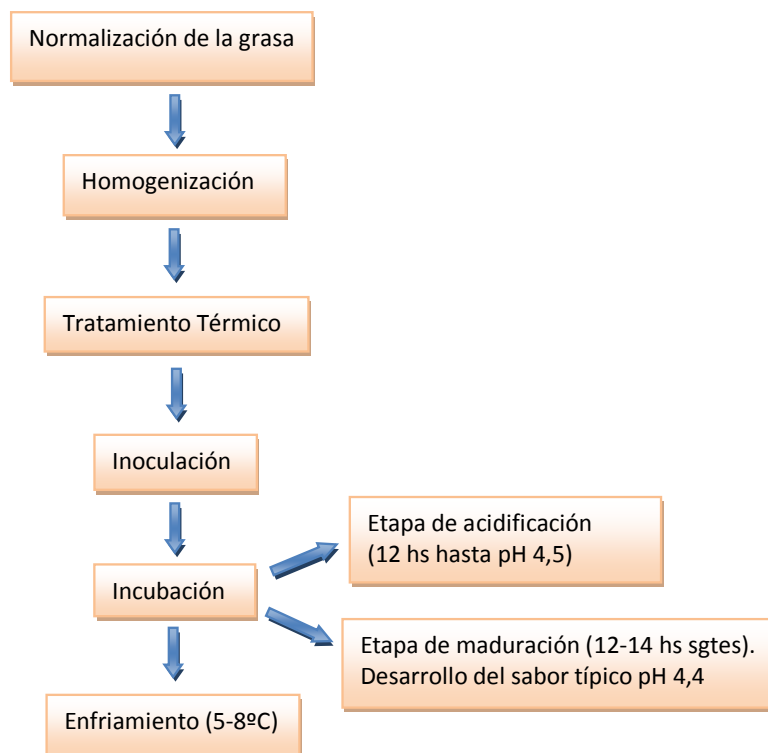
Para superar los problemas de la fabricación tradicional de kéfir, se ha desarrollado un cultivo concentrado liofilizado que se maneja de manera similar a otros cultivos. Este tipo de cultivo se ha comenzado a utilizar en la práctica desde 1985, obteniéndose así unos productos con una calidad más uniforme que los fabricados de forma convencional (Gösta Bylund, 2003).

Tras un adecuado examen de los granos de kéfir obtenidos de distintas fuentes, las cepas de levaduras y bacterias fueron aisladas y probadas según distintas características de crecimiento, producción de ácido láctico, formación de aroma, etc. A continuación se estableció la composición del cultivo liofilizado para obtener un equilibrio de microorganismo en el cultivo industrial y producto comparable al del kéfir tradicional fabricado con granos en un cultivo madre.

Actualmente se dispone comercialmente de fermentos de kéfir concentrados liofilizados para su uso directo en la leche para su elaboración.

Esta técnica basada en el uso de fermentos liofilizados reduce el número de etapas de proceso, y de esta manera el riesgo de reinfeción del cultivo.

FIGURA 7. Proceso de elaboración del kefir



5.11. Diferencias entre el yogur y el kéfir

A pesar de que es similar al yogur, la diferencia principal entre el proceso de fermentación del kéfir y del yogur estriba en que el primero fermenta la leche mediante una reacción lacto-alcohólica (la lactosa se transforma en ácido láctico y se produce anhídrido carbónico y alcohol, este último en una proporción inferior al 1%), mientras que la del yogur es sólo láctica (sólo se transforma la lactosa en ácido láctico).

El yogur se caracteriza por la presencia de dos tipos de bacterias bien diferenciadas: el *L. bulgaricus* y *S. thermophilus*, presentes en una proporción similar, y unas cantidades ciertamente mínimas que fermentan la lactosa de la leche. Sin embargo, el kéfir no sólo fermenta el azúcar de la leche en sí, sino que, a su vez, la caseína (fermentación hidroalcohólica) y la albúmina.

Otra de las diferencias más notables entre ambas, es la consistencia de ambos productos, dado que el kéfir es líquido (caseína solubilizada), y el yogur es sólido (caseína cuajada) (Gösta Bylund, 2003).

5.12. Beneficios del kéfir para la salud

Desde el siglo XVIII se ha creído que el kéfir posee poderes curativos, pero debido a su origen y la forma en que se ha transmitido a las generaciones, estos atributos benéficos han sido subestimados por la comunidad científica. Aunque un gran número de estudios han demostrado su beneficio, la falta de protocolos estandarizados para los ensayos clínicos hace que la interpretación de los resultados sea difícil (Lopitz-Otsoa y cols., 2006). Algunas de las propiedades atribuidas de los efectos del kéfir en la salud son:

a) Sistema digestivo

Se muestra una clara mejora en la digestión y absorción de la lactosa en los productos fermentados, debido a la actividad de la β -galactosidasa microbiana (De Vrese y cols.; 1992). Los productos lácteos fermentados se deben considerar en la formulación de dietas para los sujetos intolerantes a la lactosa (Alm; 1982).

El kéfir parece mejorar la digestión de la lactosa y la tolerancia a la misma en adultos con intolerancia (Hertzler y Clancy; 2003); también parece tener un efecto estimulador sobre el funcionamiento y el vaciado gástrico. Por el contrario, la leche, suero de leche, queso y mantequilla tienen efectos inhibitorios sobre esta función (Loranskaia y cols., 1986).

El kéfir contiene lactobacilos que se han asociado con evidentes efectos probióticos y algunas de las levaduras tales como *S. cerevisiae*, *Kluyveromyces lodderae*, *K. marxianus humilis* y *Candida*, los cuales pueden mostrar un efecto sobre la colonización en el intestino (Kumura y cols., 2004), disminuyendo el número de infecciones intestinales (Zubillaga y cols., 2001).

b) Sistema inmune

Dentro de los estudios que se han hecho sobre el kéfir como alimento lácteo funcional, se tiene el de Thoreux y Schmucker (2001) en el que concluyen que la administración por vía oral de kéfir a ratas jóvenes mejora la respuesta inmune específica de la mucosa intestinal contra la toxina del cólera.

Por otra parte, también se ha demostrado que el kéfir lácteo posee actividades antimutagénicas y antitumorales que los ubican dentro de los alimentos lácteos funcionales más prometedores (Liu y cols., 2005a; Hong y cols., 2009). También compararon el kéfir de leche de vaca y el kéfir de la leche de cabra (Liu y cols., 2005b), ambos mostraron una actividad antioxidante notable. Estos resultados sugieren que el kéfir puede ser un alimento satisfactorio para la prevención del daño oxidativo y mutagénico y un posible candidato útil para el papel de los antioxidantes naturales en los suplementos de la dieta humana.

6. OTRAS LECHES FERMENTADAS

Existe una nueva generación de productos fermentados, que aunque comúnmente se les denomina “yogures”; legalmente son leches fermentadas. La principal característica de estos productos es que a los fermentos lácticos tradicionales, se les adicionan otros microorganismos vivos conocidos como “probióticos”. En los últimos años ha habido un interés creciente en la producción

de bebidas lácteas fermentadas que contienen probióticos, debido a varias declaraciones de propiedades saludables que se han asociado a su consumo (Özer y Kirmaci, 2010).

Los **probióticos** son microorganismos vivos incorporados al alimento, que sobreviven al tránsito por el estómago e intestino delgado y pueden establecerse, al menos transitoriamente, en el intestino grueso (Borrueal Sainz, 2005).

En el año 2002 la Food and Agriculture Organization (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) definen a los probióticos como microorganismos vivos que administrados en cantidades suficientes proveen efectos fisiológicos beneficiosos sobre el huésped. Durante su uso o almacenamiento deben permanecer viables y estables ya que se administran con fines nutricionales exclusivamente.

Debido a los beneficios para la salud, la mayoría de las bacterias con propiedades probióticas pertenecen a los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, que son comunes pero no dominantes en la microbiota del tracto gastrointestinal humano (Ramchandran y Shah, 2010).

Las bacterias del yogur y las pertenecientes al género *Lactococcus* no se consideran probióticas, ya que su origen no es humano ni pueden implantarse en el intestino humano (Romero del Castillo y Mestres Lagarriga, 2004).

Los criterios de selección de los probióticos son los siguientes:

- No ser patógenos.
- Estar presentes en la microbiota del intestino humano.
- Ser tecnológicamente utilizables.
- Sobrevivir en su paso por el tracto digestivo y recuperarse en las materias fecales.
- Alcanzar su lugar de acción en el intestino en buenas condiciones viables.
- Capacidad de adherirse a la superficie de las mucosas y prevenir la adhesión y colonización de patógenos.
- Tener efectos positivos sobre la salud del consumidor.

El producto obtenido tendrá aproximadamente 10^7 UFC/g de la mezcla de bacterias probióticas. Después de 14 días de almacenamiento en frío, el contenido será de 10^6 UFC/g (Romero del Castillo y Mestres Lagarriga, 2004).

Diversos autores sostienen que para que los probióticos puedan llevar a cabo la mayoría de los supuestos beneficios para la salud que se les atribuyen, es necesario que los microorganismos lleguen viables al intestino y en cantidades muy altas, de 10^8 a 10^{11} UFC/día (Galdeano y Perdigón, 2004; Parvez y cols., 2006; Shah, 2007). Sin embargo, los estudios han demostrado que la mayoría de los alimentos probióticos tienen una población más baja de microorganismos y que los mismos no son capaces de sobrevivir el período de almacenamiento de los yogures (Shah, 2007).

Tradicionalmente, la selección de las bacterias lácticas se realizaba principalmente por su capacidad de acidificar la leche y por las características organolépticas del producto obtenido a partir de ellas. Los microorganismos probióticos se seleccionan por sus características relacionadas con la salud, pero sin olvidar que han de ser capaces de crecer en la leche y mantenerse viables en la misma. La mayoría de estos microorganismos se desarrollan mal en la leche. Para facilitar su crecimiento es útil añadir sustancias promotoras del mismo en la preparación del cultivo iniciador, como por ejemplo extracto de levadura, proteína hidrolizada de leche y vitaminas. Además el medio de cultivo debe agitarse lo menos posible para mantener el contenido de oxígeno bajo, y a que las *bifidobacterias* son estrictamente anaerobias. A veces es necesario añadir del 5 al 10% de inóculo para asegurar un crecimiento rápido y formación de ácido en la leche (Romero del Castillo y Mestres Lagarriga, 2004).

Otros autores indican que con el fin de aumentar la viabilidad de las bacterias probióticas en las leches fermentadas, se agregan diferentes sustancias a la leche, tales como fructooligosacáridos (FOS), caseinopéptidos (CMP), concentrado de proteínas del suero (WPC), triptona, extractos de levadura, ciertos aminoácidos, precursores de nucleótidos y una fuente de hierro (Janer y cols., 2004; Brannon, 2006; Stephenie y cols., 2007; Vasiljević y Shah, 2008).

Cuando se habla de los efectos sobre la salud de los probióticos es muy importante distinguir entre las diferentes cepas; no todas las cepas de una misma

especie tiene necesariamente los mismos beneficios (Romero del Castillo y Mestres Lagarriga, 2004).

Cada cepa de los probióticos posee efectos beneficiosos sobre la salud y varían según la cantidad ingerida y la duración de la administración (Borrueal Sainz, 2005). Los probióticos más conocidos y de mayor utilización son: *Lactobacillus plantarum* 299, *Lactobacillus rhamnosus* Gorbach Goldin (LGG) y *Bifidobacterium* (Montrose y cols., 2005; Jenkins y cols., 2005).

Los productos probióticos comerciales contienen normalmente mezclas de lactobacilos y bifidobacterias, aunque pueden añadirse ciertas levaduras. Las más habituales, además de los propios del yogur, son cepas definidas de *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. johnsonii*, *Lb. plantarum*, *Lb. rhamnosus*, *Bifidobacterium breve*, *B. longum*, *B. bifidum*, *B. lactis*, *Enterococcus faecium*, *Saccharomyces cerevisiae* y *S. boulardii* (Rivas-Gonzalo, 2009).

Entre los muchos beneficios que se le han atribuido al consumo de probióticos y a sus productos fermentados, pueden mencionarse que modulan la función intestinal facilitando la evacuación gástrica, mejoran la digestión de la lactosa y estimulan el sistema inmune activando la producción de macrófagos y anticuerpos (Meydani y Ha, 2000; Parvez y cols., 2006).

Los probióticos benefician al huésped, debido a la producción de sustancias antimicrobianas como son el ácido láctico y acético, y a ciertas proteínas como bacteriocinas, y a la disminución del pH en el intestino que limita o impide el desarrollo de otros microorganismos que compiten por la utilización de nutrientes. Además poseen efecto trófico sobre la mucosa intestinal. (Montrose y cols., 2005; Jenkins y cols., 2005).

El recuento en heces humanas y en diversos estudios *in vitro* muestran que entre el 3 y el 50% de estas especies pueden alcanzar el intestino grueso. Las bifidobacterias en concreto forman parte de la microbiota del intestino humano, colonizando en gran cantidad el intestino del lactante pocos días después de nacimiento, manteniéndose estable durante la época de lactancia y decreciendo en la edad avanzada. Estas bacterias lácticas anaeróbicas tienen la particularidad metabólica de degradar la lactosa produciendo ácido láctico y ácido acético (Kayanush y cols., 2007).

Los probióticos ofrecen beneficios para la salud, a saber, mejorar la digestión de la lactosa mediante la producción de una enzima que ayuda a digerir la lactosa (Kim y Gilliland, 1983), reduciendo los efectos secundarios de los antibióticos mediante el restablecimiento de la flora saludable intestinal, muy rápidamente después del tratamiento antibiótico (Lidbeck, 1995). También intervienen en la prevención de las infecciones intestinales por la producción de ácidos orgánicos y otros agentes antibacterianos. Otros beneficios de los probióticos incluyen la prevención de ciertos tipos de cáncer (Reddy y cols., 1983), una reducción de los niveles de colesterol (Gilliland y Walker, 1990) y la mejora del sistema inmune y prevención de alergias, a través del incremento de la actividad fagocitaria, la actividad *natural killer* y la producción de anticuerpos, así como la modulación en la producción de citoquinas (O'May y Macfarlane, 2005, Baró y cols., 2010).

7. IMPORTANCIA DEL YOGUR Y OTRAS LECHE FERMENTADAS EN LA SALUD

Durante el proceso de fermentación, se producen en la leche numerosas modificaciones, algunas de las cuales hacen que el yogur sea un producto con mayor valor nutritivo que la leche (Mahaut y cols., 2004).

En los últimos años numerosos estudios han publicado los efectos benéficos del yogur y de las bacterias lácticas usadas en la producción del yogur.

Los beneficios del yogur y las bacterias ácido lácticas en la salud gastrointestinal ha sido objeto de investigación, utilizando modelos animales y ocasionalmente sujetos humanos. Algunos estudios emplearon yogur, especies individuales de bacterias ácido lácticas o ambos, y mostraron efectos prometedores en ciertas condiciones gastrointestinales, incluidas la intolerancia a la lactosa, constipación, enfermedades diarreicas, cáncer de colon, enfermedad inflamatoria intestinal, infección por *Helicobacter pylori* y ciertas alergias (Adolfsson y cols., 2004).

➤ **Mejora la tolerancia a la lactosa**

La intolerancia a la lactosa es la pérdida de la capacidad de asimilación de la lactosa, quedando ésta libre y desencadenando una serie de síntomas adversos, como flatulencia, dolor abdominal y diarrea (Tamime y Robinson, 2007).

La deficiencia de lactasa es la más común de todas las deficiencias enzimáticas en adultos. Más de la mitad de la población adulta mundial es intolerante a la lactosa, y varía según zonas geográficas y diferentes etnias (Sahi, 1994).

Los nutrientes del yogur y de las leches fermentadas se asimilan más fácilmente que los de la leche. La acción de las bacterias lácticas sobre los componentes de la leche provoca una predigestión de muchos de ellos, facilitando la disponibilidad y absorción de proteínas, grasas e hidratos de carbono, como la lactosa (Baró y cols., 2010).

Las leches fermentadas son mejor toleradas por personas con intolerancia a la lactosa, que los productos lácteos no fermentados. Durante la fermentación de la leche, la lactosa es parcialmente hidrolizada, lo que resulta en un menor contenido de éste disacárido en el yogur (Bourlioux y Pochart, 1988). Sin embargo esta reducción en lactosa no es significativa debido a que se añade extracto seco lácteo durante el procesamiento (Rosado y cols., 1992, Tamime y Robinson, 2007; Baró y cols., 2010)

El 30% de la lactosa es transformada en galactosa y ácido láctico por acción de las bacterias lácticas. La presencia de bacterias lácticas viables en el yogur permite una mejor asimilación de la lactosa en personas deficitarias en lactasa. Esto se debería a la inducción de la actividad lactásica de la mucosa intestinal por las bacterias vivas, y a la liberación de lactasa durante la destrucción de las bacterias lácticas durante el tránsito intestinal; esta lactasa se liberaría en el intestino delgado y mantendría su capacidad para hidrolizar la lactosa durante al menos 12 h (Mahaut y cols., 2004).

Estudios en animales sugieren que las bacterias ácido lácticas inducen la actividad lactásica en las células endoteliales del intestino (Thoreux y cols., 1998).

Los probióticos ofrecen beneficios para la salud, a saber, mejorar la digestión de la lactosa mediante la producción de una enzima que ayuda a digerir la lactosa (Kim y Gilliland, 1983), reduciendo los efectos secundarios de los antibióticos mediante el reestablecimiento de la flora saludable intestinal, muy rápidamente después del tratamiento antibiótico (Lidbeck, 1995).

➤ **Aumento de la digestibilidad de las proteínas**

Como resultado del tratamiento térmico, de la acidificación y de la actividad proteolítica de las bacterias, el yogur es más fácil de digerir in vitro que la leche antes de la fermentación y contiene el doble de aminoácidos libres (Tamime y Robinson, 2007; Baró y cols., 2010).

➤ **Mejora de la digestibilidad de la materia grasa**

Si bien en las bacterias lácticas no tienen una gran actividad lipolítica, se produce un aumento significativo del contenido de ácidos grasos libres en el yogur. Además, la homogeneización mejora la digestibilidad al aumentar la superficie de los glóbulos grasos (Mahaut y cols., 2004).

➤ **Actividad antimicrobiana**

Además del ácido láctico, las bacterias del yogur producen sustancias antimicrobianas y probióticas. En numerosas investigaciones se demostró el efecto beneficioso en el tratamiento de diarreas infantiles (Duez y cols., 2000).

➤ **Estimulación del sistema inmune**

Se ha visto, que las bacterias ácido lácticas (BAL) son capaces de sobrevivir tras su paso por el tracto gastrointestinal y unirse a la superficie luminal de las células M que se encuentran en la superficie epitelial de las placas de Peyer del intestino, dando lugar a la estimulación del sistema linfático intestinal (Drouault y cols., 1999). La interacción de las BAL con las células inmunes del entorno de la mucosa juegan un papel principal en un cierto número de procesos directamente

dependientes del tejido linfoide asociado a mucosas, entre los que se pueden destacar:

- Inducción de tolerancia oral.
- Exclusión antigénica (efecto barrera mediado por Ig A).
- Regulación de la respuesta inmune que a nivel de la mucosa intestinal, es clave en el desarrollo de afecciones gastrointestinales con componente inflamatorio.

La acción inmunoreguladora del yogur se atribuye fundamentalmente al *L. Bulgaricus*, debido a que provoca un aumento en la producción de interferones e inmunoglobulinas y una activación de los linfocitos B (Mahaut y cols., 2004).

➤ **Mejora el tracto gastrointestinal**

El yogur se ha utilizado como un importante y valioso agente terapéutico en algunos trastornos gastrointestinales tales como gastroenteritis, estreñimiento infantil y diarreas, ya sea la del viajero, la asociada al consumo de antibióticos o la causada por intolerancia a la lactosa.

Su ingestión regular provoca una repoblación temporal, muy beneficiosa, en lo que se refiere al buen funcionamiento del tubo digestivo, sobre todo en los casos patológicos y cuando la microbiota intestinal ha sido alterada o destruida por un tratamiento con antibióticos (De Vrese y cols., 1992).

➤ **Acción preventiva contra los cánceres del sistema digestivo**

Diversos estudios epidemiológicos parecen demostrar la existencia de una relación inversa entre el riesgo de aparición de diversos tipos de cáncer y el consumo de dietas que incluyan alimentos probióticos, y a que al parecer, estimulan el sistema inmune, activan las células encargadas de destruir las células tumorales y eliminan posibles futuros cancerígenos (Peters y cols., 1992).

Se ha demostrado que tanto las leches fermentadas como las bacterias empleadas para su fermentación, tienen efectos benéficos en el cáncer de colon y en otros tumores de células murinas de carcinogénesis. Asimismo se ha

observado que los microorganismos del yogur son capaces de inactivar carcinógenos como la 1,2-dimetil hidracina y la N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina y evitar daño al ADN en el colon de ratas (Wollowski y cols., 1999).

Los lactobacilos modificarían las enzimas bacterianas que originan los carcinógenos en el tracto digestivo, inhibiendo así la formación de estas sustancias precancerígenas. Algunos de los mecanismos por los cuales las bacterias ácido lácticas actúan previniendo el cáncer de colon se rían que refuerzan el sistema inmune intestinal, suprimen daño causado por otras bacterias intestinales patógenas, se cuestran potenciales mutagénicos, producen compuestos antimutagénicos y reducen el pH del colon (Rafter, 1995).

➤ **Reducción del colesterol y LDL**

Existen numerosos estudios que evaluaron la influencia del consumo de yogur sobre los niveles de lípidos plasmáticos. Así, Xiao y cols., (2003), estudiaron el efecto del consumo de leches fermentadas con *B. longum* en los niveles de lípidos sanguíneos de ratas y humanos, en ambos grupos se observó que aquellos que fueron alimentados con esta leche fermentada presentaron una reducción significativa del colesterol total, LDL-colesterol y triglicéridos en comparación con el grupo control.

En otro estudio pretérito realizado por Van Poppel y Schaafsma (1996), se demostró que la inoculación de *L. acidophilus* al yogur, induce a una reducción del 44% del colesterol total; 5,4% de la fracción LDL y 5,3% de la relación LDL: HDL en un grupo de personas voluntarias.

El efecto de las leches acidófilas en la reducción de los niveles de colesterol se estableció en base a modelos animales y humanos. La alimentación a ratas con leche fermentadas con este cultivo mostró una reducción significativa en los niveles de colesterol, HDL, LDL y triglicéridos (Kheard y cols., 2000). La eficacia de este tipo de leches en la reducción del colesterol se ve influenciada por diversos factores tales como el tipo de leche empleada en la elaboración del producto, la edad, sexo, hábitos alimentarios y de la concentración inicial de colesterol en los sujetos examinados (Sarkar, 2003).

En otro estudio, realizado por El-Gawad y cols., (2005), se observó un efecto hipocolesterolémico significativo del yogur (tanto de leche de búfala, como de soja) suplementado con bifidobacterias en ratas alimentadas con dietas altas en colesterol.

Bozanik y cols. (2001), sostienen que la inoculación del *L. acidophilus* a la leche de cabra, resulta más eficaz en la reducción del colesterol sérico que en la leche de vaca, debido a que contienen menores concentraciones de ácidos grasos mirístico y palmítico.

El calcio, ácido orótico, la lactosa y la caseína se han sugerido como posibles factores hipocolesterolémicos (Deeth y Tamime, 1981).

Sin embargo, existen también estudios en los que no se comprueban los efectos saludables del consumo de yogur. Tal es el caso de la investigación realizada por Ballesta y cols. (2008), donde se administraba 3 yogures diarios a cada persona durante 30 días, para luego determinar la presencia de las bacterias ácido lácticas en heces, los resultados obtenidos indicaron una ausencia de estas bacterias en la mayoría de las muestras, por lo que afirman que estas no sobreviven al tránsito gástrico, y por lo tanto, no se podría corroborar los efectos benéficos atribuidos a este producto.

III. MATERIAL y MÉTODO

1. MUESTRAS

Se han analizado 31 muestras de leche cruda de cabra obtenidas durante seis meses de una de las explotaciones más importantes de Andalucía (España), 2 de leches comerciales de cabra (las únicas existentes en el mercado, de las que se obtuvieron 5 muestras para cada una correspondientes a diferentes lotes) y 3 muestras de leches comerciales de vaca (las más consumidas de características similares a las de cabra, semidesnatadas y sometidas a UHT, de las que se incluyeron 3 muestras para cada una de ellas, correspondientes a distintos lotes).

También se analizaron un total de 75 leches fermentadas, de las cuales 55 muestras corresponden a leches fermentadas comerciales elaboradas a partir de leche de vaca, 11 de leche de cabra (todas las marcas comerciales existentes hasta el momento, o al menos disponibles, en comercios de Granada) y 9 muestras de una leche fermentada de diseño experimental elaborada a partir de leche de cabra, que está siendo objeto de estudio por nuestro grupo de investigación.

Las marcas comerciales de las leches fermentadas analizadas se presentan en la tabla 12.

TABLA 12. Marcas comerciales de las leches fermentadas analizadas

Marca comercial	Leche fermentada
Asturiana	- Yogur natural entero de leche de vaca
Auchán (marca blanca)	- Yogur natural entero de leche de vaca - Yogur al estilo griego - Leche fermentada natural bifidus
Carrefour (marca blanca)	- Yogur entero de leche de cabra - Kéfir de leche de cabra - Yogur natural entero de leche de vaca - Yogur natural ecológico "De nuestra tierra" - Yogur ecológico "Ecobio" - Bifidus entero - Kéfir de leche de vaca entero y semidesnatado
Casería la madera	- Yogur entero de leche de vaca
Clesa	- Yogur natural entero de leche de vaca - Yogur al estilo griego azucarado

TABLA 12. Marcas comerciales de las leches fermentadas analizadas (cont.)

Marca comercial	Leche fermentada
Danone	<ul style="list-style-type: none"> - Yogur natural entero de leche de vaca - Yogur entero "Original" y "Original azucarado" - Activia soja - Activia natural - Actimel natural y Actimel coco - Yogur al estilo griego - Vitalínea desnatado - Danacol - Danaten - Essensis
Granja Noé	<ul style="list-style-type: none"> - Yogur entero de leche de cabra - Kéfir de leche de cabra
El Cantero de Letur	<ul style="list-style-type: none"> - Yogur entero de cabra - Yogur desnatado de cabra - Ecobífidus de cabra - Ecobífidus de leche de vaca entero - Kéfir de leche de cabra - Kéfir de leche de vaca
El Corte Inglés	<ul style="list-style-type: none"> - Yogur natural entero de leche de vaca
Hacendado	<ul style="list-style-type: none"> - Yogur natural entero de leche de vaca - Bífidus entero - Yogur al estilo griego - Leche fermentada "<i>L. casei</i>"
Hipercor (marca blanca)	<ul style="list-style-type: none"> - Yogur natural entero de leche de vaca - Bífidus entero
Hoya de la Iglesia	<ul style="list-style-type: none"> - Yogur entero azucarado de leche de cabra - Kéfir de leche de cabra
Kaiku	<ul style="list-style-type: none"> - Benecol, - Leche fermentada con aloe vera.
Kolios	<ul style="list-style-type: none"> - Yogur al estilo griego 2% materia grasa - Yogur al estilo griego 10% de materia grasa.
La Ermita de San Pedro	<ul style="list-style-type: none"> - Yogur entero azucarado de leche de vaca
Nestlé	<ul style="list-style-type: none"> - Yogur natural entero de leche de vaca - Yogur entero azucarado de leche de vaca "La Lechera" - Sveltesse 0% - Yogur al estilo griego - LC₁ Protection
Pascual	<ul style="list-style-type: none"> - Yogur pasteurizado después de la fermentación sabor piña 0% materia grasa.
Pur natur	<ul style="list-style-type: none"> - Yogur entero de leche de vaca
Vega de Ayora	<ul style="list-style-type: none"> - Yogur entero de leche de cabra
V- Rai	<ul style="list-style-type: none"> - Yogur entero - Yogur desnatado de leche de vaca
Xanceda	<ul style="list-style-type: none"> - Yogur entero de leche de vaca

2. TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Antes de realizar los análisis, se lleva cada muestra a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ y se mezcla cuidadosamente a fin de homogeneizarla.

Cada una de las determinaciones analíticas se realizaron por triplicado.

3. TÉCNICAS ANALÍTICAS

3.1. ANALISIS FISICO-QUIMICOS

a) pH (en leches fermentadas)

Referencia: AOAC, 2006.

Fundamento: el término pH indica la concentración de iones hidrógeno en una disolución.

Se realizó mediante lectura directa en pH-metro Crison Meter Basic 20, a una temperatura de la muestra de 20°C .

b) Acidez

Referencia: AOAC, 2006.

Fundamento: se refiere al contenido aparente de ácido, expresados en gramos de ácido láctico/100 g de leche. Se realiza mediante titulación potenciométrica de la acidez con hidróxido de sodio hasta un pH de 8,3.

Instrumental:

- Balanza analítica.
- Potenciómetro con electrodo de vidrio, sensibilidad 0,01 unidades de pH (en caso de análisis de un producto coloreado).
- Bureta graduada en 0,05 mililitros.

Reactivos:

- Solución de hidróxido sódico 0,1N (Panreac).

- Solución tampón de referencia a pH 7 (Merck).

c) Densidad (Método Picnométrico)

Referencia: Solo realizado en muestras de leche. AOAC, modificado (2006).

Instrumental:

- Picnómetro de vidrio de 50 ml de capacidad, de cuello con diámetro interior de 3,5 mm.
- Embudo y sifón para picnómetros.
- Termómetro contrastado dividido en 1/5-1/10 de grados Celsius graduado de 10 a 30°C.
- Termostato regulado a 20°C ± 0,2°C.
- Balanza con aproximación de 0,1 mg.

Procedimiento:

Lavar bien el picnómetro y enjuagarlo con alcohol etílico 96% v/v y luego con éter etílico, escurrir bien y secar.

Llenar con agua a 20°C recién destilada, con cuidado de evitar burbujas en el interior del picnómetro. Sumergir en el agua a la temperatura comprobada de 20°C. Mantener el picnómetro en el termostato durante 30 min, y enrasar en el nivel de agua con la marca en el cuello. Tapar el picnómetro, secar exteriormente, dejar 30 min en la caja de la balanza y después pesar.

Vaciar el picnómetro, enjuagar nuevamente y secar como se indica anteriormente. Llenar con la leche a temperatura de 20°C. Dejar en el termostato durante 30 min, llenar hasta volumen con la leche y pesar.

Cálculo:

$$d_{20}^{20} = \frac{P'' - P}{P' - P}$$

P= peso en g del picnómetro vacío.

P'= peso en g del picnómetro más agua destilada a 20°C.

P''= peso en g del picnómetro más leche a 20°C.

d) Materia grasa (método Gerber)

Referencia: AOAC, 2006.

Fundamento: se produce la liberación total de grasa de la muestra por centrifugación en un butirómetro, seguido de ataque con ácido sulfúrico de los elementos de la leche, excepto la materia grasa. La separación de esta se facilita por la adición de una pequeña cantidad de alcohol isoamílico.

En el caso del yogur, la muestra se diluye bajo las condiciones que permitan expresar los resultados en porcentaje ponderal (Figura 8).

Instrumental:

- Butirómetro para leche graduado de 0 al 9%.
- Pipeta para leche de 11 ml de descarga única.
- Medidor de ácido sulfúrico o pipeta de seguridad de 10 ml.
- Medidor de alcohol isoamílico o pipeta de seguridad de 1ml.
- Baño de agua a 65 - 70°C para butirómetros.
- Centrifuga eléctrica para butirómetros de leche.

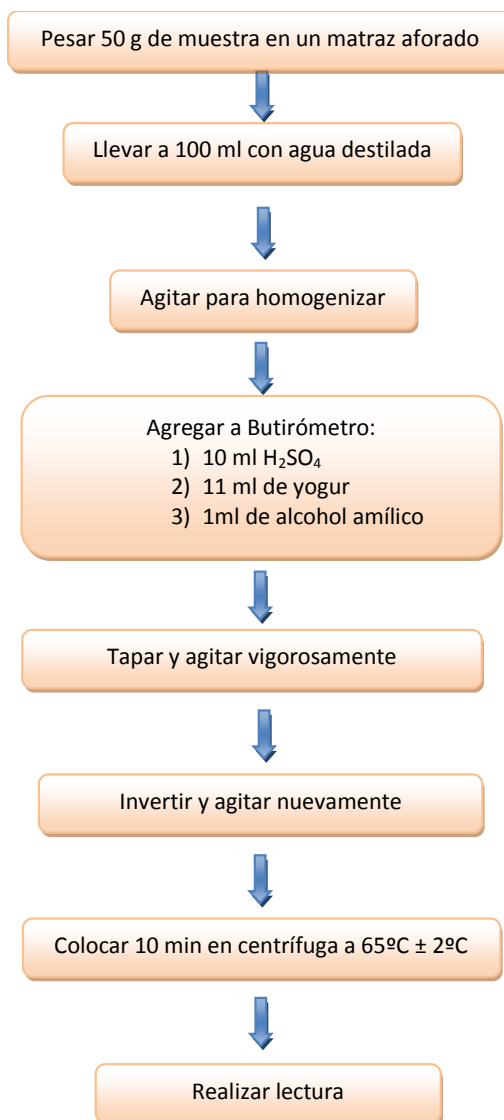
Reactivos:

- Ácido sulfúrico 90-91%.
- Agua PA-ACS.
- Alcohol isoamílico.

Procedimiento:

El mismo varia en el caso de las leches fermentadas, para ello se realiza una adaptación de la técnica oficial, que consiste en pesar 50 g de muestra y llevar a 100 ml con agua destilada, agitando para homogeneizar. Luego se siguió el procedimiento tradicional de extracción por Gerber.

FIGURA 8. Procedimiento para determinar grasas en yogures por el método de Gerber



e) Cenizas

Referencia: AOAC, 2006. BOE: 3/1/1994.

Fundamento: Se entiende por contenido en cenizas, al producto resultante de la incineración del extracto seco, expresado en porcentaje de peso, obtenido según el procedimiento descrito a continuación.

El extracto seco se incinera a una temperatura de terminada y en una lenta corriente de aire ($550^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$).

Instrumental:

- Horno Nabertherm 30-3.000°C, modelo LE 2/11/R6.

Procedimiento

Colocar la cápsula en la estufa de desecación a $102^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 30 minutos. Pasarla luego al desecador, dejarla enfriar a la temperatura ambiente y pesar. Pesar exactamente alrededor de 10 g de leche en la cápsula. Poner la cápsula en baño de agua hirviendo hasta secado por evaporación (aproximadamente siete horas). Incinerar el extracto seco, procedente de la carbonización anterior, por calentamiento durante 2 o 3 horas en un horno regulado entre 520° y 550°C .

f) Extracto seco

Referencia: AOAC, 2006.

Fundamento: Es el residuo que queda después de efectuar la desecación del producto, es decir, todos los componentes a excepción del agua. Se determina como la parte de su sustancia que no desaparece al someter la muestra a una temperatura de $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$, hasta alcanzar un peso constante.

Instrumental:

- Balanza analítica. de sensibilidad 0,1 mg como mínimo.
- Estufa provista de ventilación y de sistema de regulación termostática que permita obtener una temperatura de $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ en todos los puntos de su interior.
- Desecador provisto de deshidratante eficaz (Gel de Sílice 3 - 6 mm con indicador QP).
- Cápsulas cilíndricas de metal inoxidable ó de vidrio, de alrededor 25 mm de altura.
- Baño de agua.
- Gel de Sílice 3 - 6 mm con indicador QP.

- Arena de mar lavada, grano fino Q.P. (para muestras viscosas como yogur y leches fermentadas).

Procedimiento

- a) Preparación de la muestra: antes del análisis, poner la muestra a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ y mezclarla cuidadosamente. Si no se obtiene una buena repartición de la materia grasa, calentar lentamente a 40°C , mezclarla suavemente y enfriarla, a $20 \pm 2^\circ\text{C}$.
- b) Determinación: Poner aproximadamente 3 ml de leche en la cápsula, taparla y pesarla. En el caso de las muestras de leche, se introduce la cápsula destapada en baño de agua durante 30 minutos y luego se la coloca en la estufa de desecación a $102^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ durante 2 horas.

En las muestras de leches fermentadas, se debe colocar en la cápsula, aproximadamente 25 g de arena y una pequeña varilla de vidrio. Secar la cápsula y su contenido, con la tapa abierta, a $98^\circ\text{-}100^\circ\text{C}$ durante 2 horas. Luego, pesar aproximadamente 5 g de la muestra y llevar a estufa de desecación hasta peso constante.

- c) Cálculo:

$$\text{Contenido de extracto seco \%} = \frac{P'}{P}$$

P' = peso en gramos de la muestra después de la desecación.

P = peso en gramos de la muestra antes de la desecación.

Se indica que la leche de vaca contiene un extracto seco magro igual o superior a 85 gramos por litro.

g) Proteínas (método Kjeldahl)

Referencia: AOAC, 2006; Olalla y cols. 2009.

Fundamento: El contenido en proteína es el resultado de multiplicar el contenido en nitrógeno, determinado por el procedimiento Kjeldahl, por 6,38 como factor de conversión del nitrógeno en proteína para leche y productos lácteos.

Instrumental:

- Balanza digital: Mettler modelo AE 200.
- Aparato Kjeldahl: Büchi modelo B-316.
- Placa calefactora: Bloc Digest 12 Selecta.
- Matraces Kjeldahl de 500 ml.
- Refrigerante Liebig de tubo interior rectilíneo.
- Tubo de salida.

Reactivos:

- Catalizador: 100 g de sulfato potásico (Merck), 6 g de sulfato de cobre (Merck) y 1 g de selenio (Merck) triturados y homogeneizados.
- Ácido sulfúrico concentrado 98% (Panreac).
- Disolución de hidróxido sódico al 40% (p/v) (Panreac).
- Disolución titulante: ácido clorhídrico 0,1N (Merck).
- Solución indicadora: 0,2 g de rojo de metilo (Merck) y 0,1 g de azul de metileno (diluidos ambos en 100 ml de etanol al 95%).
- Disolución de ácido bórico al 4% (Panreac).

Procedimiento

El procedimiento de determinación de proteínas por el método de Kjeldahl, se esquematiza en la figura 9.

FIGURA 9. Modificaciones realizadas al procedimiento descrito en la Norma Internacional FIL-IDF 20: 1962 para la determinación de compuestos nitrogenados

DIGESTIÓN

- 1 ml de sulfato de cobre (CuSO₄)
- 3 perlas de vidrio
- 15 g de sulfato de potasio (K₂SO₄)
- 3 g de yogur ó
- 5 ml de leche



MATRAZ KJELDAHL

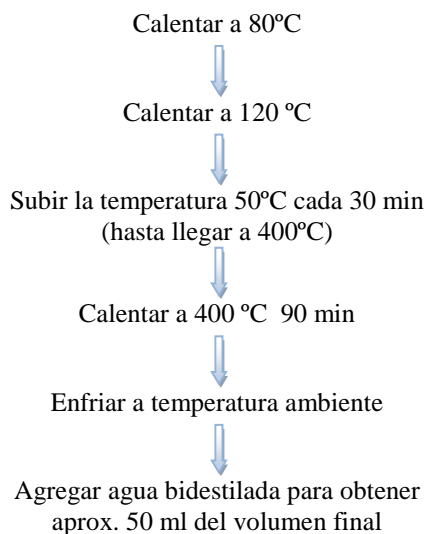
- 25 ml de ácido sulfúrico al 98% (H₂SO₄ 98%)

PATRONES

- 0,15 g de sulfato amónico (NH₄)SO₄
- 0,20 g de triptófano
- 0,15 g de albúmina



DIGESTOR KJELDAHL



BLANCO

- 5 ml de agua bidestilada
- 0,1 g de sacarosa

NEUTRALIZACION y DESTILACIÓN

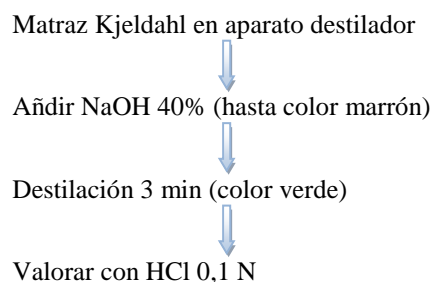


Matraz Erlenmeyer bajo refrigerante

- 50 ml de ácido bórico al 4% (HBO₃)
- 3-4 gotas de indicador Shiro-Tashiro



DESTILADOR



h) Hidratos de carbono totales

Se determinó indirectamente su contenido en 100 g mediante diferencia de nutrientes

➤ **Lactosa por el método Cloramina T (para muestras de leche)**

Referencia: Norma Internacional FIL-IDF 28: 1974.

Fundamento: Se entiende por contenido en lactosa de la leche el contenido en lactosa monohidratada expresado en porcentaje en peso.

Procedimiento:

- Preparación de la muestra: antes del análisis poner la muestra a $20^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y mezclarla con cuidado. Si no se obtiene una dispersión homogénea de la materia grasa, calentar la muestra lentamente a 40°C , mezclar suavemente y enfriar a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- Ensayo en blanco: efectuar un ensayo en blanco siguiendo exactamente el método operatorio descrito, pero empleando 10 ml de agua en lugar del filtrado.

Material y aparatos

- Balanza analítica
- Matraces aforados de 100 ml
- Pipetas de 5, 10, 20, 25 y 40 ml
- Papel de filtro (lavado en ácido, velocidad media: 11-12.5cm)
- Embudos filtrantes
- Matraces erlenmeyer de 150 a 200 ml
- Matraces erlenmeyer de 150 ml con cierre esmerilado
- Bureta de 10 ml graduada a 0,02ml

Reactivos

- Ácido clorhídrico 2 mol/l(2N) SV
- Ácido orto-fosfórico 85% PA-ACS-ISO
- Ácido sulfúrico 96% PA-ISO
- Ácido sulfúrico 0.5 mol/l (1N) SV
- Agua PA-ACS

- Almidón soluble RE
- Cloramina T 3-hidrato PRS
- Yoduro potásico PA-ISO
- Tiosulfato de sodio 0,05 mol/l (0.05N) SV
- Tungstato de sodio 2-hidrato PA
- Reactivo del ácido tungsténico: disolver 7 g de tungstato de sodio 2-hidrato en 870 ml de agua. Añadir 0,1 ml de una solución de ácido orto-fosfórico 85% y 70 ml de ácido sulfúrico 1N.
- Solución de Cloramina T 0,04N: Disolver 5,70 g de Cloramina T por litro de agua.
- Solución de tiosulfato normalizada a un poco más de 0,040N: Usar tiosulfato de sodio 0,05N.
- Solución de yoduro potásico del 10% recientemente preparada (incolora)
- Ácido clorhídrico 2N
- Solución de almidón soluble al 1%

Procedimiento

A. Pretratamiento de la muestra

B. Determinación

1. Llevar 10 ml de leche a un matraz aforado de 100 ml.
2. Añadir 25 ml de agua, 40 ml del reactivo de ácido tungsténico y mezclar suavemente.
3. Completar hasta 100 ml con agua.
4. Mezclar y dejar que se deposite el precipitado.
5. Filtrar con un filtro seco y recoger en un matraz seco.
6. Tomar 10 ml de filtrado y ponerlo en un matraz erlenmeyer de 150 ml provisto de tapón esmerilado.
7. Añadir 5 ml de la solución de yoduro potásico y exactamente 20 ml de la solución de Cloramina T 3-hidrato.
8. Mezclar
9. Tapar el matraz con su tapón, previamente humedecido con un poco de solución de yoduro potásico y mantenerlo en la oscuridad durante 1.5 h a 18-20°C.

10. Quitar el tapón, enjuagarlo en el matraz con un poco de agua y añadir 5 ml de la solución de HCl 2N.
11. Añadir exactamente 10 ml de la solución de tiosulfato sódico 0.05N.
12. Valorar con una aproximación de 0,02 ml con una solución de tiosulfato 0,05N.
13. Hacia el final de la valoración, añadir 2-3 gotas de la solución de almidón soluble.

Cálculo

Calcular la diferencia entre los valores de tiosulfato obtenidos para el ensayo en blanco y para el de la leche. Corregir el valor en función del volumen del precipitado, multiplicando por 0,992. Convertir la cifra obtenida en lactosa monohidratada, teniendo en cuenta que 1 ml de solución de tiosulfato 0,040N corresponde a 0,00720 g de lactosa monohidratada. Expresar los resultados en porcentajes de lactosa monohidratada.

$$Lactosa\ monohidratada\ (\%) = \frac{(V - Vb) \cdot FC \cdot 0,00720}{10} \cdot 100$$

V=Volumen de Tiosulfato utilizado en el ensayo

Vb=Volumen de tiosulfato utilizado en el ensayo en blanco

FC=Factor de conversión: 0,992 para leche entera y 0,996 para leche desnatada

La aplicación de este factor 0,992 a todas las leches enteras no ocasiona ningún error sensible; sin embargo, si el método se aplica a la leche desnatada, debe utilizarse 0,996 como factor de corrección.

La diferencia máxima en tres determinaciones repetidas no debe sobrepasar de 0,05% de lactosa.

Observaciones

La solución de tiosulfato se debe normalizar periódicamente, por ejemplo, por valoración de 10 ml de Potasio Yodato 0,04N, a los que se habrá añadido 5 ml de solución de Potasio Yoduro PA-ISO y 5 ml de la solución de Acido Clorhídrico 2 mol/l (2N) SV.

La concentración de la solución de tiosulfato ha sido elegida de tal forma que la lectura en bureta sea de 2 a 3,5 ml para la mayor parte de las muestras de leche y de 9,5 a 9,7 ml para los ensayos en blanco.

Cuando se proceda a una serie de análisis se deben preparar los filtrados y los ensayos en blanco hasta la adición de potasio yoduro inclusive. Finalmente se añade rápidamente la solución de cloramina T a cada matraz y se anota la hora. Después de una hora y media (se admite una tolerancia de una hora veinte minutos a una hora cuarenta minutos) se añade el ácido clorhídrico en todos los matraces y siguiendo el mismo orden. Así se paraliza la reacción y los matraces se pueden valorar por turno.

i) Validación estadística de los métodos

➤ Composición química

Para validar las técnicas analíticas generales se ha sometido a las muestras en réplicas de diez a un análisis estadístico, mediante el cálculo de la media, desviación estándar y coeficiente de variación (tabla 13). Si el coeficiente de variación es menor o igual al 10% se considera que el método está siendo aplicado correctamente.

TABLA 13. Análisis estadístico de las muestras de leches fermentadas

Componente	N	Muestras de LF		
		X	$\Sigma n-1$	C.V.
Grasa (g/100 g)	10	2,98	0,15	5,03
Proteínas (g/100 g)	10	4,25	0,08	1,88
E. Seco (g/100 g)	10	11,67	0,24	2,05
Cenizas (g/100 g)	10	0,65	0,02	3,07
Acidez (g/100 ml)	10	1,21	0,01	0,82

➤ **Método de la cloramina T**

Para dicha validación, se siguió el procedimiento estándar para este tipo de análisis (recomendado por la empresa suministradora del test) y en el caso de la lactosa, además se contrastó su validación con el método de la cloramina T (FIL 28/1974), oficial en España y ampliamente utilizado en el sector lácteo.

3.2. METODOS ENZIMATICOS

a) Lactosa y galactosa

Referencia: Beutler (1988).

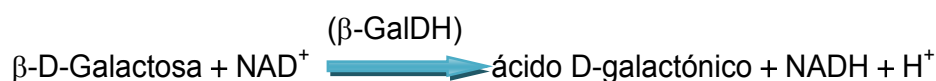
Fundamento: La lactosa es hidrolizada a D-glucosa y D-galactosa, por acción de la enzima β -galactosidasa a pH 5.



Interconversión de las formas α - y β - de D-galactosa es catalizada por la galactosa mutarotasa (Gal M).



La β -D-galactosa es oxidada por NAD^+ a Ácido D-galactónico en presencia de β -galactosa deshidrogenasa (β -GalDH) a pH 8,6.



La cantidad de NADH formado en esta reacción es estequiométrica con la cantidad de lactosa. Es el NADH el que se mide por el aumento de la absorbancia a 340 nm.

Especificidad, sensibilidad, linealidad y precisión

Los análisis son específicos para la lactosa y D-galactosa. La más pequeña diferencia de absorbancia para el ensayo es 0,010 unidades de absorbancia. Esto corresponde a 1,48 mg de lactosa (ó 0,74 mg de D-galactosa)/L de solución de muestra en el máximo volumen de muestra de 1,00 ml. El límite de detección es 2,96 mg de lactosa/L.

El ensayo es lineal en el rango de 4 a 80 microgramos de D-galactosa (u 8 a 160 microgramos de lactosa) por ensayo. Si la muestra se diluye durante la preparación de la muestra, el resultado se multiplica por el factor de dilución, F.

Interferencia

Si la conversión de D-galactosa se ha completado dentro de 10 min a temperatura ambiente, en general se puede concluir que no ha habido interferencias. Sin embargo, esto puede ser comprobado mediante la adición de D-galactosa (aproximadamente 40 microgramos en 0,1 ml) a la cubeta en la finalización de la reacción. Debe observarse un aumento significativo de la absorbancia.

Las sustancias que interfieren en la muestra, pueden ser identificadas mediante la inclusión de un patrón interno. Pérdidas en la manipulación y extracción de muestras se identifican mediante la realización de experimentos de recuperación es decir, mediante la adición de lactosa o D-galactosa a la muestra en las primeras etapas de extracción.

KITS:

Kits disponible para 115 ensayos.

- Bote 1: Buffer acetato de sodio (2,5 ml, 2 M, pH 5,0). Estable por más de 2 años a 4°C.
- Bote 2: Buffer Tris/HCl (25 ml, 2 M, pH 8,6) más EDTA (40 mM) conservante (0,02 % w/v) como conservante. Estable durante más de 2 años a 4°C.
- Bote 3: NAD⁺ (96 mg). Estable por más de 5 años a -20°C.
- Bote 4: Suspensión β-Galactosidasa (1,2 ml, 4000 U/ml). Estable durante más de 4 años a 4°C.
- Bote 5: β-Galactosa deshidrogenasa (200 U /ml) más suspensión g alactosa mutarotasa (4,1 mg/ml), 2,4 ml. Estable durante más de 2 años a 4°C.
- Bote 6: Solución estándar D-Galactosa (5 ml, 0,4 mg/ml en 0,02 % w/v conservante). Estable durante más de 2 años a 4°C.

Preparación de los reactivos

1. Diluir el contenido del bote 1 hasta 24 ml de agua destilada. Utilice ésta solución para diluir todo el contenido del bote 4. Utilizar inmediatamente.
2. Utilizar el contenido del bote 2, tal como se suministra. Estable durante más de 2 años a 4°C.
3. Disolver el contenido del bote 3 con 12 ml de agua destilada. Dividir en alícuotas del tamaño apropiado y almacenar en tubos de polipropileno a -20°. Estable durante más de 2 años a -20°C.
4. Transferir el contenido del frasco 4 (1,2 ml) a los 24 ml de tampón diluido en la botella 1 (~0,2 M de tampón acetato de sodio, pH 5,0). Dividir en alícuotas del tamaño apropiado y almacenar en contenedores de polipropileno a -20°C. Estable más de 2 años a -20°C.
5. Utilizar el contenido del bote 5 tal y como se suministra. Antes de abrir por primera vez, agitar el bote para eliminar cualquier proteína que se haya asentado en el tapón de goma. Posteriormente, almacenar la botella en posición vertical. Estable durante más de 2 años a 4°C.

6. Utilizar el bote 6 tal y como se suministra. Estable durante más de 2 años a 4°C.

Condiciones de ensayo

- Longitud de onda: 340 nm (NADH)
- Cubetas de plástico o vidrio: 1,00 cm de espesor
- Temperatura: 20 - 25°C
- Volumen de ensayo: 2,72 ml
- Solución muestra: 4 - 80 microgramos de D-galactosa (u 8 - 160 microgramos de lactosa) por cubeta.

Preparación de las muestras

Pesar aprox. 1g de muestra en un matraz aforado de 100 ml, añadir aprox. 60 ml de agua destilada, mezclar y al macerar a 50°C durante 15 min. con a gitación ocasional. Añadir 2 ml de solución de Carrez I y mezclar. Añadir 2 ml de solución de Carrez II y mezclar. Añadir 4 ml de solución de NaOH 0,1 N y mezclar vigorosamente. Diluir el volumen con agua destilada y homogeneizar. Filtrar, desechar los primeros ml de filtrado.

TABLA 14. Ensayo para la determinación de lactosa y galactosa

	LACTOSA		D-GALACTOSA	
	Blanco	Muestra	Blanco	Muestra
Muestra	-	0,20 ml	-	020 ml
Solución 4 (B-galactosidasa)	0,20 ml	0,20 ml	-	-
Asegurar que todas las soluciones caen a la parte inferior de la cubeta. Mezclar el contenido suavemente, tapar e incubar durante 10 min a aproximadamente 25°C. Añadir:				
Agua destilada	2,20 ml	2,00 ml	2,40 ml	2,20 ml
Solución 2 (Tris/EDTA buffer)	0,20 ml	0,20 ml	0,20 ml	0,20 ml
Solución 3 (NAD⁺)	0,10 ml	0,10 ml	0,10 ml	0,10 ml
*Mezclar, leer las absorbancias de las soluciones (A ₁), después de aprox. 3 min y empezar la reacción por adición de:				
Suspensión 5 (b-GalDH/GalM)	0,02 ml	0,02 ml	0,02 ml	0,02 ml
*Mezclar, leer la absorbancia de las soluciones (A ₂) en el final de la reacción (<5 min.) Si la reacción no se ha detenido, después de 6 min, continúe leyendo la absorbancia a intervalos de 1 min hasta que las absorbancias se establezcan**.				

* Por ejemplo, con una espátula de plástico o por inversión suave después de cerrar la cubeta con la tapa de una cubeta o parafilm.

** Si la absorbancia A_2 aumenta constantemente, extrapolar la absorbancia al momento de la adición de 5 (β -GalDH/GalM).

Cálculos:

Determinar los incrementos de la absorbancia (A_2-A_1) para el blanco y las muestras.

Restar las diferencias del blanco a las de las muestras: ΔA .

Determinación de D-galactosa:

$$\Delta A_{D\text{-galactosa}} = (A_2-A_1) \text{ muestra galactosa} - (A_2-A_1) \text{ blanco galactosa.}$$

Determinación de lactosa + D-galactosa:

$$\Delta A_{\text{lactosa} + D\text{-galactosa}} = (A_2-A_1) \text{ muestra de lactosa} - (A_2-A_1) \text{ blanco de lactosa.}$$

Determinación de lactosa:

$$\Delta A_{\text{lactosa}} = \Delta A_{\text{lactosa} + D\text{-galactosa}} - \Delta A_{D\text{-galactosa}}$$

La concentración de D-galactosa y lactosa puede calcularse:

$$C = \frac{V \times P_m}{\epsilon \times d \times v} \Delta A \text{ (g/L)}$$

Donde:

V = volumen final [ml]

Pm = Peso molecular de la sustancia de ensayo [g/mol]

e = coeficiente de extinción del NADH a 340 nm = 6300 [l x mol⁻¹ x cm⁻¹]

d = distancia [cm]

v = volumen de muestra [ml]

Para D-galactosa:

$$C = \frac{2,72 \times 180,16}{6300 \times 1 \times 0,2} \times \Delta A_{D\text{-galactosa}} \text{ (g/L)}$$

$$C = 0,3889 \times \Delta A_{D\text{-galactosa}} \text{ (g/L)}$$

Para lactosa:

$$C = \frac{2,72 \times 342,3}{6300 \times 1 \times 0,2} \times \Delta A_{\text{lactosa}} \text{ (g/L)}$$

$$C = 0,7389 \times \Delta A_{\text{lactosa}} \text{ [g/L]}$$

Si la muestra ha sido diluida multiplicar por el factor de dilución, F.

Para pasar a porcentaje:

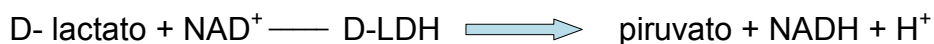
$$\text{Contenido de D-galactosa} = \frac{C_{D\text{-galactosa}} \text{ [g/L solución muestra]}}{\text{Peso}_{\text{muestra}} \text{ [g/L solución muestra]}} \times 100 \text{ [g/100 g]}$$

$$\text{Contenido de lactosa} = \frac{C_{\text{lactosa}} \text{ [g/L solución muestra]}}{\text{Peso}_{\text{muestra}} \text{ [g/L solución muestra]}} \times 100 \text{ [g/100 g]}$$

b) Ácido láctico

Referencia: método enzimático ENZYTEC[®] Scil Diagnostics

Fundamento: Se determina el ácido D⁻ y L⁻ láctico por el método enzimático ENZYTEC[®] Scil Diagnostics para la medida del NADH a partir de la actuación de D-lactato deshidrogenasa, L-lactato deshidrogenasa y L-alanina aminotransferasa.



Condiciones de Ensayo

- Longitud de onda: 340 nm (NADH)
- Cubetas de plástico o vidrio: + 1,00 cm de espesor.
- Temperatura: 20 a +25°C
- Volumen de ensayo (cuando el contenido de D-lactato sea menor que el de L-lactato): 2,240 ml (ácido D-láctico).
2,260 ml (ácido L-láctico).
- Solución muestra: 0,3 a 30µg ácido D -láctico + ácido L-láctico en 0,100 a 1,000 ml de solución muestra.

Reactivos

- # 1: 34 ml de solución buffer de glicilglicina, pH aprox. 10,0; 490 mg ácido L-glutámico.
- # 2: NAD liofilizado, aprox. 250 mg. Disolver el contenido de la botella #2 con 7 ml de agua bidestilada.
- # 3: aprox. 0,7 ml de solución de D-lactato deshidrogenasa (aprox. 3800 U) en glicerol.
- # 4: 0,7 ml de solución L-lactato deshidrogenasa (aprox. 3800 U) en glicerol.

Preparación de la muestra

Clarificar las muestras que contiene proteínas con el reactivo Carrez: pesa suficiente cantidad de muestra solida o en pasta en un frasco volumétrico de 100 ml, agregar aprox. 60 ml de agua; o pipetear la muestra liquida en un frasco volumétrico de 100 ml conteniendo aproximadamente 60 ml agua. Agregar 5 ml de solución Carrez I (agitando luego de cada adición), 5 ml de solución Carrez II. Ajustar el pH a 7,5 a 8,5 mediante la adición de 10 ml NaOH. Llenar el matraz hasta el enrase, mezclar y filtrar.

TABLA 15. Ensayo para la determinación de ácido láctico

Pipetear en las cubetas	Blanco lactosa	Ensayo estándar ¹	Muestras ²	Ensayo ³	Ensayo con estándar interno ⁴	Ensayo de alta sensibilidad ⁵
#1: Buffer glicinglicine	1,000 ml	1,000 ml	1,000 ml	1,000 ml	1,000 ml	1,000 ml
#2. Solución de NAD	0,200 ml	0,200 ml	0,200 ml	0,200 ml	0,200 ml	0,200 ml
#3: Suspensión GPT	0,020 ml	0,020 ml	0,020 ml	0,020 ml	0,020 ml	0,020 ml
Solución muestra (ej. 0,02 a 0,15 g de ácido D-+L-láctico) Agua Redist.	-	-	0,100 ml	0,200 ml	0,100 ml	1,000 ml
Solución estándar (ej: 0,15 g de ácido D-L- láctico/l)	1,000 ml	0,900 ml	0,900 ml	0,800 ml	0,800 ml	-
Mezclar 5 min y leer absorbancia (A ₁).						
#4 D: D-LDH solución	0,020 ml	0,020 ml	0,020 ml	0,020 ml	0,020 ml	0,020 ml
Mezclar, luego de completar la reacción (aprox. 30 min) y leer absorbancia del blanco y las otras muestras, inmediatamente una tras de otra (A ₂). Agregar:						
#4 L: L-LDH solución	0,020 ml	0,020 ml	0,020 ml	0,020 ml	0,020 ml	0,020 ml
Mezclar, luego de completar la reacción (aprox. 30 min) y leer absorbancia del blanco y las otras muestras, inmediatamente una tras de otra (A ₃)						

Cálculos

ΔA ácido D-láctico = (A₂ – A₁) muestra, respecto al estándar – (A₂ – A₁) blanco

ΔA ácido L-láctico = (A₃ – A₂) muestra, respecto estándar – (A₃ – A₂) blanco

$C = (V \times MW \times \Delta A) / (\epsilon \times v \times 1000)$ [g ácido D- /L-láctico/l solución muestra]

$C = 0,3204 \times \Delta A$ [g de ácido D-láctico/l solución muestra]

$C = 0,3232 \times \Delta A$ [g de ácido L-láctico/l solución muestra]

Validación analítica

Para dicha validación, se siguió el procedimiento estándar para este tipo de análisis (recomendado por la empresa suministradora del test).

TABLA 16. Validación analítica de las muestras analizadas

	N	Media (g/100g)	Recuperación (%)
Standard (0,1500 g/100g)	3	0,1496	99,7
Muestra	3	0,1280	
Standard Interno (Estándar + Muestra) 0,1388 g	3	0,1384	99,7

c) Acetaldehído

Referencia: método enzimático Biochemical Enterprise BEN[®].

Fundamento: El acetaldehído cambia a ácido acético por acción de la aldehído deshidrogenasa en presencia de NAD.

La intensidad UV es proporcional al acetaldehído de la muestra.

Reactivos

- 1) Solución buffer lista para su uso.
- 2) Solución 2.
- 3) Solución estándar.
- 4) Diluyente para el reactivo 3.

Preparación del reactivo de trabajo:

- Disolver el reactivo 2 con 20 ml de reactivo 1 y mezclar hasta la disolución.

- Preparar viales con las cantidades de reactivo necesarias para cada vez y congelarlas una sola vez a -20°C para que no se estropeen.

Preparación del estándar

- Disolver un vial de reactivo 3 con 0,5 ml de reactivo 4 y mezclar hasta disolución
- Preparar viales con las cantidades de reactivo necesarias para cada vez y congelarlas una sola vez a -20°C para que no se estropeen.

Estabilidad

- El reactivo 2 es estable durante 7 días entre 2 y 8°C y el reactivo 3 es estable 1 día entre 2 y 8°C . Ambos mantienen sus propiedades durante 30 días congelados a -20°C .

Muestra

Pesar 80 gr de muestra en un matraz aforado de 100 ml, añadir 8 ml de ácido cítrico al 20% y llenar el matraz con agua destilada hasta el enrase.

Filtrar el contenido desechando las primeras gotas del filtrado.

Condiciones de Ensayo

- Longitud de onda: 340 nm (334 – 365 nm)
- Cubetas de plástico o vidrio: 1 cm de espesor.
- Temperatura: 37°C
- Método: punto final
- Tiempo de reacción: 5 minutos

Procedimiento

R/B: Blanco

S: Muestra

TABLA 17. Ensayo para la determinación de acetaldehído de las muestras analizadas.

	Blanco (R/B)	Muestra (S)
Reactivo de trabajo	1000 µl	1000 µl
Agua destilada	50 µl	---
Muestra	---	50 µl
Mezclar e incubar 3 minutos a 37°C. Medir la absorbancia AS ₁ y AR/B ₁		
Dilución Starter	25 µl	25 µl
Mezclar cuidadosamente, incubar a 37°C y esperar al final de la reacción (5 minutos). Medir absorbancia AS ₂ y AR/B ₂ .		
Calcular para la muestra AS = (AS ₂ – AS ₁)		
Calcular para el blanco AR/B: (AR/B ₂ -AR/B ₁)		

Cálculos

Calcular la diferencia $\Delta A = AS - AR/B$

Concentración de acetaldehído (g/l) = $V/v \times 1/\epsilon d \times PM/1000 \times \Delta A$

V= Volumen total del test = 1,075 ml

v = volumen de muestra = 0,050 ml

d = 1 cm

c = coeficiente molar del NA = 6,3 L/mmol x cm

PM = PM Acetaldehído = 44,05

Concentración de acetaldehído C (g/L) = 0,150 x ΔA

TABLA 18. Comparación de resultados obtenidos por el método de la cloramina T y el método enzimático

COMPARACION DE METODOS						
	Método Cloramina T			Método Enzimático		
	n	Media		n	Media	Variación
		(g/100 ml)	(g/100 g)		(g/100 g)	(g/100 g)
Marca 1	3	4,38	4,26	3	3,90	-0,36
Marca 2	3	5,32	5,17	3	5.00	-0,17
VALIDACION ANALITICA						
	n	Media (g/100g)	Recuperación (%)	n	Media (g/100g)	Recuperación (%)
Standard (4g/100g)	3	3,89	97,3		3,98	99,5
Standard Interno (Estándar + Muestra) 0,439 g		-----		3	0,453	103,2

3.3. MINERALES

Actualmente, de la totalidad de técnicas analíticas disponibles, la espectrometría de absorción atómica (EAA) en sus diferentes modalidades de atomización está reconocida como una de las más adecuadas por su sensibilidad, rapidez, exactitud y precisión, para analizar los elementos traza (Caurant, 1994). Sin embargo, la detección y cuantificación de los elementos en cantidades traza es muy delicada por los riesgos de contaminación o de pérdida existentes tanto durante el pretratamiento de la muestra, como durante el propio análisis (Navarro, 1991). Por estos motivos, el analista debe esforzarse en minimizar los errores a todos los niveles y asegurarse de la calidad de sus determinaciones con el uso de controles internos (muestras de referencia) y externos (ejercicios de calibración interlaboratorios). Por otro lado, en el propio laboratorio de análisis también deben realizarse controles de carácter periódico en días diferentes, para comprobar si se

producen o no se producen cambios en las medidas de las características analíticas del método.

3.3.1. Material

a) Aparatos

- Sistema Milli-Q de obtención de agua de grado reactivo Waters, mod. R 015 (Waters, Medford, USA).
- Bloque de mineralización con control de temperatura/tiempo *Multiplaces Selecta* (Rotaterm, J.P. Selecta, Barcelona).
- Balanza de precisión Mettler AE-200.
- Espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer 1100 B equipado con un generador de Hidruros Perkin-Elmer mod. MHS-10 (Germany) y con una unidad de Horno de Grafito HGA-700 con corrector de fondo continuo de deuterio.
- Campana de gases Burdinola.
- Lámpara de cátodo hueco de Zn Perkin Elmer.
- Lámpara de cátodo hueco de Se, Perkin-Elmer.
- Lámpara de cátodo hueco multielemental de Mn, Cu y Cr, Perkin Elmer.
- Lámpara de cátodo hueco multielemental de Ca y Mg, Perkin Elmer.
- Balanza de precisión.
- Cápsulas de cuarzo de unos 55 mm de diámetro, provistas de vidrios de reloj.
- Baño maría.
- Pipetas de 1, 2, 5 y 10 ml de volumen.
- Matraces aforados con tapón esmerilado de 25, 100 y 1000 ml de volumen.
- Estufa regulada a 105°C.
- Espectrofotómetro S-22 UV/Vis, BOECO Germany.
- Cubeta de cuarzo.

b) Material

- Material de vidrio de calidad contrastada.
- Tubos de polietileno cristalino, provistos de cierre hermético.
- Recipientes de polietileno.
- Guantes desechables.
- Dosificador de pipetas *Probel* de 1 a 5 ml.
- Dosificador de pipetas *Probel* de 5 a 25 ml.

Todo el material empleado se lava previamente varias veces con agua destilada, manteniéndose a continuación en una disolución de ácido nítrico al 30% durante 24 horas. Seguidamente se enjuaga abundantemente con agua desionizada y se seca a temperatura ambiente en el caso del material aforado o de polietileno, o bien en estufa a 90-100°C. Finalmente hasta el momento de su utilización, se almacena en lugar limpio, seco y apartado de posibles contaminaciones (Jiménez y cols., 1984; Laserna, 1985).

El agua empleada, que debe tener una resistividad inferior a 18 M Ω /cm, debe estar constantemente monitorizada. En todo momento se deben usar guantes desechables (Savory y Wills, 1992).

3.3.2. Reactivos y disoluciones

a) Reactivos

Todos los reactivos utilizados han sido de calidad analítica:

- Agua bidestilada-desionizada, obtenida según sistema Milli-Q.
- Ácido nítrico 65% (v/v) Merck Suprapure, P.A., ISO (E. Merck, Darmstadt, Germany).
- Ácido perclórico 65% (v/v) Merck Suprapure, P.A., ISO (E. Merck, Darmstadt, Germany).

- Disolución HNO₃-HClO₄ (4:1).
- Ácido clorhídrico 37% p/v. Merck.
- Patrón de referencia estándar con un contenido certificado en Cu, Ca, Mg y Zn, y no certificado en Cr *Skim Milk Powder* (Ref. Material 063R, de B.C.R., Bureau Certified Reference of the Commission of the European Communities).
- Patrón de referencia estándar con un contenido certificado en Cu, Ca, Mg, Zn, Se, Mn y Cr *Citrus Leaves* NIST nº 1572.
- Patrón de referencia estándar con un contenido certificado en Cu, Ca, Mg, Zn, Mn, Se y Cr *Mussel Tissue (Mutilus Edulis)* B.C.R. nº 278.
- Ácido clorhídrico (HCl) 1N.
- Solución de amidol: en un matraz aforado de 100 ml se disolvió 1 g de amidol (2,4-diaminofenol diclorhidrato) y 20 g de metabisulfito sódico completándose con agua Milli-Q hasta aforo y siendo necesario su preparación diaria al tratarse de una solución extemporánea que se degrada perdiendo su funcionalidad en cortos periodos de tiempo.
- Solución de molibdato: se disolvieron 8,3 g de molibdato amónico en agua Milli-Q hasta completar 100 ml.
- Solución acuosa de fosfato monopotásico: su preparación se realizó desecando previamente el reactivo durante dos horas a 105°C. Esta solución permite trazar una curva patrón para la determinación del fósforo.
- Solución A: se disolvieron en agua Milli-Q 4,395 g de KH₂PO₄ completando hasta 1000 ml con agua.
- Solución B: se diluyeron 10 ml de la solución A en 1000 ml de agua Milli-Q; la equivalencia es de 1 ml de la solución B = 10 µg de fósforo.

b) Disoluciones de los minerales

- Disolución estándar de Se de 1000 mg/l (Tritisol, Merck)
- Disolución estándar de Cu de 1000 mg/l (Tritisol, Merck).

- Disolución estándar de Zn de 1000 mg/l (Tritisol, Merck).
- Disolución estándar de Ca de 1000 mg/l (Tritisol, Merck).
- Disolución estándar de Mg de 1000 mg/l (Tritisol, Merck).
- Disolución estándar de P de 1000 mg/l (Tritisol, Merck).
- Disolución estándar de Cr de 1000 mg/l (Tritisol, Merck).
- Disolución estándar de Mn de 1000 mg/l (Tritisol, Merck).

El resto de las disoluciones de estándares se prepararon por dilución a partir de éstas.

3.3.3. Muestras: Se han analizado 75 leches fermentadas, adquiridas en diferentes centros comerciales de la ciudad, más otras elaboradas de forma artesanal. Las muestras estuvieron constituidas por:

- yogures de leche de cabra elaborados de forma artesanal (n= 9).
- leches fermentadas (yogures y ké fires) de cabra, todos las marcas comerciales diferentes, existentes en el mercado (n= 11 marcas comerciales).
- leches fermentadas de vaca (las principales marcas comerciales, incluidos yogures, probióticos, desnatados y griegos) (n= 55 marcas comerciales).
- Leche cruda de cabra (n=31), leche comercial semidesnatada de cabra (n=10) y leche comercial semidesnatada de vaca (n=9).

Todas las muestras se analizaron por triplicado.

La relación de muestras analizadas se incluyó previamente; las características de las mismas se detallan a continuación (Tabla 19):

TABLA 19. Características de las muestras a efectos de su clasificación (factores influyentes)

FACTORES	UNIDADES
Tipo de leche utilizada en la elaboración	1: Cabra 2: Vaca
Contenido Graso	1: Entero: mínimo 2% de grasa láctea. 2: Semidesnatado: más de 0,5% y menos de 2%. 3: Desnatado: máximo 0,5% de grasa láctea. 4: Griegos de alto contenido graso: 8-10%
Bacterias probióticas adicionadas	1: <i>Lactobacillus bulgaricus</i> y <i>Streptococcus termophilus</i> (LB Y ST). 2: Otras bacterias probióticas.
Tipo de producto según el tipo de bacterias adicionadas	1: Yogur (LB y ST) 2: Kéfir 3: Bifidobacterias 4: Otras bacterias probióticas

3.3.4. Métodos

3.3.4.1. Calibración

Al igual que otras técnicas analíticas, la espectroscopia de absorción atómica (EAA) requiere un proceso de calibración.

Para la medida del cobre, magnesio, zinc, manganeso y cromo, y ante la comprobación de la no existencia de interferencias de matriz en todos los tipos de muestras, se empleó el procedimiento de calibración lineal mediante el establecimiento de las correspondientes rectas patrón, resultantes de la correlación de las lecturas de absorbancia obtenidas en el espectrofotómetro con las concentraciones de cada uno de los minerales presentes en las disoluciones estándar.

Del mismo modo se ha comprobado la existencia de interferencias de matriz para la determinación de calcio y selenio en los distintos tipos de muestras (Tabla 20), por lo que se ha empleado el procedimiento de adición de patrones para cada una de ellas. Se ha comprobado que las pendientes de las ecuaciones de la recta correspondientes, eran distintas a la recta de calibración lineal obtenida a partir de las disoluciones estándares de calcio y selenio. Al haberse optimizado un método de determinación conjunto de Ca y Mg, también para este último elemento se empleó el método de adición de patrones.

TABLA 20. Valores de los parámetros de las ecuaciones de las rectas de calibración lineal y de adición calibración para la determinación de los minerales analizados en muestras de leches fermentadas: comparación estadística de las pendientes (Absorbancia: a+b [Elemento])

Elemento	Recta de calibración lineal			Recta de adición calibración			p
	a (ordenada en el origen)	b (pendiente)	R (Relación de pendientes)	a (ordenada en el origen)	b (pendiente)	R (Relación de pendientes)	
Calcio (ppm)	-0,0054	0,06136	1,000	0,0943	0,0936	0,656	<0,05 (SS)
Magnesio (ppm)	0,0014	0,792	1,000	0,0892	0,8040	0,985	>0,05 (NS)
Fósforo (ppm)	0,0140	0,1285	1,000	0,2340	0,1290	0,996	>0,05 (NS)
Selenio (ppb)	0,0008	0,0256	1,000	0,0008	0,0137	1,869	<0,05 (SS)
Zinc (ppm)	-0,0040	0,3287	1,000	0,0439	0,3349	0,980	>0,05 (NS)
Cobre (ppb)	0,0002	0,0605	1,000	0,0013	0,0620	0,980	>0,05 (NS)
Cromo (ppb)	0,0017	0,0064	1,000	0,0244	0,0063	1,020	>0,05 (NS)
Manganeso (ppb)	0,0011	0,1086	1,000	0,0124	0,1103	0,980	>0,05 (NS)

a) Preparación de las rectas de calibrado

La preparación de las rectas de calibrado, para cada uno de los minerales, la hacemos a partir de las disoluciones estándar de 1000 ppm, desde las cuales se preparan por diluciones sucesivas con agua bidestilada las disoluciones de diferente concentración en el mineral utilizadas.

Todas las disoluciones se prepararon en el momento de proceder a la medida. Asimismo, se midieron previamente los correspondientes blancos, que conteniendo todos los reactivos utilizados se sometieron a todo el procedimiento empleado en las muestras.

En este procedimiento de calibración se representa la medida espectrofotométrica de la absorbancia frente a la concentración del analito. En la tabla 21 se recogen las diferentes concentraciones de las disoluciones utilizadas de Cu, Ca, Mg, Se, Zn, Mn, Cr y P para la obtención de las rectas de calibrado.

TABLA 21. Concentraciones de las disoluciones de Ca, Mg, Zn, Se, Cr, Cu, Mn y P utilizadas para la obtención de las rectas de calibrado

Rango de concentraciones de las rectas de calibrado								
Muestras	Ca (ppm)	Mg (ppm)	Se (ppb)	Zn (ppm)	Cr (ppb)	Cu (ppb)	Mn (ppb)	P (ppm)
Leches fermentadas	0,5-4,5	0,05-0,40	0,5-2	0,1-0,7	0,5-5	5-30	2-10	1,2-4

b) Aplicación del método de adición de patrón

Para comprobar el efecto de la matriz sobre las señales correspondientes al calcio, magnesio, fósforo, selenio, cinc, cobre, y cromo se aplicó, según las condiciones señaladas a continuación, el método de adición de patrón.

Para el Se, se tomaron 5 fracciones de aproximadamente 2 gramos de leche fermentada y tras someterlas al procedimiento de mineralización y reducción, se les adicionaron cantidades crecientes de la disolución patrón de Se (100 ppb)

comprendidas entre 1,0 - 4,0 ppb antes de diluir al volumen final y proceder a la determinación del contenido en este elemento mediante la técnica de EAA con atomización por generación de hidruros (GH).

Para el Zn, Mg, Mn, Ca, Cr y Cu, también se tomaron 5 fracciones de 1 gramo aproximadamente de leche fermentada, a las que se les adicionaron cantidades crecientes de las disoluciones patrón de Zn (1 ppm), Mg (1 ppm), Mn (100 ppb), Ca (10 ppm), Cr (100 ppb), y Cu (100 ppb), antes de diluir al volumen final con agua bidestilada, para finalmente proceder a la determinación del contenido mineral mediante las técnicas de espectroscopia de absorción atómica con atomización a la llama (para el Mg, Zn y Ca) y con atomización electrotérmica (para el Mn, Cr y Cu), dependiendo de la concentración presente del mineral analizado. En el caso concreto del calcio, para la eliminación de las interferencias de matriz se empleó un método diferente. A tal efecto se tuvieron en cuenta los resultados de los estudios llevados a cabo por Moreno-Torres y cols. (2000 a y b) en los que se determinó la presencia de interferencias debidas a los fosfatos cuyo efecto se contrarrestó por la adición de cloruro de lantano al 1% como modificador de matriz. Aunque los resultados demostraron la no existencia de diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de Mg con y sin adición de cloruro de lantano, la mayor repetibilidad obtenida al adicionar este modificador en la determinación de dicho elemento, hace aconsejable su adición en la determinación conjunta de Mg con Ca (Moreno-Torres y cols. 2000 a, b).

3.3.4.2. FASE PRE-INSTRUMENTAL

A. Mineralización de las muestras de leches fermentadas para el análisis de Ca, Cr, Cu, Mg, Mn, P y Zn.

Para el Ca, Cr, Cu, Mg, Mn, P y Zn (Figura 10), en balanza de precisión se pesó 1,00 g de leche fermentada en un tubo de poliestileno cristalino. Tras la adición de 3 ml de una disolución de HNO₃-HClO₄ (4:1), se procedió a la mineralización en un bloque de digestión multiplazas termostatzado. Se inició mediante un calentamiento previo a 60°C durante 45 min, para posteriormente elevar la temperatura cada 30 min, 30°C grados adicionales, hasta alcanzar los 120°C en la que se mantuvo otros 45 min

adicionales. La muestra mineralizada obtenida, se diluyó en un matraz aforado de 25 ml con agua Mili-Q, obteniéndose la disolución analítica que se almacenó en la cámara fría hasta el momento de proceder a la determinación de los minerales presentes mediante las técnicas de EAA-llama y EAA-electrotérmica (mediante horno de grafito).

Al mismo tiempo se prepararon los blancos constituidos por todos los reactivos empleados en el proceso a fin de comprobar si hubo contaminación alguna en los reactivos empleados por alguno de los minerales analizados.

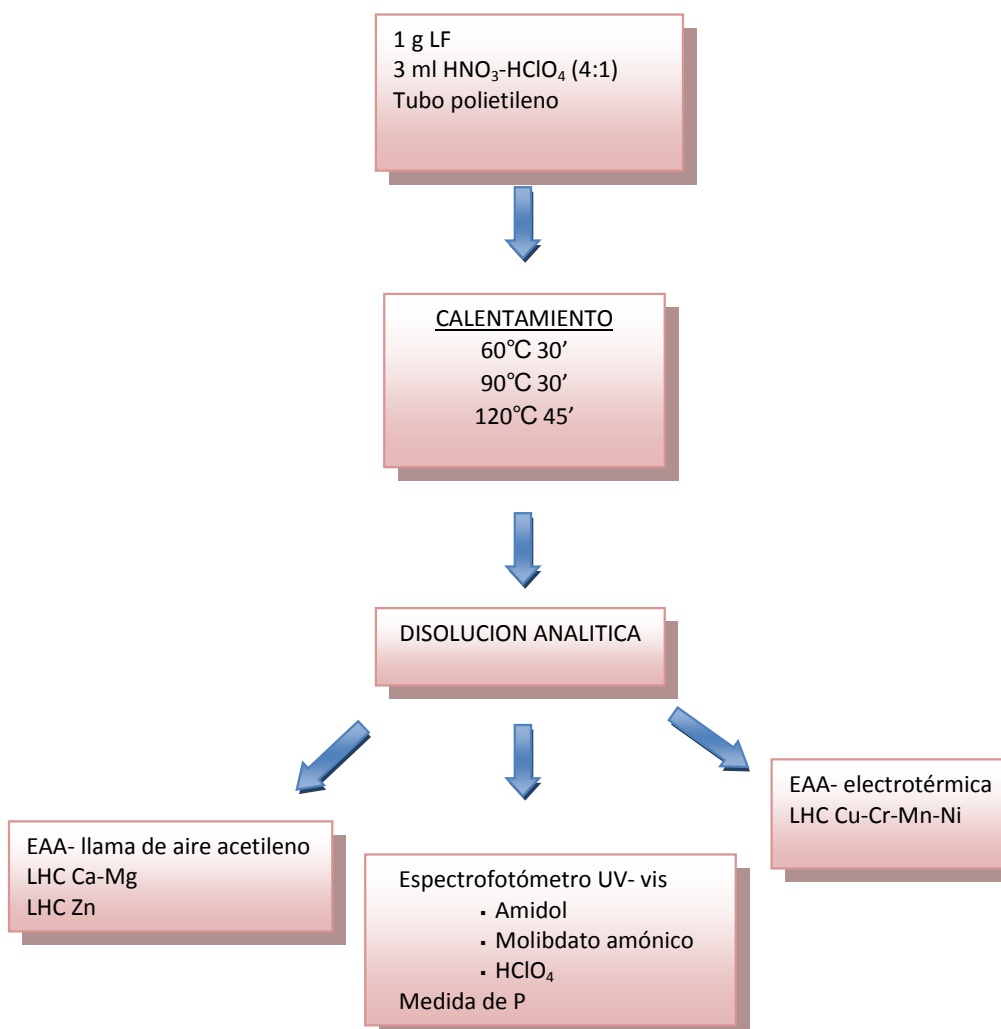
a) Determinación de Ca y Mg

Para la medida del Ca y el Mg se aplicó una dilución 1/2000 en dos pasos. Para ambos minerales en la segunda dilución (segundo paso) se adicionaron 0,100 ml de modificador de matriz constituido por el cloruro de lantano al 1%. En el caso del Ca, como la determinación se realizó por el método de adición de patrones en la segunda dilución (segundo paso), se adicionaron cantidades crecientes de una disolución estándar de Ca de 4 ppm. La disolución finalmente obtenida se dispuso en el espectrofotómetro de absorción atómica para la determinación de las cantidades presentes de este mineral (Tabla 22). En el caso del Mg, la determinación se realizó mediante el método de calibración lineal anteriormente descrito, mediante EAA-llama (Tabla 22).

b) Determinación de Cr

Para la medida del Cr presente en las disoluciones analíticas preparadas por el modelo operatorio anteriormente descrito (figura 10), se inyectaron manualmente en el horno de grafito pirolítico, sin plataforma de L'Vov, del espectrofotómetro, 10 µL de dicha disolución analítica y otros 10 µL del modificador de matriz, constituido por una disolución de nitrato magnésico al 0,5%. Mediante la aplicación del programa tiempo/temperatura previamente optimizado, se determinó el Cr presente por EAA-electrotérmica (Tabla 23). La absorbancia obtenida se correlacionó con la concentración presente en ppb, mediante la técnica de calibración lineal.

FIGURA 10. Modelo operatorio para la determinación de Zn y Cu en muestras de leches fermentadas.



c) Determinación de Cu

Para la medida del Cu presente en las disoluciones analíticas preparadas por el modelo operatorio anteriormente descrito (figura 10), se inyectaron manualmente en el horno de grafito pirólítico, con plataforma de L' Vov, del espectrofotómetro, 20 µL de dicha disolución analítica y otros 20 µL del modificador de matriz, constituido por una disolución de ni trato magnésico al 0,003%. Mediante la aplicación del programa tiempo/temperatura previamente optimizado, se determinó el Cu presente por EAA-

electrotérmica (Tabla 24). La absorbancia obtenida se correlacionó con la concentración presente en ppb, mediante la técnica de calibración lineal.

d) Determinación de Mn

Para la medida del Mn presente en las disoluciones analíticas preparadas por el modelo operatorio anteriormente descrito (Figura 10), se inyectaron manualmente en el horno de grafito pirolítico, sin plataforma de L'Vov, del espectrofotómetro 20 μ L de dicha disolución analítica, no siendo necesario el empleo de modificador de matriz. Mediante la aplicación del programa tiempo/temperatura previamente optimizado, se determinó el Mn presente por EAA-electrotérmica (Tabla 25). La absorbancia obtenida se correlacionó con la concentración presente en ppb, mediante la técnica de calibración lineal.

e) Determinación de P

La espectrofotometría ultravioleta visible (EUV-vis) requiere de un proceso de calibración. Al comprobarse la no existencia de interferencias de matriz, se utilizó un procedimiento de calibración lineal mediante el establecimiento de las correspondientes rectas patrón. Estas rectas son las resultantes de la correlación de las lecturas de absorbancia, obtenidas al realizar las distintas medidas en el espectrofotómetro para concentraciones crecientes de fósforo. Para obtener las diferentes disoluciones se ha empleado como base la solución B, descrita anteriormente en el apartado de reactivos.

La preparación de la recta de calibración se realizó como se detalla a continuación: en cuatro matraces aforados de 25 ml se introdujeron 3, 5, 7 y 10 ml de la solución B. Las cantidades de fósforo así introducidas en los matraces correspondieron a 30, 50, 70 y 100 μ g de fósforo. Posteriormente se añadieron sucesivamente 2 ml de ácido perclórico, 2 ml de la solución de amidol y 1 ml de la solución de molibdato amónico (Figura 10). Finalmente se completó con agua bidestilada hasta el aforo y se mezcló.

Para la preparación del blanco se añadieron tan solo los reactivos y se enrasó con agua bidestilada para realizar finalmente la determinación colorimétrica. Antes de realizar la medida de las densidades ópticas, se esperó 5 minutos, se empleó una cubeta de cuarzo de 1 cm y se ajustó el espectrofotómetro a 750 nm.

Con el fin de obtener la recta de calibrado se correlacionaron los datos de concentración con los de densidad óptica.

f) Determinación de Zn

Para la medida del Zn presente en las disoluciones analíticas preparadas por el modelo operatorio anteriormente descrito (figura 10), se dispuso una alícuota de 1 ml de dicha disolución analítica en un tubo de poliestileno cristalino, para proceder previa aspiración en la llama del espectrofotómetro a la determinación de la cantidad de este elemento presente, mediante la técnica de EEA con atomización a la llama.

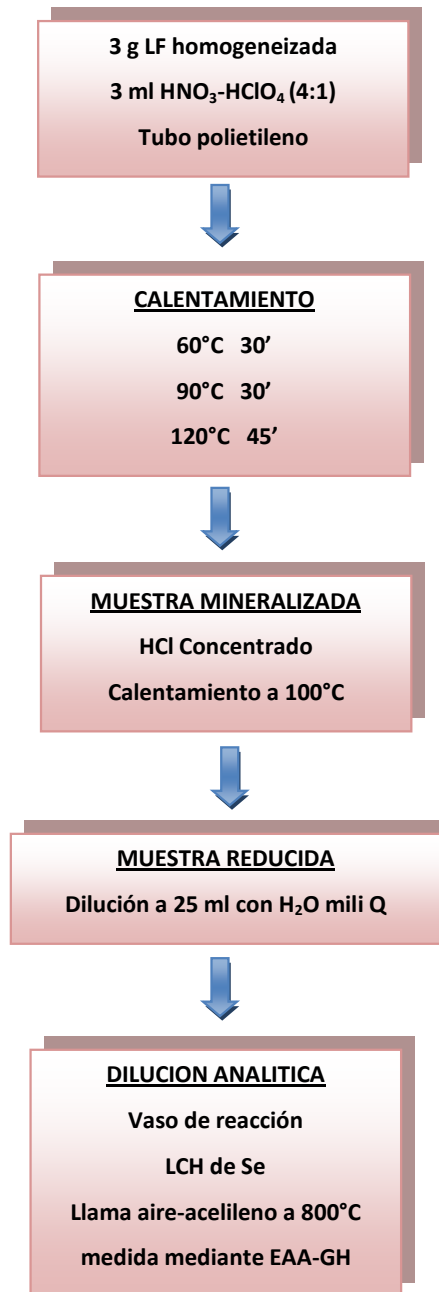
La absorbancia obtenida se correlacionó con la concentración presente en ppm, mediante la técnica de calibración lineal al comprobarse la no existencia de interferencias de matriz.

B. Mineralización de las muestras de leches fermentadas para el análisis de Se.

Para el Se (Figura 11), en balanza de precisión se pesaron 2,00 g de leche fermentada en un tubo de poliestileno cristalino. Tras la adición de 5 ml de una disolución de $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ (4:1), se procedió a la mineralización en un bloque de digestión multiplazas termostático. Se inició mediante un calentamiento previo a 60°C durante 30 min, para posteriormente elevar la temperatura cada 30 minutos, 30°C grados adicionales, hasta alcanzar los 120°C en la que se mantuvo otros 90 min adicionales. La muestra mineralizada obtenida, se redujo mediante la adición de 2 ml de HCl concentrado y calentamiento a 100°C durante 10 min en el bloque de mineralización multiplazas. La muestra reducida se diluyó a 25 ml con agua Milli-Q obteniéndose la disolución analítica que se almacenó en la cámara fría hasta el momento de proceder a la determinación de este elemento, mediante la técnica de EEA por generación de hidruros.

Al mismo tiempo se prepararon los blancos constituidos por todos los reactivos empleados en el proceso a fin de comprobar si hubo contaminación alguna en los reactivos empleados por este elemento.

FIGURA 11. Modelo operatorio empleado para la determinación del contenido en selenio en muestras de leches fermentadas.



a) Determinación de Se

Para la determinación final del contenido en Se en las muestras de leches fermentadas, se dispusieron los 25 ml de la disolución analítica obtenida por el modelo operatorio anterior en el vaso de reacción. Tras la disposición de éste en el sistema de

generación de hidruros del espectrofotómetro, se hizo pasar a través de la disolución analítica el gas portador (argón), el cual, previamente había pasado por el frasco que contenía la disolución reductora constituida por NaBH_4 al 3% (p/v) en NaOH al 1% (p/v). Este reductor facilitó la reducción de Se^{4+} a Se^{2-} para así formar el seleniuro de hidrógeno (H_2Se), el cual, dado su carácter volátil, fue transportado por la misma corriente gaseosa hasta la célula de cuarzo calentada sobre una llama de aire-acetileno a 900°C . Con esta temperatura, se garantiza el aporte de la energía necesaria para romper los enlaces de la molécula (H_2Se) y así liberar el selenio al estado elemental (Se^0), el cual se interpone en el camino de la radiación procedente de la lámpara de cátodo hueco de Se de la que va a absorber una cantidad proporcional a la población atómica existente en la célula de cuarzo, que a su vez es proporcional a la concentración del analito en la muestra problema. Esta absorbancia, se correlaciona con la concentración de selenio en la muestra problema a través del método de adición patrón.

3.3.4.3. FASE INSTRUMENTAL

A. Medida de Ca, Mg, Zn por EAA a la llama, y de Se por EAA-GH

Las condiciones instrumentales de medida se detallan a continuación:

TABLA 22. Condiciones instrumentales de medida de Se, Zn, Ca y Mg

PARÁMETROS	Se	Zn	Ca	Mg
Técnica	EAA-GH	EAA a la llama	EAA a la llama	EAA a la llama
Fuente de radiación: Lámpara de cátodo hueco de:	Se	Zn	Ca-Mg	Ca-Mg
Longitud de onda	196,0 nm	213,9 nm	422,7 nm	285,2 nm
Resolución de rendija	2,0 nm	1,0 nm	0,7 nm	0,7 nm
Intensidad de corriente de lámpara	11 mA	3 mA	10 mA	10 mA
Lectura: Altura de pico (Abs/s)				
Nº de determinaciones por muestra	3	4	4	4
Retraso de aparición de señal	4 s	0,0 s	0,0 s	0,0 s
Tiempo de integración	8 s	1 s	1 s	1 s
Llama: aire-acetileno				
Flujo de aire	11,5 l/min	8,0 l/min	8,0 l/min.	8,0 l/min.
Flujo de acetileno	2,5 l/min	2,5 l/min	2,5 l/min.	2,5 l/min.
Temperatura de atomización	900°C	900°C	900°C	900°C
Reductor	NaBH ₄ al 3% en NaOH 1%	-	-	-

B. Medida de Cr, Cu y Mn por EAA con atomización electrotérmica

Las condiciones instrumentales de medida de Cr, Cu y Mn por EAA-electrotérmica, se detallan en las tablas 24, 25 y 26 respectivamente, descritas a continuación:

TABLA 23. Condiciones instrumentales para la determinación de Cr en muestras de leches fermentadas por espectroscopia de absorción atómica con atomización electrotérmica

Fuente de radiación: lámpara de cátodo hueco de Cr Longitud de onda: 357,9 nm Resolución de rendija: 0,7 nm Intensidad de corriente de la lámpara: 18 mA Tubo: grafito pirolítico sin plataforma Corrector de fondo de deuterio Tiempo de integración: 7 s				
Programa de temperatura-tiempo:				
Etapa	T (°C)	t rampa (s)	t permanencia (s)	Flujo Argón (ml/min)
Secado	100	20	10	300
	150	20	10	300
Mineralización	1650	20	20	300
Atomización	2500	1	5	0
Limpieza	2650	1	2	300
	20	1	2	300
Modificador de matriz: Mg (NO ₃) ₂ al 0,5% Volumen de inyección de muestra: 10 µL Volumen de inyección del modificador: 10 µL Modalidad de lectura: área de pico Línea de calibrado: Abs= 0,0017 + 0,0064 [Cr, ppb] Coeficiente de correlación: 0,9922 Gama de patrones: 0,5-5 ppb Relación pendientes patrones-adición: 1,000-1,016				

TABLA 24. Condiciones instrumentales para la determinación de Cu en muestras de leches fermentadas por espectroscopia de absorción atómica con atomización electrotrémica

Fuente de radiación: lámpara de cátodo hueco de Cu Longitud de onda: 324,8 nm Resolución de rendija: 0,7 nm Intensidad de corriente de la lámpara: 15 mA Tubo: grafito pirolítico sin plataforma Corrector de fondo de deuterio Tiempo de integración: 6 s				
Programa de temperatura-tiempo:				
Etapa	T (°C)	t rampa (s)	t permanencia (s)	Flujo Argón (ml/min)
Secado	110	3	10	300
	150	5	10	300
Mineralización	500	10	10	300
	1150	15	10	300
Atomización	2350	0	5	0
Limpieza	2650	1	3	300
	20	1	5	300
Modificador de matriz: Mg (NO ₃) ₂ al 0,03% Volumen de inyección de muestra: 20 µL Volumen de inyección del modificador: 20 µL Modalidad de lectura: área de pico Línea de calibrado: Abs=0,00002 + 0,0605 [Cu, ppb] Coeficiente de correlación: 0,9997 Gama de patrones: 5-30 ppb Relación pendientes patrones-adición: 0,988-1,029				

TABLA 25. Condiciones instrumentales para la determinación de Mn en muestras de leches fermentadas por espectroscopia de absorción atómica con atomización a la llama

Fuente de radiación: lámpara de cátodo hueco de Mn Longitud de onda: 279,5 nm Resolución de rendija: 0,2 nm Intensidad de corriente de la lámpara: 35 mA Tubo: grafito pirolítico sin plataforma Corrector de fondo de deuterio Tiempo de integración: 6 s				
Programa de temperatura-tiempo:				
Etapa	T (°C)	t' rampa (s)	t' permanencia (s)	Flujo Argón (ml/min)
Secado	110	10	30	300
	150	10	10	300
Mineralización	1000	10	10	300
	1900	1	5	0
Atomización	2650	1	2	300
Limpieza	20	1	2	300
Modificador de matriz: no utilizado Volumen de inyección de muestra: 20 µL Volumen de inyección del modificador: 20 µL Modalidad de lectura: área de pico Línea de calibrado: $Abs=0,0011 + 0,1086 [Mn, ppb]$ Coeficiente de correlación: 0,9996 Gama de patrones: 2-10 ppb Relación pendientes patrones-adición: 0,951-1,049				

C. Medida de P por EUV-vis

Las condiciones instrumentales de medida de P en las muestras de leches fermentadas, se detallan a continuación:

- Paso de luz de cubeta.....1 cm
- Longitud de onda.....750 nm
- Medida frente a blanco de reactivos.

3.3.4.4. Características analíticas del método de determinación de Ca, Cr, Cu, Mg, Mn, P, Se y Zn.

El estudio de las características analíticas permite evaluar la validez de los métodos empleados, y su puesta a punto para la matriz problema. Incluye:

- a) Sensibilidad.
- b) Selectividad.
- c) Límite de detección.
- d) Exactitud.
- e) Precisión.

a) Sensibilidad

Se define como la concentración absoluta del elemento que produce un 1% de absorción y equivale a 0,0044 unidades de absorbancia. Es la denominada “concentración característica” y delimita la zona de trabajo al preparar la línea de calibrado. Se deduce a partir de medidas repetitivas de la absorbancia producida por un patrón de concentración determinada.

Para expresar la sensibilidad como masa característica (m_c), es decir, la masa del analito en nanogramos que genera una señal de 0,0044 unidades basta con aplicar la siguiente fórmula:

$$m_c = \frac{V \times C \times 0,0044}{A}$$

siendo:

V = volumen de la alícuota.

C = concentración de analito en la solución problema.

A = medida de absorbancia obtenida.

Los valores de sensibilidad obtenidos en nuestro estudio se indican en tabla 26.

TABLA 26. Valores de sensibilidad para las determinaciones de Ca, Cr, Cu, Mg, Mn, P, Se y Zn en leches fermentadas.

Elemento	Sensibilidad expresada como m_c
Calcio	46 ng
Cobre	10 pg
Cromo	3 pg
Magnesio	58 ng
Manganeso	0,81 pg
Selenio	2,09 ng
Fósforo	172 ng
Zinc	165 pg

b) Selectividad

La selectividad de los métodos de determinación de Ca, Cr, Cu, Mg, Mn, P, Se y Zn ha sido comprobada mediante el método de adición de patrón (método de adición-calibración) (Tabla 20).

Para la determinación de Ca y Se, las ecuaciones de la recta correspondientes a la adición de estos elementos en las muestras problema y las obtenidas para los patrones en medio acuoso, determinan valores de pendiente al ejeados y estadísticamente diferentes ($p < 0,05$) y por lo tanto la existencia de interferencias de matriz, tanto en el material de referencia como en los distintos tipos de muestras (Tabla 20).

En el caso del Cr, Cu, Mg, Mn, P y Zn, las ecuaciones de la recta correspondientes a la adición de estos elementos en las muestras problema y las obtenidas para los correspondientes patrones en medio acuoso, determinan que los valores de las pendientes son muy próximos y no estadísticamente diferentes entre sí lo que establece la no existencia de interferencias de matriz (Tabla 20).

c) Límite de detección

El concepto de *límite de detección*, fundamentado en el tratamiento estadístico del análisis del blanco o disoluciones de referencia, fue adoptado por la I.U.P.A.C. en 1975 (IUPAC, 1978) y por el ACS en el año 1980 (ACS, 1980).

El límite de detección de un procedimiento analítico se puede definir como la menor concentración C_L , o cantidad q_L , que puede ser detectada en una disolución problema con una seguridad razonable, y se calcula utilizando la expresión:

$$C_L = \frac{K \times S_{BL}}{m}$$

en donde:

m = Sensibilidad analítica o pendiente de la recta de calibrado.

S_{BL} = Desviaciones standard de las medidas de absorbancia de al menos siete disoluciones de referencia preparadas siguiendo el mismo procedimiento analítico.

K = Coeficiente que da la probabilidad de que una medida de la absorbancia sea debida a la presencia del analito en la disolución problema, y no a fluctuaciones del blanco ($A_L > S_{med}(BL) + K \cdot S_{BL}$), siendo A_L la absorbancia límite y $A_{med_{BL}}$ la absorbancia media del blanco. Un valor de $K = 3$ permite un nivel de confianza del 99,86% (Long y Winefordner, 1983).

También se suele usar el concepto de *Límite de cuantificación*, que corresponde a una cantidad superior, de forma que el error debido al ruido de fondo del aparato o técnica sea mínimo; se establece como diez veces la desviación estándar.

Para calcular el límite de detección en las medidas, se prepararon 10 blancos, según el procedimiento recomendado (Long y Winefordner, 1983), y se midieron sus absorbancias (Tabla 27).

TABLA 27. Valores del límite de detección para las determinaciones de Ca, Cr, Cu, Mg, Mn, P, Se y Zn en leches fermentadas.

Elemento	LÍMITE DE DETECCIÓN
Calcio	0,110 ppm
Cobre	147 ppb
Cromo	3 ppb
Magnesio	0,05 ppm
Manganeso	6 ppb
Selenio	0,143 ppb
Fósforo	18 ppb
Zinc	11,6 ppb

d) Estudio de la exactitud del método

La exactitud se define como la proximidad entre el valor obtenido y el valor verdadero. Su cálculo nos permite comprobar que no se producen pérdidas ni contaminaciones durante el proceso seguido. Su determinación se puede llevar a cabo mediante:

d.1) El empleo de patrones con contenidos de analitos (Ca, Cr, Cu, Mg, Mn, P, Se y Zn) certificados por estudios de calibración interlaboratorios.

d.2) Estudios del porcentaje de recuperación de muestras, tras la adición de cantidades conocidas del elemento a determinar desde una disolución patrón de Ca, Cr, Cu, Mg, Mn, P, Se o de Zn, a varias fracciones iguales de una misma muestra y posterior sometimiento al procedimiento analítico completo. De esta forma, las cantidades de Ca, Cr, Cu, Mg, Mn, P, Se o de Zn determinadas en las muestras adicionadas se comparan con los valores resultantes de la suma de los niveles medios de Ca, Cr, Cu, Mg, Mn, P, Se o de Zn en la muestra sin adicionar y de las cantidades absolutas añadidas. Así pues:

$$\% \text{ Recuperación} = (A/B) \times 100$$

en donde:

A = cantidad (mg o μg) del elemento determinada en las muestras adicionadas con analito a partir de una disolución patrón de éste.

B = cantidad (mg o μg) del elemento presente correspondiente al contenido de las muestras más la cantidad adicionada.

d.3) La comparación de métodos, que es una herramienta para la investigación de la exactitud, donde los análisis de muestras independientes se comparan entre un método y otro considerado de referencia (Poppe y Baklok, 1989).

d.1) Contraste con un patrón certificado

En el presente trabajo se han realizado estudios con los tres materiales de referencia, certificados en Ca, Cr, Cu, Mg, Mn, P, Se y Zn anteriormente indicados.

Para ello, se pesaron 10 fracciones de 300 μg , de los estándares certificados y se sometieron a los procedimientos analíticos de mineralización y determinación de Ca, Cr, Cu, Mg, Mn, P, Se y Zn. El valor medio así obtenido, para cada determinación, se comparó con el correspondiente valor certificado (Tabla 28).

TABLA 28. Evaluación de la exactitud del método mediante el empleo de diversos patrones certificados para la determinación de Ca, Cr, Cu, Mg, Mn, P, Se y Zn en leches fermentadas

ELEMENTO	MATERIAL DE REFERENCIA			Citrus Leaves N.I.S.T. 1572
	Skim Milk Powder B.C.R. 063 R	Mussel Tissue B.C.R. 278 R	Bovine Liver B.C.R. 278 R	
CALCIO (mg/g)				
Determinado	13,21 ± 0,15	1,14 ± 0,05		
Certificado	13,49 ± 0,10	1,07 ± 0,04		
CROMO (µg/g)				
Determinado	-	0,80 ± 0,08	0,90 ± 0,15	
Certificado	-	0,78 ± 0,06	0,80 ± 0,020	
COBRE (µg/g)				
Determinado	0,57 ± 0,07	9,26 ± 0,26	290 ± 15	16,38 ± 0,55
Certificado	0,60 ± 0,02	9,60 ± 0,16	277 ± 5	16,50 ± 1,00
MAGNESIO (mg/g)				
Determinado	1,35 ± 0,12			5,34 ± 0,25
Certificado	1,26 ± 0,02			5,80 ± 0,30
MANGANESO (µg/g)				
Determinado	-	8,05 ± 0,51	10,44 ± 0,56	-
Certificado	-	7,69 ± 0,23	11,07 ± 0,29	-
FÓSFORO (µg/g)				
Determinado	1,101 ± 0,021	-	-	-
Certificado	1,110 ± 0,013	-	-	-
SELENIO (µg/g)				
Determinado	-	1,62 ± 0,12	-	0,0289
Certificado	-	1,66 ± 0,40	-	0,0250*
ZINC (µg/g)				
Determinado	48,50 ± 2,32	-	-	136,63 ± 2,90
Certificado	49,0 ± 0,60	-	-	138,60 ± 2,10

* Contenido no certificado

d.2) Cálculo del porcentaje de recuperación

Para su realización se eligieron al azar dos muestras para cada uno de los minerales. Se les adicionaron cantidades crecientes de los elementos desde las soluciones patrón de trabajo y se sometieron al procedimiento analítico empleado. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 29.

TABLA 29. Porcentaje de recuperación obtenidos en la determinación de Ca, Cr, Cu, Mg, Mn, P, Se y Zn en dos muestras de leches fermentadas por los procedimientos analíticos empleados

Elemento	% Recuperación media \pm DE	Elemento	% Recuperación media \pm DE
Ca	100,49 \pm 1,06	Mn	100,03 \pm 1,55
Cr	99,96 \pm 1,77	P	100,67 \pm 2,09
Cu	100,06 \pm 3,50	Se	99,08 \pm 2,40
Mg	100,09 \pm 0,87	Zn	100,35 \pm 0,75

e) Estudio de precisión del método

El término precisión hace referencia al grado de convergencia de los resultados generados por el método analítico. En él se incluyen los conceptos de repetibilidad o precisión intralaboratorio, referida a la precisión cuando se realizan repeticiones en idénticas condiciones, y el de reproducibilidad o precisión interlaboratorio, si las repeticiones lo son en condiciones diferentes. Por lo tanto, la mayor concordancia entre determinaciones repetidas sobre una misma muestra evitará la posibilidad de errores aleatorios.

Para evaluar la repetibilidad o precisión intralaboratorio, se eligieron al azar 2 muestras de cada grupo y se efectuaron 10 preparaciones con 1 g de cada una de ellas. Todas ellas fueron sometidas al procedimiento de mineralización y a los procedimientos de medida descritos para el Ca, Cr, Cu, Mg, Mn, P, Se y Zn.

Los datos obtenidos en cada serie de observaciones han sido sometidos a un tratamiento estadístico (Reyes Castañeda, 1980; Martín y Luna, 1989), a fin de establecer la media (X_m) y la desviación estándar (S) correspondiente a cada una de las muestras y para cada una de las determinaciones realizadas.

De esta forma se pudo calcular el coeficiente de variación (CV) o desviación estándar relativa (RSD) y el intervalo del 95% de confianza, que expresa que el verdadero valor medio con un 95% de probabilidad se encontrará comprendido entre sus límites.

Se calculó también la desviación estándar media (S_m), y a partir de ella, el correspondiente error relativo (E.R.), mediante las siguientes expresiones matemáticas:

Desviación estándar media:

$$S_m = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

Coeficiente de variación:

$$C.V. = \frac{S}{X_m} \times 100$$

Error relativo:

$$E.R. = \frac{S_m \times t}{X_m} \times 100$$

El E.R. y el C.V., como medidas de dispersión, dan idea de la distribución de los datos de un análisis. Para un intervalo del 95% de confianza ($p=0,05$), el valor verdadero medio con un 95% de probabilidad se encontrará entre los límites:

$$X_m \pm S_m \cdot t$$

Para $n = 10$

y $\alpha = 0,05$

el coeficiente “t” (Student) tiene un valor de 2,262.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio para las 10 medidas efectuadas en las diferentes muestras elegidas, se indican para los elementos estudiados en la tabla 30.

TABLA 30. Cálculo de la repetibilidad del método en la determinación de Ca, Cr, Cu, Mg, Mn, P, Se y Zn en dos muestras de leches fermentadas.

ELEMENTO	MUESTRA 1		MUESTRA 2	
	X ± D.E.	C.V.	X ± D.E.	C.V.
Ca (ppm)	1,886 ± 0.035	1,86	1,544 ± 0,038	2,46
Cr (ppb)	26,7 ± 1,27	4,76	19,5 ± 1,55	7,95
Cu (ppm)	0,508 ± 0,035	6,89	0,403 ± 0,039	9,67
Mg (ppm)	83,4 ± 3,25	3,90	124,7 ± 3,01	2,41
Mn (ppb)	50,35 ± 3,37	6,69	103,28 ± 6,53	6,32
P (ppm)	1183,5 ± 39,6	3,35	968,1 ± 45,6	4,71
Se (ppm)	132,8 ± 0,060	6,05	23,6 ± 1,92	8,14
Zn (ppm)	4,63 ± 0,29	6,27	7,86 ± 0,35	4,45

3.4. ÁCIDOS GRASOS

3.3.1. Muestras

Se han analizado 64 leches fermentadas, adquiridas en diferentes centros comerciales de la ciudad. Las muestras estuvieron constituidas por:

- Yogures de leche de cabra elaborados de forma artesanal (n=9).
- Leches fermentadas (yogures y kéfires) de cabra, todos los existentes en el mercado (n=10 marcas comerciales).
- Leches fermentadas de vaca (las principales marcas comerciales, incluidos yogures, probióticos y griegos) (n=45 marcas comerciales).

Todas las muestras se analizaron 3 veces por triplicado.

3.3.2. Métodos analíticos

A. Extracción de la grasa

Referencia: Método de Folch y cols. 1957; modificado por Prandini y cols., 2007.

Fundamento: se realizó la extracción con cloroformo-metanol (2:1), seguido de una metilación y posterior inyección en el cromatógrafo de gases.

Instrumental:

- Ampollas de decantación
- Balanza de precisión
- Matraces específicos (forma de corazón)
- Agitador
- Rotavapor

Reactivos:

- Solución de cloroformo:metanol (2:1)
- Solución de ClNa saturada
- Sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4)

Procedimiento: La extracción de lípidos de las muestras se realizó en condiciones de frío según la técnica modificada de Folch, con una solución de cloroformo:metanol 2:1, la cual se lava con una solución saturada de ClNa y a continuación se evapora para proceder a calcular el contenido total de grasa y con una alícuota determinar los ácidos grasos.

B. Saponificación y formación de los esteres metílicos

Se utilizaron dos métodos de metilación para luego evaluar cual es el más adecuado:

a) Metilación en frío

Referencia: Método descrito por Bannon y cols. (1985) modificado por Prandini y cols. (2007).

Fundamento: Se lleva a cabo la transesterificación mediante una base NaOH o KOH 1 N en metanol, posteriormente se neutraliza el exceso de base con HCl 2N.

Condiciones de ensayo

- Tubos de vidrio que entren en la centrífuga.
- Temperatura: 20 a 25°C
- Volumen de ensayo: 2,2 ml
- Cantidad de patrón interno por muestra: 2,586 mg/ml

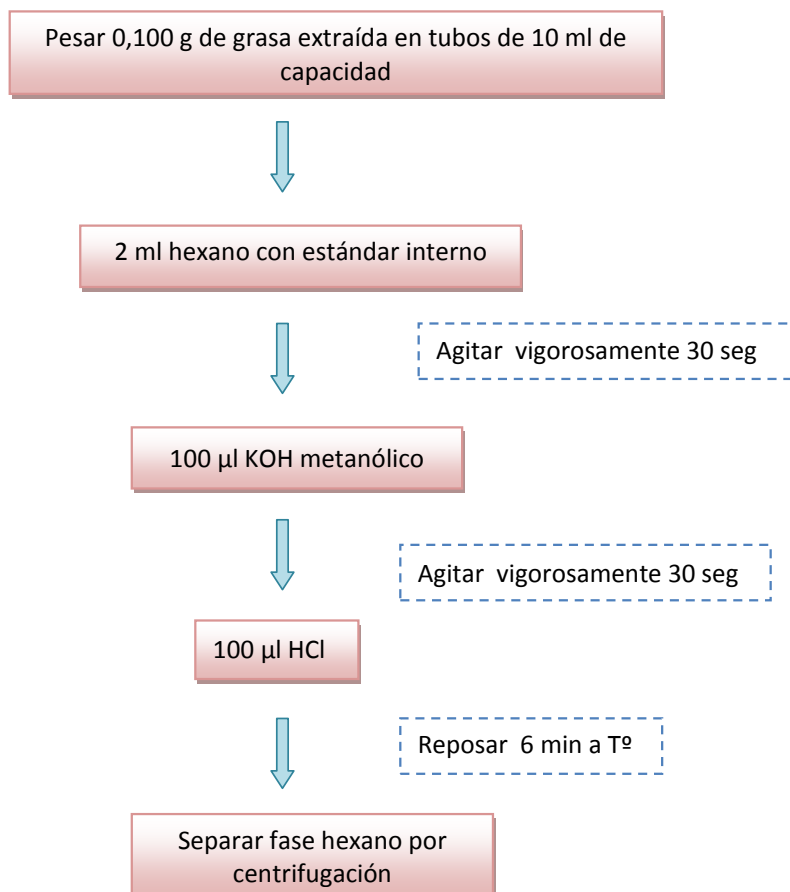
Reactivos

- Hexano con patrón interno (behénico)
- KOH en metanol
- HCl 2N en metanol

Procedimiento:

Los pasos a seguir para la metilación den frio se detallan en la figura 12.

FIGURA 12. Procedimiento empleado para la extracción y metilación en frío de la grasa láctea



b) Metilación en caliente

Referencia: Sanz Ceballos y cols., 2009.

Fundamento: Una vez extraída la grasa se procede a su saponificación para liberar ácidos grasos. Los ácidos grasos se aíslan a partir del material saponificado mediante acidificación, posteriormente se procede a la metilación en caliente. El residuo de la fase orgánica se recupera en hexano tras varias centrifugaciones.

Condiciones de ensayo

- Tubos de vidrio de capacidad superior o igual a 10 ml.
- Temperatura: 20, 50 y 80°C

- Volumen de ensayo: 10 ml
- Cantidad de patrón interno por muestra: 2,586 mg/ml

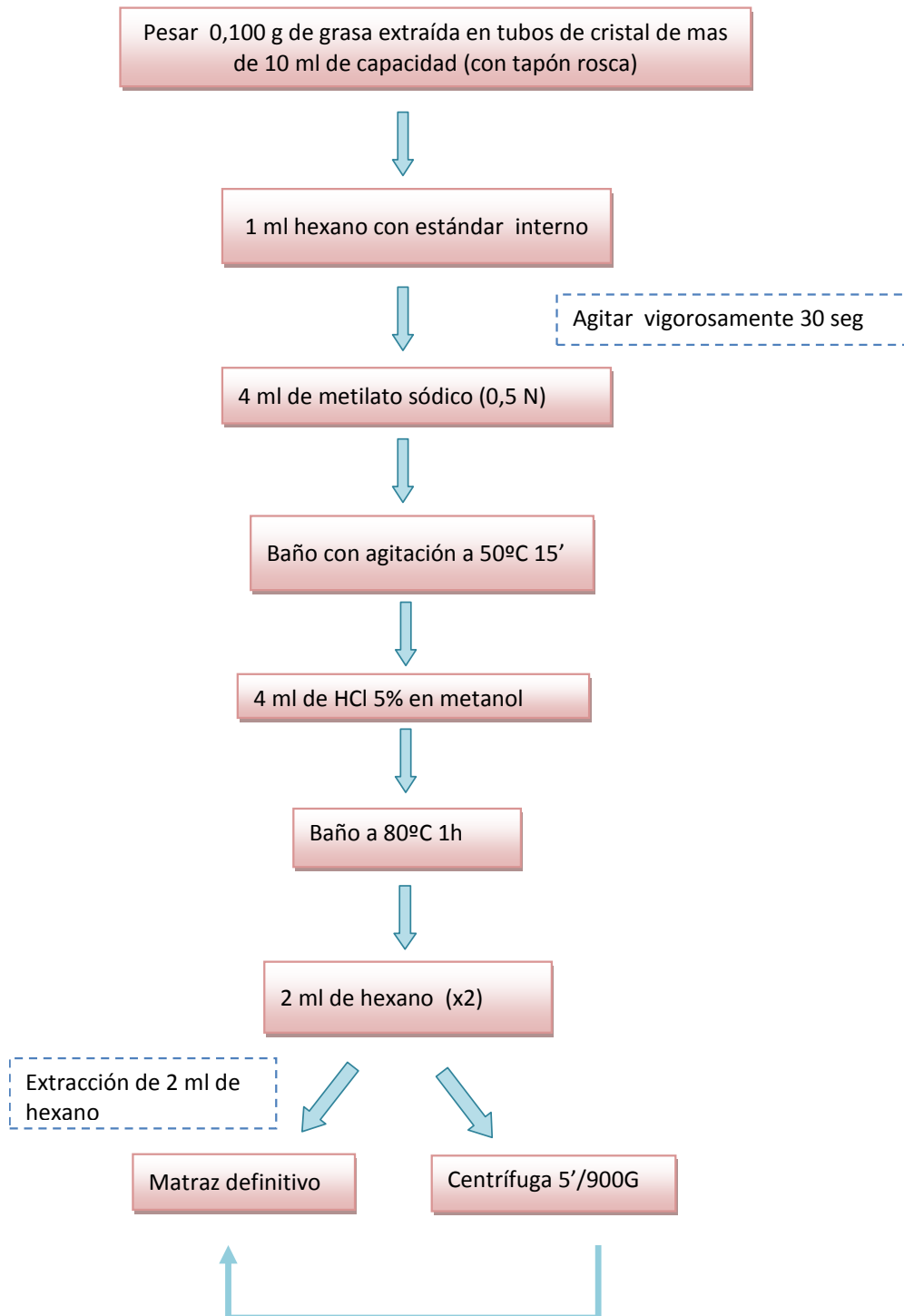
Reactivos

- Hexano con estándar interno
- Metilato sódico
- KOH
- HCl
- Hexano (HPLC)

Procedimiento:

El procedimiento a seguir se detalla en la figura 13.

FIGURA 13. Procedimiento empleado para metilación en caliente de la grasa láctea.



c) Análisis cromatográfico

Referencia: Prandini y cols., 2007.

El procedimiento de separación se basa en la aplicación cromatográfica de gases acoplada a un detector de llama.

La cuantificación de los principales ácidos grasos se realizó en un Cromatógrafo de inyección de gases manual (Perkin Elmer, Autosystem) equipado con detector de ionización de llama (FID) e inyector convencional y columna capilar (Supelco® SP™ - 2380 de Fused Silica) de 30 m x 0,25 mm, 0,2 µm de espesor de película, previa extracción de la grasa con cloroformo-metanol (2:1) y metilación en frío con potasa metanólica. El volumen de inyección fue de 2 µl, el gas portador N₂ de alta pureza, con una presión de 15 psi. La temperatura del inyector y del detector fue de 230 y 250°C respectivamente.

La cuantificación por método de patrón interno se llevó a cabo utilizando una solución de ácido behémico de 2,55 mg/ml.

La exactitud del método de cuantificación por patrón externo (curvas de calibrado), se realizó mediante la utilización de una solución patrón de 5 ácidos grasos FAME mix GLC-10 1891-1AMP Supelco®. La cuantificación se realizó mediante la aplicación de las correspondientes rectas de calibrado y los resultados (exactitud) se expresaron como porcentaje de recuperación respecto a los valores de referencia.

La temperatura de la columna del horno se programó de la siguiente manera:

Paso	Temperatura °C	Tiempo min	Rampa °C/min
1	60	3'	0
2	170	9'	5
3	230	5	10
4	60		

d) Cuantificación

Se pusieron a punto dos técnicas para la cuantificación de los ácidos grasos en ambos métodos de metilación: cuantificación externa y cuantificación por patrón interno.

e) Cuantificación por patrón externo

Se realizaron distintas diluciones de ácidos grasos que luego se inyectaron en el cromatógrafo, con lo cual se obtuvieron las correspondientes rectas de calibración (Tabla 31)

TABLA 31. Ecuaciones de las rectas y coeficientes de correlación

AG	Recta de calibrado	R ²	AG	Recta de calibrado	R ²
Butírico	$y=6E+06X+53492$	0,998	Palmítico	$y=9E+06x+68054$	0,998
Caproico	$Y=8E-06X-29453$	0,999	Esteárico	$y=9E+06X-271936$	0,998
Caprílico	$Y=8E+06X+9175$	0,998	Oleico	$y= 1E+07X-288653$	0,998
Cáprico	$Y=8E+06X-1519,2$	0,995	Linolénico	$y=9E+06X-45049$	0,998
Láurico	$Y=8E+06X-559181$	0,998	Araquidónico	$Y= 381751X-254996$	0,996
Mirístico	$y=9E+06X-11395$	0,998	Linoléico	$Y= 1E+07X-20678$	0,995

f) Cuantificación por patrón interno

El patrón interno utilizado fue ácido behénico (Prandini A y cols., 2007), puesto que este ácido no se encuentra en ninguna de las muestras a analizar. Se añadió 2,55 mg/ml en muestras sometidas a metilación A y B.

g) Validación

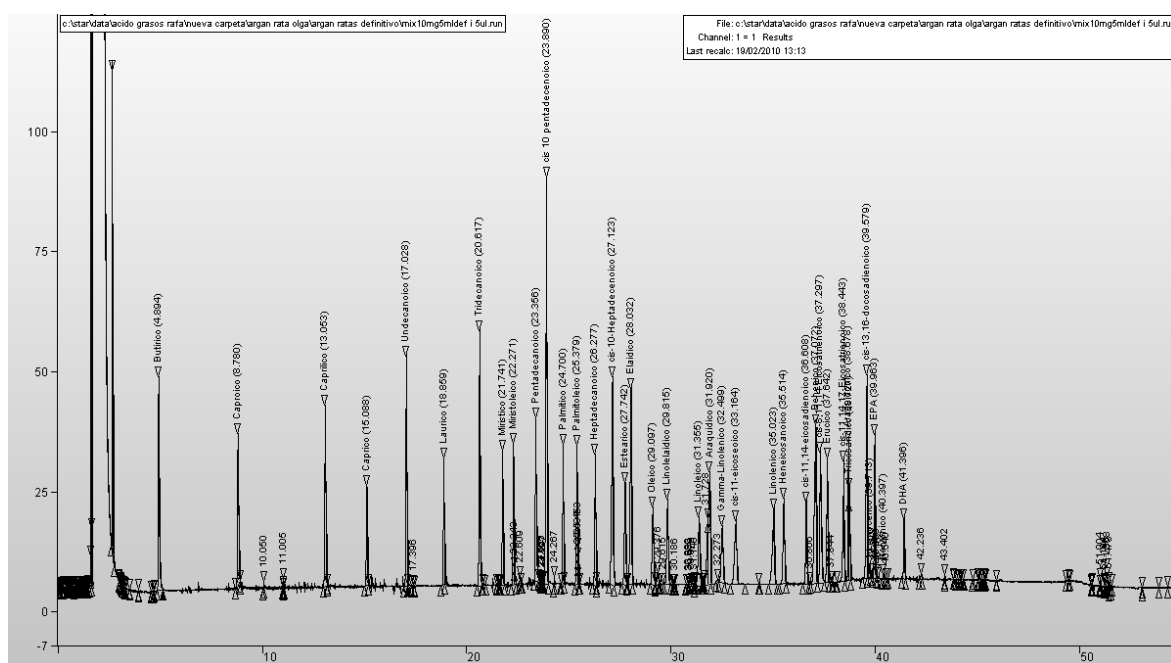
Se utilizaron los siguientes patrones para realizar la validación:

- Solución patrón de 5 ácidos grasos FAME mix GLC-10 1891-1AMP Supelco®.

- Solución patrón de 37 ácidos grasos FAME mix 47885-U Supelco®.
- 2 soluciones patrones de concentración conocida, similar a las de los analitos esperados en las muestras, para ello se disolvieron las cantidades estipuladas de cada ácido graso en hexano, con ácido behénico como patrón interno.

h) Validación cualitativa

Para la identificación de los ácidos grasos se compararon los cromatogramas y los tiempos de retención de las muestras con los de la solución patrón de 37 ácidos grasos FAME mix 47885-U Supelco®.



i) Validación cuantitativa

1. Patrón externo: se realizó mediante la utilización de una solución patrón de cinco ácidos grasos FAME mix GLC-10 1891-1AMP Supelco®. La cuantificación se realizó mediante la aplicación de las correspondientes rectas de calibrado y los resultados (exactitud) se expresaron como porcentaje de recuperación respecto a los valores de referencia (Tabla 32).

TABLA 32. Validación analítica del método mediante patrón de ácidos grasos FAME mix GLC-10 1891-1AMP Supelco®

ACIDOS GRASOS	Tr	Área (counts)	% Área	Conc. real (g/l)	Conc. Referencia (g/l)	% Recuperación
Palmítico	24,745	3637454	19,96	0,3966	0,400	99,2
Estéarico	28,361	3573000	19,61	0,3970	0,400	99,3
Oléico	29,384	3695347	20,28	0,3984	0,400	99,6
Linoléico	31,134	3498251	19,20	0,3937	0,400	98,4
Linolénico	34,183	3816322	20,95	0,3837	0,400	95,9

2. Patrón interno: se estandarizó mediante la utilización de los 2 patrones realizados, y se obtuvo el siguiente porcentaje de recuperación.

TABLA 33. Medias de las concentraciones (g/100g grasa) por patrón y método de metilación

ACIDOS GRASOS	Patrón 1			Patrón 2			% Recup MET A X	CV	% Recup MET B X	CV
	Met A	Met B	Conc. real	Met A	Met B	Conc. real				
Butírico	0,115	0,056	0,1518	0,141	0,067	0,227	69,205	0,127	33,417	0,207
Capróico	0,127	0,115	0,1598	0,216	0,174	0,2397	87,719	0,006	72,518	0,137
Caprílico	0,076	0,087	0,0932	0,136	0,118	0,1398	97,783	0,085	89,467	0,104
Cáprico	0,197	0,235	0,2248	0,341	0,326	0,3372	94,480	0,103	100,719	0,060
Láurico	0,199	0,237	0,2561	0,342	0,335	0,3263	91,440	0,096	97,937	0,041
Mirístico	0,341	0,398	0,2176	0,565	0,568	0,5098	134,061	0,051	147,390	0,023
Palmítico	0,647	0,662	0,4316	1,040	1,060	0,6474	155,290	0,034	158,652	0,022
Esteárico	0,256	0,278	0,2561	0,409	0,422	0,3841	103,258	0,001	108,175	0,020
Oleico	0,615	0,707	0,6228	0,968	0,974	0,9342	101,108	0,003	108,970	0,012
Linoléico	0,098	0,114	0,1007	0,157	0,156	0,1511	104,037	0,009	107,116	0,027
Araquid.	0,016	0,017	0,0141	0,019	0,020	0,0212	105,564	0,587	104,727	0,678
Linolén.	0,137	0,154	0,1408	0,215	0,2133	0,2113	99,810	0,001	105,161	0,028
MEDIA							102,684	0,108	103,646	0,113

j) Método de metilación

Los patrones estándar elaborados se metilaron mediante los métodos A (frío) y B (caliente) y tras su inyección y el procesamiento de los resultados se obtuvieron los resultados expresados en la Tabla 33.

Como se observa en la Tabla 33, ambos métodos tienen una media muy aceptable en cuanto a recuperación, siendo la metilación A, levemente más próxima al porcentaje deseado. Sin embargo, si estudiamos la recuperación de cada ácido graso, por separado, se observa que:

- Existe una más baja recuperación para los ácidos grasos de cadena corta, una sobre-recuperación para los de cadena larga saturados (C14 y C16) y para los insaturados se observan los valores más próximos al 100% sobre todo en la metilación A.
- En el resto, se sobre-estima un porcentaje muy pequeño en el caso de la metilación A y un poco mayor, pero sin llegar a ser demasiado en el caso de la metilación B.

Tras estos resultados, el método de la metilación A, es el elegido para la aplicación a nuestras muestras:

- Presenta una mejor cuantificación a todos los niveles de ácidos grasos de cadena corta.
- En cuanto a los de cadena larga, no se observan grandes diferencias con respecto a la metilación B.
- El único inconveniente que presenta este método es que puede que no se cuantifiquen algunos ácidos grasos libres, pero como vimos en composición, no es muy típico encontrar estos compuestos ni en el yogur ni en el kéfir.
- La metilación A es muchísimo más rápida, además de fácil y barata.

En este estudio consideramos que el método más idóneo para llevar a cabo la metilación, es el método A, debido a su facilidad, rapidez, precisión y repetitividad. Para ello se calcularon distintos parámetros en función de los patrones de concentración conocida de cada ácido graso utilizado para obtener el factor respuesta.

Se eligió el método de cuantificación por patrón interno debido a su facilidad y rapidez. Además tiene la ventaja de que no es necesario conocer de forma exacta el volumen de las muestras en la etapa final del análisis, y a que las variaciones de volumen afectan por igual a analito y patrón interno. Se utilizaron 2,55 mg/ml en muestras sometidas a metilación A y B.

TABLA 34. Características de las técnicas de metilación A y B

<p>METILACIÓN A</p> <p>Transesterificación en frío con una solución metanólica de KOH.</p>	<p>METILACIÓN B</p> <p>Metilación en caliente con metilato de sodio en metanol, seguida de esterificación en medio ácido.</p>
<p><u>Ventajas</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Método muy rápido ▪ Fácil ▪ Trabajar a t° ambiente ▪ Convierte los triglicéridos directamente a ésteres metílicos (transesterificación). ▪ No produce isomerización de dobles enlaces. 	<p><u>Ventajas</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Produce ésteres metílicos de todos los ácidos grasos. ▪ Una vez realizada la metilación, pueden pasar varios días sin que se realice el análisis cromatográfico.
<p><u>Desventajas</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ No convertir a ésteres metílicos los ácidos grasos libres ▪ Debe trabajarse en medio anhidro ya que la presencia de agua produce saponificación lo cual origina la pérdida de ácidos grasos. ▪ El uso prolongado puede alterar la composición en ácidos grasos. ▪ Alta concentración de álcali y alta temperatura puede llevar a la formación de ácidos grasos conjugados. ▪ Es recomendable realizar el análisis cromatográfico en las siguientes 24h. 	<p><u>Desventajas</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Las elevadas temperaturas producen muchas veces la volatilización de los ácidos grasos de cadena corta. ▪ Lento ▪ Requiere de reactivos más específicos así como de aparatos.

3.5. ANALISIS ESTADISTICO

El estudio estadístico de los datos obtenidos en el presente trabajo, ha sido establecido a partir de valores de las concentraciones de los diferentes parámetros analizados y de los factores considerados como variables de respuesta experimental determinados en las muestras de leches crudas, comerciales y fermentadas estudiadas, a fin de determinar la existencia o no de diferencias estadísticamente significativas de dichos factores (origen animal, tipo de producto en función del cultivo iniciador y tipo de leche fermentada de cabra artesanal o comercial) sobre las variables.

El paquete estadístico empleado a tal efecto ha sido el Statgraphics 6.0, y SPSS 15.0 del que hemos utilizado el análisis estadístico de la varianza (ANOVA) unifactorial, habiéndose empleado el test de la t de Student para los métodos paramétricos con un nivel de significancia del 95% ($p < 0,05$) y el test de Kruskal-Wallis para los no paramétricos, con un nivel de significancia también del 95% ($p < 0,05$).

Previamente a la aplicación de un modelo paramétrico o no paramétrico para el análisis de la varianza, se establecieron las características propias de los resultados experimentales obtenidos para la variable de respuesta. En primer lugar, se comprobó la normalidad de la distribución de los datos por el test de Kolmogorov-Smirnov con un nivel de significancia del 5% ($p > 0,05$), y en segundo lugar, se determinó la homogeneidad de las varianzas mediante el test de Bartlett, para un nivel de significancia también del 5% ($p > 0,05$).

También se realizó el análisis de correlación, el de componentes principales así como el discriminante.

IV. RESULTADOS

1. LECHE ENTERA CRUDA DE CABRA

Los resultados obtenidos en las determinaciones físico-químicas de la leche entera cruda de cabra y de leche pasteurizada comercial de vaca y cabra, se detallan en la Tabla 35.

En la tabla 36, se presenta el resumen estadístico del contenido de ácidos grasos de la leche cruda de cabra, leche de cabra comercial y leche de vaca comercial.

2. LECHE FERMENTADAS DE CABRA Y VACA

Los resultados de los análisis físico-químicos de las leches fermentadas de cabra y vaca se presentan en la Tabla 37.

3. METODOS ENZIMATICOS

En la tabla 38, se presenta el resumen de las concentraciones de lactosa, ácido láctico y acetaldehído realizadas mediante los test enzimáticos.

3.1. LACTOSA

Los resultados obtenidos en la determinación de la lactosa total, la galactosa y la Lactosa, mediante test enzimáticos, de las diferentes leches fermentadas analizadas, obteniéndose un porcentaje de recuperación del 92%, se muestran en la tabla 39.

3.2. ÁCIDO LÁCTICO

Los resultados obtenidos en la determinación de ácido L-Láctico, D-Láctico y ácido láctico total en las diferentes leches fermentadas analizadas, obteniéndose un porcentaje de recuperación del 99%, se muestran en la tabla 40:

3.3. ACETALDEHÍDO

El contenido de acetaldehído encontrado en las muestras de leches fermentadas, se presentan en la tabla 41.

4. MINERALES

El contenido mineral de las muestras analizadas se presenta en la Tabla 42.

5. CROMATOGRAFÍA

Los valores de ácidos grasos obtenidos por cromatografía de gases de las muestras de leches fermentadas de vaca y cabra se presentan en la Tabla 43 y 44.

TABLA 35. Resumen estadístico de la composición físico-química de la leche cruda de cabra, leche de cabra comercial y leche de vaca comercial

COMPONENTE	Leche Cruda de Cabra			Leche Comercial de Cabra			Leche Comercial de Vaca		
	n	X ± DS	Intervalo	n	X ± DS	Intervalo	n	X ± DS	Intervalo
Acidez (%)	31	0,170 ± 0,02	0,16 - 0,21	10	0,190 ± 0,01	0,18 - 0,19	9	0,170 ± 0,02	0,15 - 0,19
Densidad (g/100g)	31	1,033 ± 0,01	1,03 - 1,04	10	1,0340 ± 0,002	1,033 - 1,036	9	1,034 ± 0,00	1,032 - 1,035
Lactosa (%)	31	4,69 ± 0,91	3,80 - 5,96	10	3,43 ± 0,22	3,26 - 3,57	9	4,90 ± 0,13	4,75 - 4,98
Proteínas (%)	31	3,64 ± 0,33	3,23 - 4,74	10	3,50 ± 0,14	3,4 - 3,6	9	3,30 ± 0,10	3,2 - 3,4
Grasa (%)	31	4,96 ± 0,74	3,20 - 6,20	10	2,05 ± 0,07	2,00 - 2,1	9	1,77 ± 0,25	1,5 - 2
Cenizas (%)	31	0,74 ± 0,02	0,68 - 0,77	10	0,84 ± 0,02	0,82 - 0,85	9	0,75 ± 0,02	0,73 - 0,77
Extracto Seco (%)	31	13,29 ± 1,09	11,41 - 15,39	10	10,84 ± 0,29	10,63 - 11,05	9	10,70 ± 0,49	10,14 - 11,08
Calcio mg/100g	31	120,55 ± 4,10	111,5 – 130,6	10	127,35 ± 3,74	124,7 – 130,0	9	126,96 ± 3,17	123,3 – 128,9
Magnesio mg/100g	31	13,29 ± 0,52	12,36 – 14,20	10	10,95 ± 1,90	9,60 – 12,30	9	9,63 ± 0,25	9,40 – 9,90
Fósforo mg/100g	31	118,85 ± 26,65	100,00 – 137,70	10	160,00 ± 4,00	153,00 – 172,00	9	95,50 ± 0,50	95,00 – 96,00
Zinc µg/100g	31	340 ± 20	310 – 395	10	440 ± 12	430 - 450	9	480 ± 20	460 – 500

TABLA 36. Resumen estadístico del contenido de ácidos grasos de la leche cruda de cabra, leche de cabra comercial y leche de vaca comercial, en gramos/100 g de leche

ACIDO GRASO	Leche de Cabra Cruda			Leche de Cabra Comercial			Leche de Vaca Comercial		
	n	X ± DS	Intervalo	n	X ± DS	Intervalo	n	X ± DS	Intervalo
Butírico	31	0,525 ± 0,168	0,323 – 0,822	10	0,699 ± 0,410	0,374 – 1,299	9	1,405 ± 0,440	1,067 – 2,205
Capróico	31	0,774 ± 0,560	0,350 – 1,873	10	0,772 ± 0,269	0,492 – 1,015	9	0,697 ± 0,292	0,485 – 1,280
Caprílico	31	0,922 ± 0,644	0,428 – 2,173	10	1,036 ± 0,371	0,702 – 1,409	9	0,427 ± 0,185	0,303 – 0,765
Cáprico	31	2,680 ± 1,049	1,394 – 4,136	10	3,347 ± 1,211	2,265 – 4,601	9	0,965 ± 0,464	0,636 – 1,662
Láurico	31	1,445 ± 0,686	0,580 – 2,440	10	2,123 ± 0,705	1,410 – 2,769	9	0,997 ± 0,445	0,667 – 1,847
Mirístico	31	2,110 ± 0,660	1,041 – 2,570	10	3,841 ± 1,385	2,560 – 5,148	9	2,918 ± 1,169	2,426 – 5,229
Palmítico	31	6,515 ± 2,170	3,523 – 9,010	10	8,454 ± 3,145	5,735 – 11,861	9	7,513 ± 2,012	5,309 – 11,156
Estearico	31	0,882 ± 0,410	0,590 – 1,351	10	2,724 ± 1,293	1,505 – 4,512	9	2,254 ± 1,158	1,365 – 4,574
Oleico	31	3,953 ± 1,342	2,138 – 5,989	10	9,518 ± 2,947	5,925 – 13,029	9	6,417 ± 3,407	3,850 – 13,182
Linoléico	31	0,588 ± 0,237	0,278 – 0,846	10	0,908 ± 0,640	0,120 – 1,561	9	0,593 ± 0,254	0,380 – 1,072

TABLA 37. Composición físico-química de leches fermentadas de cabra y vaca

	pH			ACIDEZ			EXTRACTO SECO			PROTEINAS		
	n	X ± DS	Intervalo	n	X ± DS	Intervalo	n	X ± DS	Intervalo	n	X ± DS	Intervalo
VACA												
Y. Natural Entero	18	4,18 ± 0,24	3,64 - 4,61	18	1,040 ± 0,20	0,68 - 1,37	18	13,26 ± 2,40	10,85 - 20,85	18	3,54 ± 0,80	2,86 - 4,35
Y. Natural Desnatado	5	4,21 ± 0,16	4,03 - 4,43	5	1,090 ± 0,03	1,06 - 1,14	5	10,65 ± 1,35	9,09 - 11,49	5	4,02 ± 0,47	3,74 - 4,72
Y. Griego	7	4,21 ± 0,18	3,91 - 4,40	7	1,020 ± 0,19	0,82- 1,26	7	21,76 ± 4,0	17,23 - 26,77	7	4,44 ± 1,45	3,08 - 6,80
TOTAL YOGURES	30	4,19 ± 0,21	3,64 - 4,61	30	1,040 ± 0,18	0,68 - 1,37	30	15,33 ± 5,0	9,09 - 26,77	30	3,85 ± 0,90	2,86 - 6,81
Prob. enteros	10	4,12 ± 0,20	3,85 - 4,55	10	0,880 ± 0,08	0,80 - 1,04	10	15,08 ± 3,36	11,17 - 19,97	10	3,29 ± 0,58	2,59 - 4,31
Prob. desnatados	5	4,26 ± 0,12	4,18 - 4,41	5	1,010 ± 0,12	0,88 - 1,14	5	11,39 ± 1,02	10,24 - 12,64	5	3,95 ± 0,57	2,95 - 4,30
TOTAL PROBIOTICOS	15	4,17 ± 0,19	3,85 - 4,55	15	0,930 ± 0,11	0,80 - 1,14	15	13,76 ± 3,26	10,24 - 19,97	15	3,53 ± 0,65	2,59 - 4,30
KEFIR	3	4,23 ± 0,15	4,06 - 4,35	3	0,818 ± 0,11	0,73 - 0,93	3	9,82 ± 1,09	8,56 - 10,55	3	3,14 ± 0,24	2,87 - 3,31
OTRAS Leches F	7	4,20 ± 0,21	3,78 - 4,42	7	0,920 ± 0,23	0,73 - 1,43	7	17,87 ± 3,36	12,23 - 22,71	7	3,00 ± 0,53	2,35 - 3,91
TOTAL L. F. VACA	55	4,21 ± 0,04	3,64 - 4,61	55	0,970 ± 0,10	0,68 - 1,37	55	14,26 ± 4,32	9,09 - 26,77	55	3,63 ± 0,53	2,35 - 6,81
CABRA												
Y. Natural Entero	4	3,83 ± 0,22	3,55 - 4,09	4	1,030 ± 0,13	0,83 - 1,16	4	14,68 ± 2,01	13,35 - 17,67	4	3,32 ± 0,21	3,08 - 3,54
Y. Natural Desnatado	1	4,07	-	1	1,08	-	1	9,88	-	1	3,87	-
TOTAL YOGURES	5	3,88 ± 0,22	3,55 - 4,09	5	1,040 ± 0,13	0,83-1,16	5	13,72 ± 2,76	9,88 - 17,67	5	3,43 ± 0,31	3,08 - 3,87
Prob. entero	2	4,10 ± 0,04	4,07 - 4,13	2	0,890 ± 0,0	0,89	2	13,12 ± 0,36	12,86 - 13,38	2	3,40 ± 0,03	3,38 - 3,41
Prob. desnatado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total PROBIOTICOS	2	4,10 ± 0,04	4,07 - 4,13	2	0,890 ± 0,0	0,89	2	13,12 ± 0,36	12,86 - 13,38	2	3,40 ± 0,03	3,38 - 3,41
KEFIR	4	4,11 ± 0,07	4,04 - 4,21	4	0,871 ± 0,07	0,80 - 0,95	4	13,23 ± 0,22	12,90 - 13,43	4	3,29 ± 0,35	2,90 - 3,72
TOTAL L. F. CABRA	11	4,03 ± 0,14	3,55 - 4,21	11	0,970 ± 0,11	0,80 - 1,16	11	12,73 ± 2,09	9,88 - 17,67	11	3,47 ± 0,27	2,90 - 3,87
YOGUR ARTESANAL	9	4,05 ± 0,062	3,96 - 4,15	9	0,876 ± 0,03	0,84 - 0,92	9	13,39 ± 0,90	12,74 - 15,54	9	3,45 ± 0,24	3,20 - 3,78

TABLA 37. Composición físico-química de leches fermentadas de cabra y vaca (cont.)

	GRASAS			HIDRATOS DE CARBONO			CENIZAS		
	n	X ± DS	Intervalo	n	X ± DS	Intervalo	n	X ± DS	Intervalo
VACA									
Y. Natural Entero	18	3,03 ± 0,80	2,10 - 4,44	18	5,86 ± 2,37	4,15 - 13,74	18	0,84 ± 0,15	0,66 - 1,17
Y. Natural Desnatado	5	-	-	5	6,05 ± 1,04	4,51 - 6,77	5	0,94 ± 0,13	0,75 - 1,05
Y. Griego	7	8,18 ± 2,87	2,01 - 10,15	7	8,33 ± 3,83	4,04 - 13,32	7	0,82 ± 0,17	0,70 - 1,16
TOTAL YOGURES	30	4,67 ± 2,96	2,01 - 10,15	30	6,55 ± 2,83	4,04 - 13,74	30	0,85 ± 0,17	0,66 - 1,17
Probióticos enteros	10	3,00 ± 1,11	1,26 - 4,33	10	8,06 ± 3,95	3,09 - 13,21	10	0,73 ± 0,13	0,61 - 0,96
Probióticos desnatados	5	-	-	5	6,44 ± 1,62	4,95 - 8,86	5	0,96 ± 0,19	0,84 - 1,28
TOTAL PROBIOTICOS	15	3,00 ± 1,11	1,26 - 4,33	15	7,48 ± 3,22	3,09 - 13,21	15	0,81 ± 0,19	0,61 - 1,28
KEFIR	3	1,99 ± 1,63	0,19 - 3,38	3	3,96 ± 0,49	3,39 - 4,33	3	0,73 ± 0,05	0,69 - 0,78
OTRAS Leches Ferm	7	2,00 ± 1,60	0,79 - 4,76	7	14,24 ± 1,98	11,72 - 17,45	7	0,82 ± 0,35	0,61 - 1,60
TOTAL L. F. VACA	55	2,60 ± 2,76	0,00 - 10,15	55	7,56 ± 3,28	3,09 - 17,45	55	0,83 ± 0,09	0,61 - 1,60
CABRA									
Y. Natural Entero	4	5,25 ± 0,41	4,87 - 5,81	4	5,37 ± 2,11	3,78 - 8,47	4	0,73 ± 0,03	0,69 - 0,77
Y. Natural Desnatado	1	-	-	1	5,17		1	0,83	-
TOTAL YOGURES	5	5,25 ± 0,41		5	5,33 ± 1,83	3,78 - 8,47	5	0,75 ± 0,05	0,69 - 0,83
Prob. entero	2	4,70 ± 0,22	4,54 - 4,85	2	4,20 ± 0,04	4,16 - 4,22	2	0,74 ± 0,00	0,74
Prob. desnatado	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total PROBIOTICOS	2	4,70 ± 0,22	4,54 - 4,85	2	4,20 ± 0,04	4,16 - 4,22	2	0,74 ± 0,00	4,74
KEFIR	4	4,58 ± 1,14	3,89 - 6,28	4	4,61 ± 0,92	3,39 - 5,63	4	0,75 ± 0,01	0,73 - 0,76
TOTAL L. F. CABRA	11	4,84 ± 0,36	4,54 - 6,28	11	4,84 ± 0,54	3,78 - 8,47	11	0,76 ± 0,05	0,69 - 0,83
YOGUR ARTESANAL	9	3,60 ± 0,83	2,89 - 4,77	9	5,58 ± 1,36	3,69 - 7,73	9	0,77 ± 0,02	0,75 - 0,80

TABLA 38. Resumen de resultados para lactosa, ácido láctico y acetaldehído

		Yogures de vaca	Yogures de cabra	Kéfir	Yogures griegos
LACTOSA (%)	Azúcares totales (*)	4,07 ± 0,63	3,91 ± 0,33	3,36 ± 0,13	2,98 ± 0,74
	Lactosa	2,82 ± 0,46	1,88 ± 0,58	2,97 ± 0,53	1,84 ± 0,34
	Galactosa	0,68 ± 0,25	1,64 ± 0,63	0,37 ± 0,18	0,63 ± 0,28
ÁCIDO LÁCTICO (%)	L- láctico	1,01 ± 0,17	0,93 ± 0,18	0,93 ± 0,08	0,67 ± 0,36
	D-láctico	0,15 ± 0,09	0,13 ± 0,11	0,10 ± 0,02	0,39 ± 0,20
	Total	1,16 ± 0,22	1,06 ± 0,21	1,03 ± 0,08	1,07 ± 0,19
ACETALDEHÍDO (ppm)		27,49 ± 5,75	17,11 ± 7,06	24,89 ± 7,024	21,55 ± 0,41

(*) Expresado en porcentaje de lactosa

TABLA 39. Contenido medio de lactosa de las muestras de leches fermentadas analizadas

Muestras	% Azúcares totales (*)	% Lactosa	% Galactosa
Media Yogures de cabra n=5	3,59 ± 0,33	1,88 ± 0,57	1,64 ± 0,63
Media Kéfir de cabra n=4	3,36 ± 0,13	2,97 ± 0,53	0,37 ± 0,18
Media Yogures de vaca n=11	4,07 ± 0,63	2,82 ± 0,46	0,68 ± 0,25
Media Yogures Griegos n=3	3,08 ± 0,73	1,84 ± 0,34	0,63 ± 0,28

(*) Expresado en porcentaje de lactosa

TABLA 40. Contenido medio de ácido láctico de las muestras de leches fermentadas analizadas

Muestras	% D-Láctico	% L-Láctico	%Láctico Total
Media Yogures de cabra n=5	0,127 ± 0,113	0,935 ± 0,179	1,06 ± 0,85
Media Kéfir de cabra n=4	0,102 ± 0,619	0,93 ± 0,085	1,03 ± 0,08
Media Yogures de vaca n=11	0,149 ± 0,096	1,012 ± 0,175	1,16 ± 0,22
Media Yogures Griegos n=3	0,397 ± 0,203	0,676 ± 0,357	1,07± 0,19

TABLA 41. Contenido medio de acetaldehído de las muestras de leches fermentadas analizadas

Muestras	Concentración de Acetaldehído (ppm)
Yogures de cabra n= 5	17,11 ± 7,06
Kéfir de cabra n= 4	26,70 ± 7,024
Kéfir vaca n= 1	17,63 ± 0,04
Total kéfir n= 5	24,89 ± 7,02
Yogures leche de vaca n=2	27,49 ± 5,75
Yogures Griegos n= 2	21,55 ± 0,41

TABLA 42. Contenido mineral en muestras de leches fermentadas de cabra y vaca

	Ca (mg/100g)			Cr µg/100 g			Cu (mg/100g)			Mg (mg/100g)		
	n	X ± DS	Intervalo	n	X ± DS	Intervalo	n	X ± DS	Intervalo	n	X ± DS	Intervalo
VACA												
Y. Natural Entero	18	205,33 ± 25,35	165,42 - 242,93	18	0,67 ± 0,62	0,22-0,151	18	0,045 ± 0,038	0,012-0,14	18	9,57 ± 2,02	6,72-13,92
Y. Natural Desnatado	5	240,52 ± 16,56	223,98 - 257,29	5	4,51 ± 0,85	3,67 - 5,36	5	0,051 ± 0,033	0,018-0,084	5	10,38 ± 3,01	7,37-13,39
Y. Griego	7	221,17 ± 10,206	205,79-236,77	7	1,47 ± 3,92	0,34-3,92	7	0,072±0,026	0,038-0,11	7	8,46 ± 3,41	3,55-14,57
TOTAL YOGURES	30	222,34 ± 17,62	165,42-242,939	30	2,21 ± 2,02	0,22-4,51	30	0,056±0,014	0,012-0,14	30	9,47 ± 0,96	3,55-14,57
Prob. enteros	10	200,50 ± 40,92	147,42-239,77	10	2,57 ± 2,70	0,90-8,21	10	0,049± 0,034	0,013-0,128	10	9,71 ± 2,65	6,11-14,66
Prob. desnatados	5	195,46 ± 35,56	154,42-217,21	5	4,27 ± 0,74	3,53-5,02	5	0,032± 0,004	0,029-0,036	5	11,18 ± 1,96	9,07-12,97
TOTAL PROBIOTICOS	15	193,36 ± 2,98	147,42-239,77	15	1,28 ± 1,81	0,90-8,21	15	0,042± 0,014	0,013-0,128	15	9,69 ± 2,10	6,11-14,66
KEFIR	3	183,52 ± 28,77	150,3-202,1	3	0,96 ± 0,46	0,49-1,43	3	0,029 ± 0,007	0,022-0,036	3	11,73 ± 4,36	7,41-16,15
OTRAS Leches F	7	217,73 ± 27,77	175,4,76-250,88	7	1,36 ± 0,47	1,03-1,70	7	0,042 ± 0,024	0,012-0,070	7	12,12±12,49	5,80-25,24
TOTAL L. F. VACA	55	207,85 ± 19,87	147,42-250,88	55	2,15 ± 1,40	0,22-8,21	55	0,046 ± 0,015	0,012-0,14	55	10,24 ± 1,55	3,55-25,24
CABRA												
Y. NATURAL	5	178,86 ± 63,40	122,2-238,6	5	3,80 ± 1,22	2,58-5,02-	5	0,080 ± 0,043	0,050-0,11	5	11,33 ± 4,05	7,56-15,06
PROBIOTICOS	2	187,8 ± 35,78	152,02-223,58	2	3,68 ± 0,67	2,01-3,35	2	0,055 ± 0,016	0,039-0,071	2	17,59 ± 2,15	15,44-19,74
KEFIR	4	224,85 ± 24,27	204,6-260,1	4	10,60 ± 2,75	7,84 -13,35	4	0,048 ± 0,021	0,027-0,070	4	11,93 ± 4,86	8,17-19,07
TOTAL L. F. CABRA	11	174,99 ± 45,81	122,2-260,1	11	7,20 ± 4,80	3,80-10,60	11	0,065 ± 0,023	0,027-0,11	11	11,66 ± 5,20	7,56-19,74
L.F. ARTESANAL	9	140,44 ± 24,9	117,9-198,97	9	5,44 ± 0,99	4,45-6,43	9	0,054 ± 0,042	0,028-0,14	9	8,79 ± 0,70	7,67-10,01

TABLA 42. Contenido mineral en muestras de leches fermentadas de cabra y vaca (cont.)

	Mn µg/100g			P mg/100g			Se µg/100g			Zn µg/100g		
	n	X ± DS	Intervalo	n	X ± DS	Intervalo	n	X ± DS	Intervalo	n	X ± DS	Intervalo
VACA												
Y. Natural Entero	18	5,22 ± 2,57	1,80-9,57	18	84 ± 12,0	66 - 106	18	4,71 ± 1,89	2,36 – 9,16	18	440 ± 70	340 – 610
Y. Natural Desnatado	5	3,32 ± 2,17	1,15-5,49	5	88 ± 11,2	76,57- 100,2	5	7,08 ± 2,44	4,64 – 9,52	5	410 ± 54	356 - 464
Y. Griego	7	6,50 ± 4,85	2,41-16,12	7	86 ± 39	55-171	7	6,61 ± 3,35	3,43 - 13,28	7	490 ± 164	320 -780
TOTAL YOGURES	30	4,47 ±0,04	1,80-16,12	30	87 ± 20	55-171	30	6,13 ± 1,25	2,36 - 13,28	30	440 ± 43	320 – 780
Prob. enteros	10	4,60 ± 2,67,1	3,33-10,44	10	75 ± 14	56 - 89	10	4,13 ± 2,03	2,72 – 8,45	10	410 ± 103	272 – 617
Prob. desnatados	5	6,10 ± 3,02	4,23-9,59	5	92 ± 63	37 - 161	5	5,85 ± 2,69	3,29 – 8,67	5	452 ± 137	360 – 610
TOTAL PROBIOTICOS	15	5,35 ± 1,06	3,33-10,44	15	83 ± 14	37 - 161	15	5,66 ± 0,26	2,72 – 8,67	15	420 ± 46	270 – 620
KEFIR	3	4,65 ± 1,78	2,87-6,43	3	75 ± 17	58 - 151	3	3,99 ± 0,90	3,33 – 5,02	3	390 ± 40	373 – 438
OTRAS Leches F	7	10,37 ± 10,17	1,97-24,14	7	78 ± 15	61 - 16	7	2,56 ± 1,33	0,95 – 4,52	7	357 ± 47	317 – 450
TOTAL L. F. VACA	55	5,22 ± 3,04	1,80-24,14	55	83 ± 7,0	37 - 171	55	5,18 ±1,56	0,95 – 13,28	55	420 ± 45	270 – 780
CABRA												
Y. NATURAL	5	8,58 ± 5,87	4,43-12,74	5	78 ± 16	62 - 94	5	3,07 ± 2,13	0,78 – 5,74	5	403 ± 26	382 -440
PROBIÓTICOS	2	9,65 ± 4,02	5,63 – 13,67	2	80 ± 14	66 - 94	2	2,22 ± 1,44	0,78 – 3,66	2	370 ± 32	358 - 402-
KEFIR	4	11,93 ± 4,86	8,17-19,07	4	84 ± 12	75 - 97	4	2,81 ± 1,04	1,76 – 4,14	4	45± 24	460 – 470
TOTAL L. F. CABRA	11	9,05 ± 2,67	4,43-19,07	11	81 ± 3,05	75 - 97	11	2,49 ± 0,34	0,78 – 5,74	11	410 ± 49	382 – 460
L.F ARTESANALES												
L.F ARTESANALES	9	2,19 ± 1,49	0,42-4,92	9	1,21 ± 0,31	1,06-1,97	9	2,64 ± 0,82	1,71 – 4,00	9	540 ± 180	390 – 958

TABLA 43. Contenido de ácidos grasos en leches fermentadas de cabra y vaca. Valores expresados en gramos de AG/ 100 g de leche fermentada.

	VACA					CABRA			
	Yogures vaca N=18	Kéfir vaca N=3	Probióticos y otras LF N=17	Griegos N=7	TOTAL VACA N=45	Yogur y probióticos cabra N=6	Kéfir cabra N=4	Yogures artesanales N=9	TOTAL CABRA N=19
Butírico	1,36 ± 0,30	0,78 ± 0,44	1,39 ± 1,16	0,99 ± 0,52	1,13 ± 0,31	1,13 ± 0,89	0,50 ± 0,07	1,38 ± 0,44	1,00 ± 0,73
Caprónico	0,81 ± 0,17	0,46 ± 0,19	0,70 ± 0,43	0,56 ± 0,27	0,63 ± 0,16	1,30 ± 0,27	0,97 ± 0,06	1,48 ± 0,41	1,30 ± 0,33
Caprílico	0,53 ± 0,09	0,34 ± 0,12	0,54 ± 0,25	0,37 ± 0,18	0,45 ± 0,11	1,66 ± 0,15	1,52 ± 0,18	1,68 ± 0,47	1,63 ± 0,27
Cáprico	1,26 ± 0,19	0,91 ± 0,21	1,16 ± 0,45	0,88 ± 0,46	1,05 ± 0,19	5,66 ± 0,63	5,55 ± 0,60	5,77 ± 1,70	5,66 ± 0,97
Láurico	1,59 ± 0,25	1,24 ± 0,27	1,82 ± 1,38	1,14 ± 0,61	1,45 ± 0,31	2,60 ± 0,37	2,68 ± 0,21	3,08 ± 0,92	2,79 ± 0,56
Mirístico	5,29 ± 0,87	3,78 ± 0,76	4,65 ± 1,99	3,67 ± 1,90	4,35 ± 0,76	5,18 ± 0,85	5,68 ± 0,79	5,50 ± 1,58	5,45 ± 1,04
Palmítico	16,09 ± 2,96	11,43 ± 2,88	12,85 ± 6,08	11,67 ± 4,84	13,01 ± 2,62	16,93 ± 3,57	18,57 ± 3,36	16,66 ± 9,40	17,32 ± 5,42
Estearico	5,89 ± 1,91	2,46 ± 2,02	4,99 ± 2,44	3,49 ± 1,70	4,21 ± 1,53	6,83 ± 2,01	8,15 ± 1,73	5,60 ± 1,42	6,86 ± 1,96
Oleico	10,26 ± 1,80	8,17 ± 1,97	9,34 ± 3,87	7,18 ± 2,51	8,74 ± 1,35	13,87 ± 2,81	14,72 ± 1,47	13,33 ± 2,79	13,97 ± 2,58
Linoléico	1,07 ± 0,46	1,02 ± 1,04	1,84 ± 2,93	0,62 ± 0,35	1,14 ± 0,51	1,60 ± 0,39	1,59 ± 0,09	2,35 ± 0,54	1,80 ± 0,52
Linolénico	-	-	-	-	-	0,12 ± 0,07	0,15 ± 0,04	-	0,14 ± 0,06
Araquidónico	-	-	-	-	-	0,26 ± 0,00	0,16 ± 0,04	-	0,19 ± 0,06

TABLA 44. Contenido de ácidos grasos en leches fermentadas de cabra y vaca. Valores expresados en % de AG sobre el total de AG

	VACA					CABRA			
	Yogures vaca N=18	Kéfir vaca N=3	Probióticos y otras LF N=17	Griegos N=7	TOTAL VACA N=45	Yogur y probióticos cabra N=6	Kéfir cabra N=4	Yogures artesanales N=9	TOTAL CABRA N=19
Butírico	3,02	2,74	3,51	3,31	3,15	2,11	0,81	2,57	1,83
Caprónico	1,78	1,52	1,74	1,83	1,72	2,25	1,57	2,57	2,13
Caprílico	1,16	1,11	1,33	1,20	1,20	2,87	2,47	2,92	2,75
Cáprico	2,76	2,99	2,88	2,90	2,88	9,77	8,98	10,04	9,60
Láurico	4,49	4,06	4,50	3,95	4,25	4,48	4,33	5,36	4,72
Mirístico	12,63	13,43	12,50	13,08	12,91	8,94	9,19	8,78	8,97
Palmítico	36,36	35,26	32,80	36,09	35,13	28,24	29,05	28	28,43
Esteárico	13,54	9,10	13,35	12,49	12,12	11,8	13,2	10,75	11,92
Oleico	22,55	26,83	23,12	23,62	24,03	23,92	23,83	22,12	23,29
Linoléico	2,34	3,36	4,57	2,03	3,08	2,59	2,57	4,1	3,09
Linolénico		-	-	-	-	0,21	0,24	-	0,23
Araquidónico	-	-	-	-	-	0,45	0,26	-	0,36
% SAT	75,14	69,79	72,31	74,35	73,01	70,93	72,5	71,98	71,02
% INSAT	24,86	30,21	27,69	25,65	26,99	29,07	27,5	28,02	28,98

V. DISCUSIÓN

1. ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS

a) pH

En las leches fermentadas, el pH disminuye con el tiempo de almacenamiento debido a la ruptura de la lactosa por las bacterias lácticas (Katsiari y cols., 2002).

El pH para los yogures comerciales elaborados a partir de leche de cabra, fue de $3,88 \pm 0,22$ con un intervalo comprendido entre 3,55 - 4,09, siendo para los yogures de elaboración artesanal de $4,05 \pm 0,06$. Estos valores son similares a los obtenidos para los yogures de leche de vaca, cuyo valor medio fue de $4,19 \pm 0,2$, con un mínimo de 3,64 y un máximo de 4,61.

Como valores de referencia en yogur de cabra, encontramos que Güler y Akin (2007), elaboraron un yogur a base de leche de cabra cuyo pH estuvo comprendido entre 4,40 y 4,20. Posecion y cols. (2005), hallaron un pH de 4,2 para el mismo tipo de producto. Vargas y cols. (2008), obtuvieron un pH entre 4,40 y 4,60 en yogures elaborados con leche de cabra y mezcla de leche de cabra/vaca al 50% respectivamente. Mientras que Şenel y cols., (2011) hallaron una media de 3,97 en yogures de cabra y de 4,0 en yogures de vaca.

Kaminarides y Anifantakis (2004) compararon las características físico-químicas de un yogur de leche de cabra con otro de leche de oveja, hallado que el pH de los yogures de leche de cabra son significativamente más bajos que los de oveja.

Los resultados obtenidos en yogures no difieren mucho de los hallados en los kéfires, en el caso del de cabra, el pH fue de 4,11 y el de vaca de 4,23.

Rogelj y Perko (1980) señalan que el poder de acidificación de las bacterias ácido lácticas varía con el tipo de leche, siendo algunos cultivos de yogur más activos en la leche de cabra que otros en la leche de vaca, sin considerar el tipo de starter utilizado. Estos autores observaron que el pH del kéfir no varió durante el almacenamiento, el cual es posible gracias a la presencia de levaduras. Las bacterias del ácido láctico se multiplican y

producen ácido láctico y acético más lentamente en la mezcla con levaduras que en cultivo puro.

En un estudio realizado por Irigoyen y cols. (2005) se evaluó la influencia del porcentaje inoculado (1 y 5%) de granos de kéfir, sobre las características físico-químicas de estos productos, resultando que el kéfir inoculado al 1%, fue el que presentó los valores más altos de pH. Esto concuerda con lo indicado por Irigoyen y cols. (2003), que registraron diferencias significativas en el pH, durante la fabricación del kéfir, según el porcentaje de granos de kéfir agregados.

Por otra parte, Spreer y cols. (1991), establecen que el pH para leches fermentadas debe estar comprendido entre 4,2 – 4,7.

Todos los valores obtenidos se encuentran dentro de lo establecido por reglamentación (BOE, 2003) para productos fermentados, que indica que el pH debe ser igual o inferior a 4,6.

Según los resultados obtenidos en el análisis estadístico, si se encontraron diferencias significativas en el pH entre leches fermentadas de cabra y de vaca, comprobándose que los valores de pH en las leches fermentadas de cabra fueron significativamente más bajos.

b) Acidez

La acidez natural de la leche es debida esencialmente a la caseína, fosfatos y al CO₂ disuelto. La leche se acidifica progresivamente por la acción de fermentos lácticos que degradan la lactosa en ácido láctico.

Una leche fresca posee una acidez de 0,15 a 0,16%. Esta acidez se debe en un 40% a la anfotérica, otro 40% al aporte de la acidez de las sustancias minerales, CO₂ disuelto y ácidos orgánicos; y el 20% restante se debe a las reacciones secundarias de los fosfatos presentes. Para la leche de vaca, se establece como límite máximo permitido de acidez un valor de 0,20 g/100 ml.

Los valores de acidez pueden variar drásticamente en leches contaminadas, dado que los microorganismos forman ácido láctico a partir de la

lactosa, disminuyendo así el pH y aumentando la acidez. Por otro lado, la leche de muy baja acidez puede ser sinónimo de mastitis en el animal. El valor de acidez es por lo tanto un indicador de la contaminación microbiana. Una acidez menor al 0,15 g/100ml puede ser debido a la mastitis, al aguado de la leche o bien por la alteración provocada con algún producto alcalinizante (Chacón, 2004).

En leche de cabra, Le Mens (1993), establece que los valores normales de acidez se encuentran entre 0,16 a 0,18 g de ácido láctico/100 g (16 a 18°D). En nuestras muestras de leche cruda de cabra, la acidez media obtenida fue de $0,17 \pm 0,02$ g de ácido láctico, encontrándose dentro de los parámetros normales. En las leches comerciales de cabra, este valor es ligeramente superior, de $0,19 \pm 0,01$ g de ácido láctico, pero estas leches ya han sido sometidas a un tratamiento térmico.

Costa y cols., 2010, al igual que Chacón (2004) y Faría Reyes y cols. (1999), también determinaron la acidez en leche de cabra obteniendo valores comprendidos entre 0,15 g/100 ml y 0,17 g/100 ml.

En cuanto a la acidez obtenida en leches de vaca, la media fue de $0,17 \pm 0,02$ g/100 ml de ácido láctico, con un intervalo comprendido entre 0,15 a 0,19 g/100 ml de ácido láctico.

La acidez, tanto en leche fresca como en la tratada térmicamente, ha sido superior en leche caprina que en la bovina, tal como se establece en bibliografía.

Según los valores de significancia obtenidos en el análisis estadístico, no existen diferencias estadísticamente significativas en los niveles de acidez, tanto si son leches crudas o leches comerciales o si son de vaca o de cabra.

En las leches fermentadas, los resultados obtenidos fueron de $1,030 \pm 0,13$ g de ácido láctico (97,4°Dornic °D), para yogures comerciales de leche de cabra y $1,040 \pm 0,20$ g de ácido láctico (98,1°D) para yogures comerciales de leche de vaca. Sin embargo la acidez de los kéfires resultó ligeramente menor, siendo de 0,871 g ácido láctico (87,1°D) y 0,818 g ácido láctico (81,8°D) para kéfir de cabra y vaca respectivamente. En los yogures artesanales, la media

encontrada fue de $0,876 \pm 0,03$. Esto podría estar relacionado con el tipo de cultivo empleado en la fermentación.

Oliveira y cols. (2009), obtuvieron una acidez de 0,97% en una leche fermentada de cabra, mientras que la encontrada por Farnsworth y cols. (2006), fue del 0,78 % para un yogur elaborado a partir de leche de cabra.

Para leche fermentada de vaca, Ortega y cols. (2005), hallaron valores de 0,84 %, similar al obtenido por Pirkul y cols. (1997), que formularon un yogur de leche de vaca, enriquecido con sales de calcio, cuya acidez estuvo comprendida entre 0,85 y 1,07%. Ramchandran y Shah (2010), obtuvieron una acidez de 0,74 % en un yogur probiótico elaborado a partir de leche de vaca desnatada, estandarizada con 12 g de sólidos totales, mientras que en otra leche fermentada con el agregado de cadenas productoras de exopolisacáridos, la acidez fue de 0,86%. Valores ligeramente superiores fueron determinados por Şenel y cols. (2011) que obtuvieron una acidez media en yogures de vaca de 1,0 % y en yogures de cabra 1,18 g%.

Sin embargo, a pesar de esta diferencia, todos los valores concuerdan con lo descrito por Staff (2000) para yogures y leches fermentadas, que deben encontrarse entre 75 - 120°D (0,75 a 1,20 g de ácido láctico).

De acuerdo al análisis estadístico, si se compara el yogur con otras leches fermentadas, la medida de acidez presenta una diferencia estadísticamente significativa, ya que $p < 0,05$, siendo mayor en yogures que en kéfires y otras leches fermentadas. También se observaron diferencias estadísticamente significativas entre leches y leches fermentadas, siendo mayor en éstas últimas.

c) Densidad

La densidad de la leche no es un parámetro constante, pues depende de la cantidad de sólidos no grasos y de la proporción de grasa. Los valores medios en leche de vaca, determinados a una temperatura de 20°C, oscilan entre 1,028 y 1,036 g/ml. La densidad de las leches desnatadas es superior, mayor de 1,035 g/ml. La medida de densidad se ha utilizado mucho, entre otras

razones, y junto a la determinación de la materia grasa, para la detección de fraudes por aguado de la leche (Baró y cols., 2010).

El valor hallado en nuestras muestras fue de $1,033 \pm 0,01$ para la leche cruda de cabra y $1,034 \pm 0,035$ g/ml para las comerciales, tanto de cabra como de vaca. Todos estos valores se encuentran dentro de los parámetros normales, y a que en cabra es de 1,026 - 1,042 g/ml (Le Mens, 1993) y concuerdan con los hallados por Quiles y cols. (1994), que obtuvieron valores comprendidos entre 1,026-1,042 g/ml y Castagnasso y cols. (2007), que indican valores de 1,033 g/ml, todos en muestras de leche de cabra.

Slacanac Vandrán y cols. (2010), afirman que de acuerdo con los resultados de muchos estudios, la densidad de la leche de cabra es ligeramente más alta que la de vaca (1,029 – 1,039 en leche de cabra, frente a 1,023 - 1,0398 en leche de vaca), sin embargo en nuestros análisis los resultados fueron similares en ambos tipos de leches.

d) Materia grasa

Los lípidos son uno de los componentes más importantes de la leche en términos de coste, nutrición y por las características físicas y sensoriales que imparte a los productos lácteos (Tamime y Marshall 1997, Park y cols., 2007), así como por sus implicaciones nutricionales y tecnológicas (fabricación de natas, mantequillas, etc.) (Baró y cols. 2010). Tienen una notable influencia en el sabor, consistencia y textura de los productos lácteos (Bozanic y cols., 2002).

Es el componente más variable de la leche, tanto cuantitativa como cualitativamente, depende del estado de lactación, estación, raza, genotipo y alimentación (Raynal-Ljutovac y cols., 2008). La leche de cabra suele tener una mayor cantidad de grasa que la vaca aun que depende mucho de la raza caprina de la que se trate, llegando algunas hasta un 5,5%.

Los glóbulos grasos de la leche de cabra, además de tener un diámetro más pequeño, están mejor distribuidos en comparación con los de vaca (Mehaia 1995; Attaie y Richter, 2000). Por esa razón, la leche de cabra es más

digestible y su metabolismo es más eficiente en el tracto intestinal humano en comparación con la de vaca. A pesar de que el contenido graso suele ser más alto en la leche de cabra, se considera que ésta es más digestible por poseer glóbulos grasos más pequeños (Park, 1994) y una proporción mayor de ácidos grasos de cadena corta y media (Minervini y cols., 2009).

En referencia al contenido porcentual de grasa, existe gran variabilidad de datos en bibliografía referidos a leche de cabra, entre 4,50 y 4,80 g/100 ml (Quiles, 1994; Barba y cols., 2001; Salvador y cols., (2006) y Vargas y cols. (2008); mientras que Güler-Akın y cols. (2007), enuncian una media de 3,1 g/100 ml, similar a lo hallado por Carnicella y cols. (2008), de 3,5 % de materia grasa; por el contrario, Sanz Ceballos y cols. (2009) hallaron valores superiores, de 5,2 g/100 ml.

Otros estudios como el publicado por Costa y cols., (2010) indican una media de 3,84 g/100 ml de grasa en leche de cabra. Minervini y cols. (2009) revelan valores de 4,6 g/100 ml de grasa para la leche de cabra y de 3,3 g/100 ml para la leche de vaca.

Según las tablas de composición química de alimentos publicadas por CESNID (2004), Mataix-Verdú, (2009); Moreira y cols., (2011) y Jiménez y cols., (2002), la leche de cabra posee entre el 3,9 al 4,5 % de materia grasa.

En nuestros análisis, la media de materia grasa encontrada en leche cruda de cabra, fue de $4,96 \pm 0,74$ g/100 ml, con un intervalo comprendido entre 3,20 a 6,20%, siendo similares a los valores dados por estos autores antes mencionados. Mientras que en las leches comerciales tanto de cabra como de vaca, al ser semidesnatadas, su valor es menor, de $2,05 \pm 0,07$ y $1,77 \pm 0,25$ %, respectivamente.

En el caso de los productos fermentados, el contenido en grasas es el componente más variable, debido a que cada fabricante ajusta el contenido en materia grasa en función a sus expectativas comerciales y el tipo de producto, es así que existen en el mercado productos desnatados, semidesnatados, enteros y de elevado contenido graso como los yogures griegos.

El valor medio de grasas hallado en nuestras muestras fue de $5,25 \pm 0,41\%$ para el yogur comercial de cabra, $3,60 \pm 0,83\%$ para los artesanales y $4,58 \pm 1,14\%$ para los kéfires de cabra.

En los productos fermentados de vaca, se encontraron resultados más variables, $3,03 \pm 1,11\%$ en yogures y leches fermentadas por probióticas, elaborados a partir de leche entera, mientras que en los yogures del tipo griego, la media fue de $8,18 \pm 2,87\%$, con un mínimo de 2,01 y un máximo de 10,15%; por otro lado, en los yogures desnatados fue de 0%.

También se debe recordar que todos los productos comerciales elaborados con leche de cabra poseen mayor contenido graso respecto a los de vaca tradicionales, quizás debido a que en los de vaca se estandariza su contenido, y suele emplearse la nata para la elaboración de otros subproductos lácteos.

Algunos resultados obtenidos por otros autores en yogures de cabra fueron, 2,25% (Park, 1994), 3,02% (Farnsworth, 2006) y 7,10% (Güler, 2007).

Sin embargo, para productos elaborados a partir de leche de vaca, Mahout y cols. (2004), establecen que el contenido medio de grasas es de 3,5%.

Şenel y cols., (2011), hallaron una media de 4,4% en yogures de cabra y 3% en yogures de vaca.

e) Cenizas

El contenido en cenizas de un lácteo es el producto final resultante de la incineración del extracto seco, expresado en porcentaje de peso.

El contenido medio de cenizas en leche cruda de cabra fue de $0,74 \pm 0,02$ g/100 g, (0,68 - 0,77 g/100 g). Se encuentran dentro de los parámetros considerados como normales en leche de cabra y son bastante similares a los hallados por Vargas y cols., (2008) y Sanz Ceballos y cols., (2009) que obtuvieron un promedio de 0,76 g/100 g y 0,75 g/100 g, respectivamente. Sin

embargo, en la leche comercial de cabra, la media hallada fue de $0,84 \pm 0,02$ % y en la comercial de vaca, de $0,75 \pm 0,02$ %.

Costa y cols. (2010), encontraron una media de 0,81% en leche de cabra, al igual que Kaminarides y Anifantakis (2004), obtuvieron una media de 0,74 y 0,81% en dos razas de leche de cabra, mientras que Faría Reyes y cols. (1999) y Güler-Akın y cols. (2007), hallaron valores ligeramente superiores, de 0,83 % y 0,84%, respectivamente. Wszolek y cols., (2001), también analizaron el contenido de cenizas de la leche de cabra, previa a la elaboración de un kéfir, encontrando valores comprendidos entre 0,79 y 0,83%.

No hay distribución normal de los resultados para cenizas, en leches crudas y comerciales de cabra. Según ANOVA si existen diferencias estadísticamente significativas para el contenido de cenizas en muestras de leches cruda y comerciales de cabra ($p < 0,05$), siendo mayor el contenido de cenizas en las leches comerciales, esto podría deberse a que durante el tratamiento térmico de la leche comercial, se produce una ligera evaporación, con lo que el contenido relativo de cenizas aumenta.

En el caso de las leches fermentadas, la media encontrada fue de $0,76 \pm 0,05$ % y $0,83 \pm 0,09$ % para yogures y leches fermentadas de cabra y vaca respectivamente. En los kéfires, los valores fueron similares, de $0,75 \pm 0,01$ y $0,73 \pm 0,05$ % para kéfires de cabra y vaca, respectivamente.

Park (1994) obtuvo una media de 0,81%, Güler (2007), 0,79% y Farnsworth (2006), 0,70% en yogures de cabra. El contenido de cenizas hallado por Martín - Diana y cols. (2003), fue de 0,87% para leche fermentada de vaca y 0,86% para leche fermentada de cabra, ligeramente mayor al hallado por El Zubeir y cols., (2005), de 0,81% en yogur de vaca.

En los productos desnatados, los valores son ligeramente superiores debido a que al ser desnatados este porcentaje relativo aumenta. De acuerdo al análisis estadístico, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el contenido de cenizas en ninguna de las variables analizadas.

Estos valores obtenidos pueden considerarse como normales.

f) Extracto seco

Banda y cols. (1992), describen que el porcentaje de humedad y sólidos totales en la leche, se mantienen constantes durante la lactancia, mientras que los contenidos de g raso, proteína, cenizas, sólidos totales y no grasos aumentan ligeramente en la medida que disminuye la producción de leche, debido a la correlación negativa que existe entre los sólidos de la leche y la producción de la misma. En la medida que aumenta la producción de leche disminuyen sus componentes sólidos.

Por este motivo, existe una gran variabilidad de datos referidos al extracto seco en leche de cabra, comprendidos entre 12,25 a 15,9 g/100 ml leche. Así por ejemplo, Quiles, 1994; halló valores comprendidos entre 13,10 a 15,90%. Faría Reyes y cols., 1999, obtuvieron una media de 14,60% y Olszewski y cols., (2002), de 15,80%. El valor medio hallado por Güler-Akin y cols. (2007), fue de 12,25%, mientras que Vargas y cols. (2008) y Sanz Ceballos y cols. (2009), obtuvieron una media de 14,20 y 13,57%, respectivamente.

Por otro lado, Thomann y cols. (2008) encontraron valores medios de materia seca, bastante más bajos, de 8,50 a 9,30% y Costa y cols. (2010), de 11,98%.

Al realizar nuestros análisis se ha obtenido una media de extracto seco para leche cruda de cabra de $13,29 \pm 1,09$ %, por lo que puede considerarse dentro de los parámetros normales. Sin embargo, en las leches comerciales, tanto de vaca como de cabra, se encontraron valores inferiores, de $10,84 \pm 0,29$ % y $10,70 \pm 0,49$ % para cabra y vaca, respectivamente.

No hay distribución normal de los resultados para extracto seco, en leches crudas y comerciales de cabra. Según el ANOVA si existen diferencias estadísticamente significativas para el contenido de extracto seco en muestras de leches cruda y comerciales de cabra ($p < 0,05$). Esto podría ser debido a que la leche cruda contiene toda su grasa, mientras que las comerciales son semidesnatadas, por lo que el extracto seco es menor.

Con respecto a las leches fermentadas, existen ciertas características de calidad como un cuerpo débil, textura pobre, separación del suero y variaciones en la consistencia debido al bajo contenido en sólidos totales. Para solucionar

estos problemas, muchos yogures son formulados incorporando hidrocoloides para impartir la estabilidad o el efecto gelificante deseado. Estas características son más importantes en yogures desnatados o bajos en grasa. Por lo tanto, uno de los pasos más importantes en la producción de yogures de bajo contenido g raso es aumentar el contenido de sólidos totales mediante la adición de diferentes fuentes de proteínas lácteas. Es común usar leche desnatada en polvo para fortificar el yogur, pero también otros ingredientes secos de proteínas de leche, como productos del suero y caseinatos. El agregado de estas proteínas lácteas, es importante para proporcionar firmeza, cuerpo y reducir la separación del suero (Tamime y Robinson, 2007; Isleten y Karagul-Yuceer 2006-2008). Todo esto provoca que a la hora de evaluar la composición química de estos productos, tanto el contenido en extracto seco como en proteínas, sea mayor que en los productos no fortificados.

En nuestro análisis, la media obtenida en el extracto seco para los yogures de cabra, fue de $13,72 \pm 2,76$ g/100 ml, con un mínimo de 9,88 y un máximo de 17,67 g/100 ml. En yogures y leches fermentadas probióticas elaboradas a partir de leche entera de vaca, los valores fueron de $13,26 \pm 2,40$ para yogures y $13,76 \pm 3,26$ % para probióticos, con un intervalo comprendido entre 10,85 - 20,84 g/100 ml.

El mayor contenido de extracto seco en contrado corresponde a las muestras de yogures griegos de vaca, con una media de $21,76 \pm 4,00$, esto es atribuido principalmente a que este tipo de producto lleva el agregado de nata y leche en polvo, a fin de obtener la consistencia y textura adecuada. Agnihotri y Prasad (1993), afirman que la mejor forma y la más económica de lograr buen cuerpo, textura y flavor en la producción de yogur de leche de cabra, es suplementarlo con leche en polvo de vaca.

Kaminarides y Anifantakis (2004) observaron que los yogures de leche de cabra presentaron mayor sinéresis con respecto a los de oveja, como consecuencia de un bajo contenido de sólidos totales.

Park (1994), obtuvo un valor medio de 11,50% en yogures de cabra comercializados en U SA. Martín-Diana y cols. (2003), hallaron 14,20% y 14,30% de extracto seco en leches fermentadas de vaca y cabra,

respectivamente, mientras que Güler (2007), publica una media de 17,82 g/100 ml en yogur de cabra.

Sin embargo, en yogures de leche de vaca, Tamime y Robinson (2007), establecen que en la composición típica de los mismos, el valor de sólidos totales es de 18,1 g/100g de producto, encontrándose dentro del intervalo hallado en nuestro estudio, no así con la media.

En lo que respecta al extracto seco de kéfirs, Rigoyen y cols. (2005) obtuvieron una media del 11,7% en kéfirs elaborados a partir de leche de vaca. En nuestro estudio, la media de los kéfirs de cabra fue de $13,23 \pm 0,22$ % y la de los kéfirs de vaca, de $9,82 \pm 1,09$ %.

Si se compara el kéfir con el yogur de cabra, puede observarse que el yogur posee mayor extracto seco respecto al kéfir, esto podría deberse al agregado de sólidos en el yogur y no en el kéfir, debido a que una de las diferencias principales entre estos productos es que en este último la consistencia debe ser líquida, mientras que en el otro debe tener más cuerpo.

A pesar de la gran variabilidad de datos obtenidos en las diferentes muestras analizadas, estos valores se encontrarían dentro de lo normal, ya que la normativa BOE, indica que el contenido mínimo de extracto seco magro sea de 8,5 g/100 ml.

Según los resultados obtenidos en el análisis estadístico, el extracto seco presenta diferencias estadísticamente significativas si se considera el tipo de cultivo iniciador (bacterias del kéfir, bacterias específicas del yogur, bifidobacterias y otras bacterias ácido lácticas), siendo significativamente más altas en los productos elaborados con otras bacterias probióticas diferentes a las del yogur y le siguen los yogures tradicionales, mientras que el contenido más bajo fue encontrado en los kéfirs.

g) Proteínas

Las proteínas lácteas desempeñan uno de los roles más importantes en la producción de muchos productos lácteos, siendo algunas de ellas ampliamente utilizadas en otras ramas de la industria alimentaria (Kinsella y cols. 1989). Por

el contrario, el impacto nutricional de las proteínas de la leche en la salud humana es bien conocida (Mulvihill y Fox 1989; Tratnik 1998).

El contenido total de proteínas es uno de los principales criterios de calidad que se aplican a la leche de cabra al momento de establecer el pago de la misma (Raynal-Ljutovac y cols., 2005; Pirisi y cols., 2007). La cantidad total puede encontrarse entre 2,60 % a 4,10 % (Pirisi y cols., 2007 y Psathas, 2005).

Una característica importante de la leche de cabra es que su composición proteica varía de una raza a otra, debido a la variabilidad genética que caracteriza a este animal (Martin, 1996). Así para leches crudas (sin tratamiento térmico) se observan en bibliografía valores de proteína totales, de 3,11 a 3,91 g/100g para las razas granadina y de 3,49 a 3,73 g/100g en la raza granadina-murciana (González-Crespo, 1995). En cambio Peláez-Puerto y cols. (2004) en un estudio que tiene en cuenta la variabilidad estacional, dan valores ligeramente más altos, comprendidos entre 3,85 y 3,96% en leche de cabra de la isla de Tenerife (Canarias, España), llegando en algunos casos a valores superiores a 4,0 % en verano.

En otros estudios en muestras de leche de cabra, Costa y cols. (2010), obtuvieron una media de 3,11%, mientras que Sanz Ceballos y cols., (2009), Güler-Akın y cols., (2007), Vargas y cols., (2008), y Castagnasso y cols. (2007) hallaron un promedio de 3,48%, 3,55, 3,62 y 3,67%, respectivamente.

Según el código alimentario español, el contenido mínimo de proteínas en leche de cabra debe ser de 3,80%.

No obstante algunos autores describen que la composición proteica total es muy similar en las leches bovina y caprina. R Jordan y cols., (1998) encontraron valores similares de proteínas de 3,30 g/100 ml para ambas leches y Ordóñez y cols., (1998) da para leche de vaca valores entre 3,10 y 3,90 g/100 g, mientras que para cabra, los mismos son sensiblemente superiores, de 4,20 g/100g.

Los resultados obtenidos por Ramírez-Santiago y cols., (2010), en un yogur de leche de vaca, elaborado con fibra y en otro sin fibra, utilizado como

control, la media de proteínas fue de 3,1% en el control y de 2,6 % en el de fibras.

En nuestro estudio, se han obtenido valores medios similares a los referidos por otros autores tanto en leche de cabra comercial ($3,50 \pm 0,14$ g/100g) como cruda ($3,64 \pm 0,33$ g/100g), con un intervalo comprendido entre 3,23 a 4,74%, frente a $3,30 \pm 0,10$ g/100g en leche de vaca, si bien se debe considerar que las leches comerciales son semidesnatadas, por lo que la concentración relativa de proteínas debería ser mayor, resultado que si embargo no hemos apreciado en nuestro estudio.

Según los resultados obtenidos en el análisis estadístico, no hay distribución normal de los resultados para proteínas, en leches crudas y comerciales de cabra. Tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas para el contenido de proteínas en muestras de leches cruda y comerciales de cabra, ni entre vaca y cabra ($p > 0,05$).

Los valores de proteínas reportados en las tablas de composición de alimentos la leche de cabra superan ligeramente a la de vaca, siendo la media de todas ellas de 3,50 y 3,30 g/100 ml, respectivamente (Mataix, 2009; Jiménez, 2002; Moreiras, 2011; Ortega Anta y cols., 2010).

Al revisar los datos de composición de leche de vaca semidesnatada sometida a proceso UHT, encontramos valores comprendidos entre 3,40 a 3,50% en las tablas del Ministerio de Agricultura (1999), Mataix, J. (2009) y las de Jimenez, (2002).

Según un estudio realizado por Olalla y cols. (2007), sugieren que todos estos datos referidos en las tablas de composición de alimentos, son ligeramente superiores a los encontrados en sus muestras de leche de vaca, e incluso superiores a las declaradas por los propios productores (centrales lecheras), lo cual les hace sospechar de la posible utilización de técnicas de ultra-filtración en la obtención de concentrados proteicos para la elaboración de quesos y yogures previos a la elaboración y comercialización de este tipo de leches. Si embargo en nuestro estudio no son superiores, si no son más o menos iguales y similares a los que figuran en la etiqueta de la caja.

Los datos medios de los productos elaborados con leches entera de vaca fueron de $3,54 \pm 0,80$ % para yogures, $3,29 \pm 0,58$ % para los probióticos y $3,14 \pm 0,24$ para kéfires, similares a los productos de cabra elaborados a partir de leche entera, de $3,32 \pm 0,21$ % en yogures, $3,40 \pm 0,03$ % en probióticos y $3,29 \pm 0,35$ % en kéfires.

No se encontraron diferencias entre vaca y cabra, ni entre artesanales y comerciales, pero sí en griegos y desnatados que la media, es ligeramente superior, siendo de $4,44 \pm 1,45$ y $4,02 \pm 0,47$ %, respectivamente. Específicamente en el caso del yogur griego "Kolios", el contenido de proteínas fue de 6,80% para el que posee un 2% de materia grasa y 5,84% para el que tiene 10% de materia grasa. Por otro lado, los productos fermentados como Danacol, Benecol, Danaten, Essensis, etc, cuya consistencia es líquida, presentaron valores de proteínas similares a los de yogures y probióticos, comprendidos entre 2,35 a 3,91%.

Según los resultados obtenidos en el análisis estadístico, los niveles de proteínas presentan diferencias estadísticamente significativas si se considera el tipo de cultivo iniciador (bacterias del kéfir, bacterias específicas del yogur, bifidobacterias y otras bacterias ácido lácticas), apreciándose que es mayor la concentración en yogures.

Según Mahout y cols. (2004), el contenido medio de proteínas de un yogur natural de leche de vaca es entre 3,80 y 4,15%. Martín-Diana y cols. (2003) indican un valor de 3,71 % en leches fermentadas de vaca y 3,95 % en leches fermentadas de cabra. Dave y Shah, (1998) hallaron valores de 3,85% de proteínas en yogures elaborados con leche de vaca adicionados con 2% de leche en polvo.

Otros autores encontraron en yogures de cabra una media de 3,99% (Park, 1994), 3,07% (Farnsworth, 2006) y 3,67% (Oliveira y cols. 2009).

Según los datos proporcionados por las tablas de composición química de alimentos, el contenido de proteínas en yogures naturales enteros va desde 3,30 a 4,20%, mientras que en los yogures desnatados, es ligeramente superior, con valores comprendidos entre 4,40 a 5,60% (Tablas de composición

de alimentos. SENBA. 2010, Mataix-Verdú y cols., 2009; Moreiras y cols., 2011; Palma y cols., 2008; Jiménez Cruz y cols., 2002).

h) Hidratos de carbono

Es el componente mayoritario del ex tracto se co m agro l ácteo, es un nutriente de gran valor nutricional, debido a que favorece la absorción intestinal de calcio, magnesio y fósforo y la utilización de la vitamina D (Santos y García, 2003).

El co ntenido en l actosa se determina i ndirectamente, una v ez desproteinizada la leche, por valoración de la cantidad de halógeno reducido al final de la reducción entre lactosa y yoduro potásico-cloramina T.

A diferencia de la leche de vaca, la cantidad de l actosa de la leche de cabra su ele i ncrementarse mediante el e mpleo d e su plementos oleaginosos administrados a la cabra (Chilliard y cols., 2005).

Para la leche de vaca, la legislación estima que el contenido en lactosa no sea i nferior a 4,20 g /100 g . El co ntenido de l actosa en l eche de ca bra es aproximadamente 0 ,2 – 0,5% menos que en l a l eche d e vaca (Haenlein y Caccese, 1984; Chandan y cols., 1992). Según Richardson, (2004), si se l a compara con la de otras especies animales, el contenido de lactosa es bajo en la leche de cabra (de 1 a 13% menos que la de vaca y hasta 41% menos que la humana), l o c ual está d i rectamente r elacionado co n q ue este t i po d e l eche presente menos problemas asociados a la intolerancia.

En l as tablas de c omposición de alimentos, el v alor de hi dratos de carbono en leche de cabra es de 4,40 g/100 ml (CESNID, 2003), 4,50 g/100 ml (Mataix-Verdú, 2009 y Moreira y cols., 2011) y 4,60 g/100 ml en las tablas de Jiménez y cols., 2002). Mientras que en estas mismas tablas, el contenido de hidratos de carbono en leches de vaca, es ligeramente superior, de 4 ,60 a 5,00%.

Según Quiles y cols. (1994) los valores normales de lactosa en leche de cabra se enc uentran entre 4, 40 - 4,70 g /100 ml aunque pu eden v ariar escasamente a lo largo de la curva de lactación.

Zăn (2006), obtuvo un valor comprendido entre 4,02 y 4,36%, mientras que Paccard y Lagriffoul (2006a, b), Güler-Akin y cols. (2007) y Vargas y cols., (2008) hallaron valores ligeramente superiores, de 4,80%, 4,70 % y 5,00 %, respectivamente.

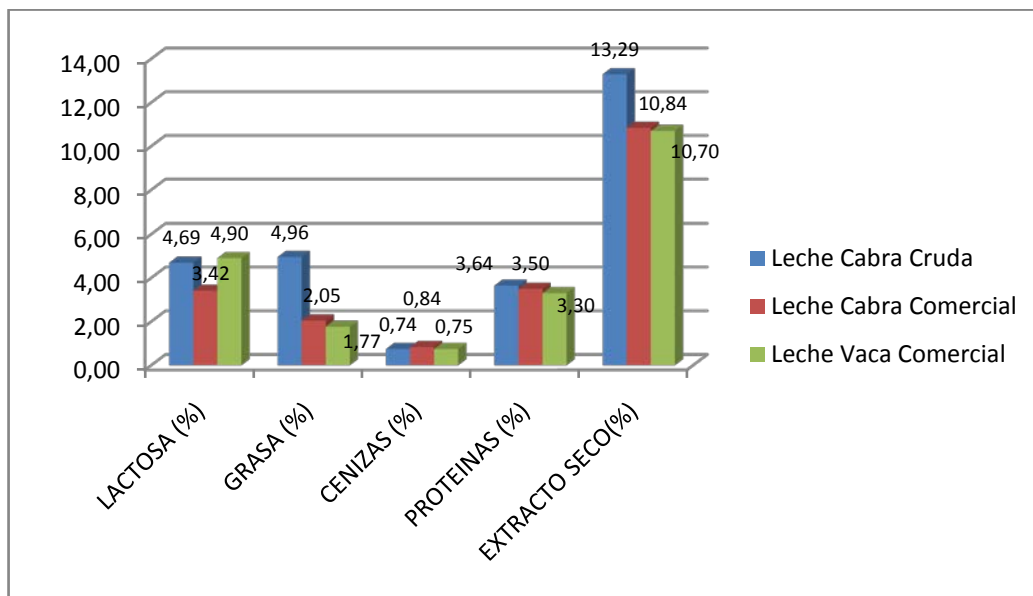
En nuestro trabajo, la cantidad de **carbohidratos** encontrada fue de $4,69 \pm 0,91$ g/100 ml para leche cruda de cabra, con un intervalo comprendido entre 3,80 - 5,96%. En las leches comerciales se ha obtenido una media de $3,43 \pm 0,22$ % para la leche de cabra, mientras que el contenido de carbohidratos en la leche de vaca fue bastante más elevado, de $4,90 \pm 0,13$ %.

La diferencia observada entre la leche cruda y la comercial, siendo el valor de ésta última menor, podría estar relacionada con la temperatura empleada en el tratamiento de higienización de la leche (proceso UHT) al que se someten las leches comerciales (temperaturas entre 130 y 145 °C), que degradarían la lactosa. Concretamente, se sabe que a temperaturas superiores a 130 °C se produce la caramelización de la lactosa y al mismo tiempo la Reacción de Maillard, por combinación de este azúcar con los componentes nitrogenados de la leche, específicamente entre el grupo carboxilo de la lactosa y los grupos aminos libres de las proteínas o aminoácidos (Nasanovsky y cols., 2001).

Por tanto, los valores obtenidos en nuestro análisis se encuentran dentro de los niveles normales considerando los estudios anteriormente citados.

Según el análisis estadístico, si existen diferencias estadísticamente significativas para el contenido de lactosa en muestras de leches cruda y comerciales de cabra ($p > 0,05$), siendo significativamente más elevados en las leches crudas.

FIGURA 14. Composición química de los diferentes tipos de leches analizados.



En leches fermentadas, el contenido de hidratos de carbono, al igual que el de materia g rasa, es muy variable, de bido a que está en f unción de las características del producto y de l a modalidad empleada por cada fabricante, existiendo pr oductos azucarados, ot ros sin el ag regado de az úcar y otros edulcorados.

En nuestro estudio, la cantidad media de carbohidratos del total de leches fermentadas de vaca fue de $7,56 \pm 3,28$ %, con un mínimo de 3,09% y un máximo de 17,45%, mientras que la media del total de leches fermentadas de cabra fue de $4,84 \pm 0,54$ %, con valores comprendidos entre 3,78 a 8,47%. El amplio intervalo existente se debe a que algunos productos elaborados a partir de leche de vaca, eran azucarados y otros no, y en el caso de los de cabra, eran todos de sabor natural sin el agregado de azúcar.

Comparando l os r esultados o btenidos en l echas fermentadas d e ca bra con los hallados por otros autores, se puede apreciar que nuestras muestras presentaron valores ligeramente superiores. A sí por ej emplo, Park (1994) obtuvo un a m edia de 4,49 % , mientras que el pr omedio de c arbohidratos encontrado por Gambelli y cols. (1999), fue del 4,60% para yogur de leche de

cabra y para otras leches fermentadas obtenidas a partir de leche de vaca los valores estuvieron comprendidos entre 3,50 y 3,80%.

En el caso de los kéfires, pudo observarse que tienen un contenido en hidratos de carbono bastante menor respecto a los yogures, así la media hallada en el kéfir de cabra, fue de 4,61% y mientras que en el de vaca, fue de 3,96%.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el contenido de lactosa de las leches fermentadas analizadas, al compararlas según el origen, según el contenido graso y según el tipo de cultivo iniciador.

2. METODOS ENZIMÁTICOS

a) Lactosa y galactosa

La leche de cabra es significativamente más rica en lactosa derivada de los oligosacáridos, en comparación con la leche de vaca, los cuales son beneficiosos para la nutrición humana debido a su efecto prebiótico (Kunz y cols. 2000).

Las leches fermentadas pueden ser un buen alimento en la dieta de personas intolerantes a la lactosa, ya que el contenido en lactosa disminuye, y los niveles de β galactosidasa aumentan como resultado de la fermentación (Zourari y Anifantakis, 1988).

El 30% de la lactosa es transformada en galactosa y ácido láctico por acción de las bacterias lácticas. La presencia de bacterias lácticas viables en el yogur permite una mejor asimilación de la lactosa en personas deficitarias en lactasa. Esto se debería a la inducción de la actividad lactásica de la mucosa intestinal, por las bacterias vivas, y a la liberación de lactasa en el tránsito intestinal; que mantendría su capacidad para hidrolizar la lactosa durante al menos 12 horas (Mahaut y cols. 2004). Por tanto, los productos lácteos fermentados se deben considerar en la formulación de dietas para personas intolerantes a la lactosa (Alm, 1982).

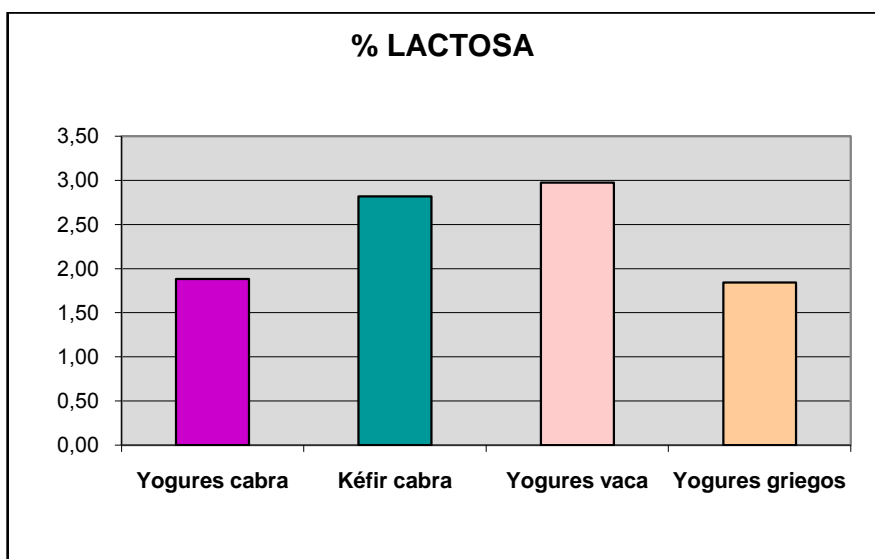
La fermentación reduce el contenido de lactosa, pero el proceso no se desarrolla hasta que se agotan los azúcares, porque el pH sería excesivamente bajo y el producto demasiado ácido. Cuando el contenido en ácido láctico alcanza aproximadamente el 0,90%, la fermentación se detiene por refrigeración. En ese momento se ha hidrolizado aproximadamente el 20% de la lactosa de la leche.

En el yogur natural, la lactosa es el azúcar dominante (4 - 5%), pero también contiene trazas de diversos mono y disacáridos.

La razón del elevado contenido en lactosa, aún después de la fermentación, estriba en que normalmente se suele adicionar a la leche un 14-16% de extracto seco lácteo, lo cual representa un 7% de lactosa (Tamime y Robinson, 2007).

En nuestro estudio, se han analizado muestras de yogures y kéfir comerciales de leche de cabra y vaca. Los valores medios de azúcares totales expresados en porcentaje de lactosa fueron de $3,59 \pm 0,33\%$, $4,07 \pm 0,63\%$, $3,08 \pm 0,73\%$ y $3,42 \pm 0,13\%$; de media en los yogures de cabra, vaca, yogures griegos y kéfir, respectivamente, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre las muestras según los diferentes tipos de cultivos fermentadores.

FIGURA 15. Contenido de lactosa de las muestras analizadas



Si observamos la composición de la leche de partida, la leche de cabra tiene una cantidad de lactosa de 5,02% mientras que la de vaca contiene un 4,84% de lactosa (Vargas y cols., 2008).

Existen pocos datos en bibliografía sobre los azúcares en las leches fermentadas, la media encontrada por Farnsworth y cols. (2006) fue de 4,25% para un yogur de leche de cabra, mientras que Lamoureux (2002) analizó el contenido de azúcares hasta los 28 días de almacenamiento de un yogur de leche de vaca, hallando valores comprendidos entre 5,11 y 4,54%. Martín-Diana y cols. (2003), obtuvieron un valor de 2,18% de lactosa para leche fermentada de vaca y 1,19% para leche fermentada de cabra. Oliveira y cols. (2009), hallaron valores de 38,0 mg/g (3,8 g %) de lactosa en yogures elaborados con leche de vaca.

Los trabajos publicados por Renner y Renz-Schaven (1986) y Hallé y cols., (1994) sostienen que el porcentaje medio de lactosa total en estas leches fermentadas es de 4%.

Irigoyen y cols. (2005) obtuvieron una media de 3,51 y 3,41% de lactosa en muestras de kéfirs de leche de vaca, cultivados con una proporción del 1 y 5% de granos de kéfir, respectivamente.

Por otra parte también se ha analizado la galactosa en las diferentes muestras obteniendo un $1,64 \pm 0,63$ %, $0,68 \pm 0,25$ %, $0,63 \pm 0,28$ % y $0,37 \pm 0,18$ % de media en los yogures de cabra, vaca, yogures griegos y kéfir respectivamente, comprobando que existen valores bastante superiores en el caso de los yogures comerciales de leche de cabra. Sin embargo, Alm (1982) no detectó la galactosa en las muestras de kéfir. Esto se debe a que la galactosa formada por la hidrólisis de la lactosa es empleada por la microbiota del kéfir para formar *kefiran*, polímero de kéfir, utilizados para favorecer la formación de los nuevos gránulos durante el proceso de fermentación.

Algunos trabajos anteriores sostienen que la composición química del kéfir es variable y no está bien definida (Zubillaga y cols., 2001).

Martín-Diana y cols. (2003) obtuvieron una media de 2,18 % y 1,19% de lactosa, en leches fermentadas de vaca y cabra, respectivamente.

Alm (1982) observó en un kéfir inoculado al 4%, en el que los niveles de lactosa se mantuvieron constantes durante el período de almacenamiento de 16 días y afirma que la lactosa es consumida durante el período de 24 horas de fermentación, y los niveles de lactosa disminuyen en un 20-25% con respecto a los niveles iniciales presentes en la leche.

Shapiro y Silnikove (2010), encontraron en yogures naturales que el contenido de lactosa estuvo comprendido entre 3,078 a 3,60 g/100 ml, mientras que en probióticos fue mayor, de 4,62 a 6,23 g/100 ml. Esto indicaría que las bacterias ácido lácticas (BAL) del yogur poseen mayor actividad ácido láctica que los productos adicionados con otras bacterias. En cuanto a la concentración de galactosa, en probióticos se determinó una concentración de 1,08 a 1,44 g/100 ml, un 0,3 - 0,4% inferior a la de los yogures naturales, comprendida entre 1,64 a 2,17 g/100 ml.

Durante la elaboración del yogur, la concentración de galactosa suele aumentar considerablemente, del 0,2% presente en la leche al 0,9 - 3,1% en el producto final (Toba y cols., 1982; Lamoureux y cols., 2002; Sarkar, 2008). Esto refleja principalmente la formación de oligosacáridos, incluyendo, galactooligosacáridos, durante la fermentación. Por lo tanto, el contenido de galactosa puede servir como un criterio indirecto para conocer la masa de BAL.

b) Ácido láctico

El catabolismo de la lactosa por el *S. thermophilus* y el *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, resulta en la producción de ácido láctico, quien le aporta el característico y distintivo sabor al yogur (Tamime y Robinson, 2007). Este catabolismo, genera compuestos que participan en el aroma y sabor. El principal es el ácido láctico, responsable de la acidez característica de todos los productos lácteos fermentados, pero también se forman otras sustancias como diacetilo, acetaldehído, péptidos, acetato, dióxido de carbono, etanol, etc. Además de su contribución al sabor, se le atribuye una mejora en la absorción cálcica, una inhibición de microbiota patógena e incluso un aumento de la secreción intestinal (Rivas-Gonzalo, 2009).

Se pueden producir distintos isómeros de ácido láctico, L⁽⁺⁾ y D⁽⁻⁾. La relación entre dichas formas, puede emplearse como control de calidad del producto (Tamime y Robinson, 2007)

Las bacterias pueden producir tanto D⁻ y L⁻ lactato y un grupo de bacterias comúnmente conocidas como bacterias ácido lácticas (BAL) producen lactato como el principal producto metabólico final de la fermentación de hidratos de carbono (Salminen y cols. 2004).

El yogur es un producto lácteo obtenido mediante la fermentación de la lactosa de la leche por BAL para producir ácido láctico (Tamime y Robinson, 2007).

Otros productos lácteos, llevan añadidos otros cultivos vivos de BAL como *L. acidophilus*, *L. casei* y especies de *bifidobacterias*, que son comúnmente conocidas como probióticos. Las bacterias mencionadas producen sobre todo L-lactato como principal producto final (Sarkar, 2008).

El *Streptococcus thermophilus* lleva a la formación de ácido L-láctico, mientras que el *Lactobacillus bulgaricus* produce ácido D-láctico (Feller, 1990; Sarkar, 2008).

La cantidad de ácido L-láctico y de ácido D-láctico dependen de la intensidad de la fermentación de las dos especies, cuyo papel y significado en la alimentación humana son conocidos (Homons, 1999).

Desde el punto de vista químico es fundamental poder determinar separadamente los dos estereoisómeros (L-láctico y D-láctico), para lo que se ha utilizado un método enzimático.

Los valores medios de ácido láctico total han sido 1,06% ± 0,85, 1,16% ± 0,22, 1,07 ± 0,19 % y 1,03 ± 0,08 % para los yogures de cabra, vaca, yogures griegos y kéfir respectivamente, no habiendo diferencias significativas entre unos grupos y otros.

El contenido en ácido L-láctico hallado va desde 0,34% en una muestra de yogur griego, a 1,28% hallado en una muestra de yogur de vaca comercial. En cuanto al contenido de ácido D-láctico encontramos el mínimo en un yogur comercial de vaca (0,01%) y el mayor porcentaje en un yogur griego (0,52%).

Es importante destacar que en todos los casos se observó un porcentaje mucho mayor en el contenido en ácido L-láctico, en comparación con el D-láctico, salvo en el caso de los yogures griegos, en el que no se diferencia significativamente el contenido de ambos isómeros e incluso en una de las muestras el porcentaje de D-láctico es mayor al L-láctico. Esta apreciación coincide con el artículo publicado por Bizzozero y cols. (2001) en el que se destaca la prevalencia general del ácido L-láctico, presente en cantidad significativa en todas las muestras, con respecto al D-láctico.

Los valores de ácido láctico encontrados por Herrero y Requena (2006), fueron de 0,70% para yogur de cabra y vaca y 0,77% para yogur de cabra suplementado con proteínas del suero, este valor mayor se debe a que las bacterias ácido lácticas crecen mejor al añadir este concentrado proteico (Martín-Diana y cols. 2003).

Agnihotri y Prasad (1993), observaron que ajustando el contenido de sólidos totales a un nivel del 15% en la leche de cabra, con leche en polvo desnatada de vaca, se mostró un aumento en la tasa de producción de ácido láctico y una reducción de la tasa de producción de acetaldehído.

Para Bizzozero y cols. (2001), el ácido D-láctico resulta ausente o presente en pequeña cantidad, inferior a 0,10 g/100g en el 46,7% de las muestras analizadas y el contenido de ácido L-láctico oscila entre un mínimo de 0,46 g/100g y un máximo de 1,25 g/100g. Además, para las 3 muestras de yogur griego que se analizaron, el ácido L-láctico no fue relevante analíticamente o se encontraba presente en pequeña cantidad.

Por último, algunos ensayos realizados en muestras de kéfir indican que el ácido láctico es uno de los productos mayoritarios formados durante la fermentación (Zourari y Anifantakis, 1988), siendo su contenido medio del 1% (Renner y Renz-Schaven, 1986; Hallé y cols., 1994).

Según Tamime y Robinson, (2007), el yogur contiene normalmente un 45 - 60% de ácido L⁽⁺⁾ láctico y un 40 - 55% de ácido D⁽⁻⁾ láctico.

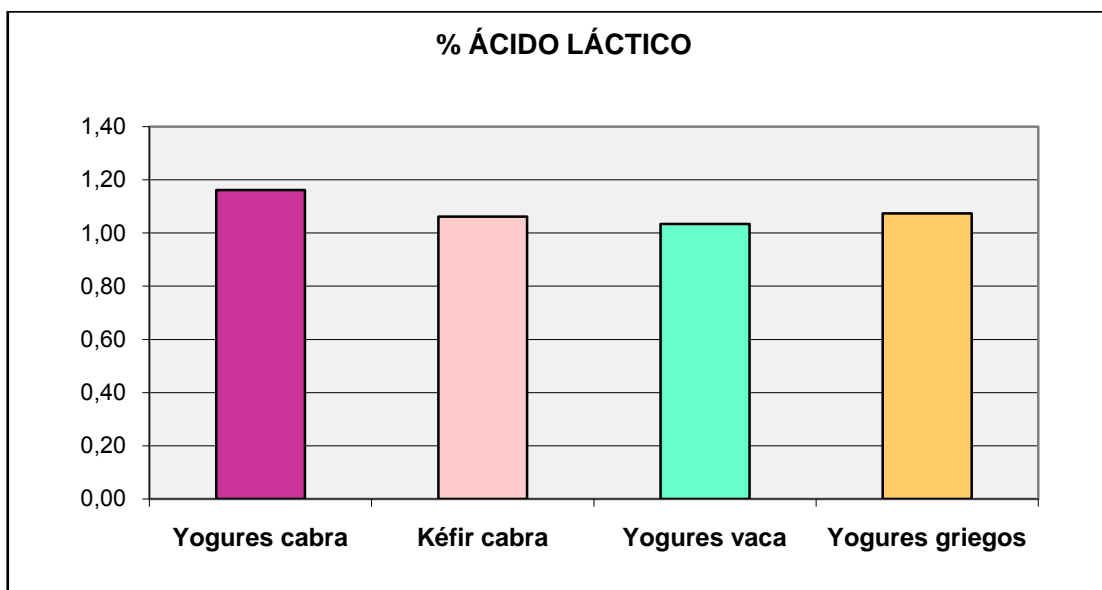
Güler-Akin y Akin (2007), hallaron que la acidez media en muestras de yogur natural, fue mayor que en otras muestras adicionadas con otras bacterias

ácido láctico. Esto se debe a que cuando a los cultivos del yogur se le adicionan otras bacterias, se inhibe el crecimiento del *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, que es el principal responsable de la producción de ácido en el yogur (Dave y Shah, 1997). Como resultado de esto, los valores de acidez en leches fermentadas probióticas son menores que en el yogur tradicional.

Shapiro y Silnikove, (2010), obtuvieron un rango comprendido entre 0,676 % a 1,045 % de L-lactato y 0,261 a 1,099 % de D-lactato en muestras de yogures naturales. Sarkar (2008), explica que el mayor contenido de L-lactato en los yogures naturales puede estar relacionado con la mayor actividad del *S. thermophilus* (productor de L-láctico) sobre *Lactobacillus subsp bulgaricus* (productor de D-láctico) en mayoría de los cultivos de yogur. El predominio de la L-lactato es nutricionalmente ventajoso, ya que D-lactato no tiene significado fisiológico en el metabolismo celular, de ahí su valor nutricional se limita a mejorar la digestión de la caseína en el intestino. La concentración de D-lactato en yogures se podría reducir mediante el aumento de la proporción de *S. thermophilus* e introduciendo *Lactobacillus casei subsp casei* (Sarkar, 2008).

Serra y cols., (2009), analizaron varios yogures y observaron que el contenido de ácido láctico aumentó en todas las muestras, como resultado de la actividad continua de los cultivos starters, aunque este aumento fue mayor entre el día 1 y el 14, mientras que a partir del día 14 hasta el final del periodo de almacenamiento comenzaba a decrecer. Hungenholtz y cols. (2000), indican que a un pH aproximado a 4,5, las bacterias del yogur disminuyen la utilización de lactosa debido un cambio en la ruta metabólica, hacia la producción de otros compuestos neutros.

FIGURA 16. Concentración porcentual de ácido láctico de las muestras analizadas



c) Acetaldehído

El acetaldehído es el componente volátil cuantitativamente más importante que se genera durante el proceso de fermentación (Romero del Castillo y Mestres Lagarriga, 2004). Es considerado como el principal componente del sabor de las leches fermentadas (Ott y cols., 1997) y es el que le confiere el típico aroma al yogur (Manca de Nadra y cols., 1988). Es uno de los compuestos claves para el aroma de las leches fermentadas. En adecuadas concentraciones contribuye a la calidad del producto, pero en una cantidad excesiva o insuficiente puede causar defectos (Lo y cols., 1996). Su velocidad de formación depende de la acidez, empieza a pH 5,0 y aumenta rápidamente hasta pH 4,3 - 4,4 (Romero del Castillo y Mestres Lagarriga, 2004).

En el yogur, tanto los compuestos carbonilos (acetaldehído y diacetilo) como los ácidos grasos libres, se ven influidos por el tipo de cultivo iniciador, el tipo y la calidad de la leche cruda, y las condiciones de incubación, enfriamiento y almacenamiento (Ott y cols., 2000).

A pesar de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* son las bacterias ácido lácticas para la producción de yogur, las

variaciones en las cepas afectan a la síntesis de compuestos de carbonilo (Tamime y cols., 2001; Zourari y cols., 1992). Esta última bacteria, es el principal productor de acetaldehído en el yogur. Sin embargo, el *St. thermophilus* también lo produce, pero su ruta metabólica es menos activa a las temperaturas habituales que se utilizan en la fermentación. La actividad de esta última bacteria puede potenciarse elevando la temperatura al pasar de 40°C a 45°C (Zourari y cols., 1992). Ott y cols., (2000) estudiaron la influencia de cada uno de los dos microorganismos del yogur en la producción de aroma, incubando la leche con cada uno de ellos por separado y con los dos juntos. Observaron que en la leche fermentada únicamente con *Lb. bulgaricus* el producto era muy similar al yogur producido con la presencia de los dos microorganismos, solo encontraron pequeñas diferencias entre las muestras, lo que sugiere que, al menos para las cepas que investigaron, es principalmente el *Lb. bulgaricus* quien proporciona las características de gusto y aroma al yogur y que el *St. thermophilus* tiene poca influencia en este aspecto.

Para aumentar la producción de acetaldehído, en general, se emplean el enriquecimiento y el tratamiento térmico de la leche, probablemente por el consiguiente aumento de aminoácidos libres y factores de crecimiento de lactobacilos (Tamime y Robinson, 2007).

En este trabajo se ha determinado acetaldehído por vía enzimática usando el kit adecuado cuyo procedimiento se basa en la oxidación cuantitativa del acetaldehído a ácido acético en presencia de la aldehído deshidrogenada y NAD.

El contenido en acetaldehído ha resultado en todas las muestras inferior a 30 ppm, a excepción de una muestra de yogur de vaca y otra de kéfir que presentaban 31,56 y 34,44 ppm respectivamente. La media del acetaldehído contenido en las muestras fue de $17,11 \pm 7,06$; $27,49 \pm 5,75$; $21,55 \pm 0,41$ y $24,89 \pm 7,02$ ppm para los yogures de cabra, vaca, griegos y kéfir respectivamente.

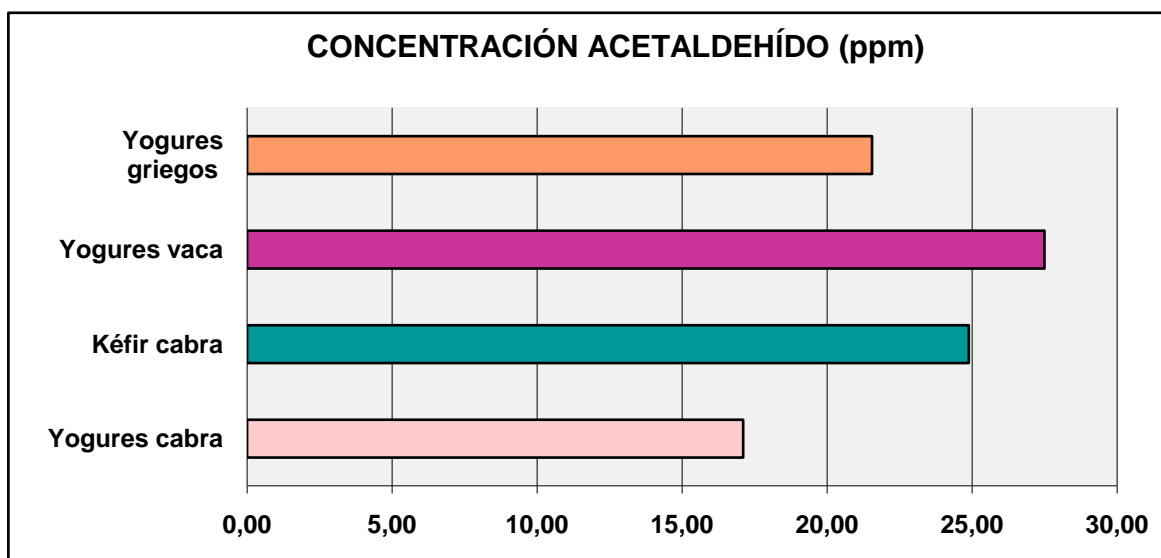
Estos datos son ligeramente superiores a los obtenidos por Bizzozero y cols. (2001), que analizaron también acetaldehído en diversas leches

fermentadas comerciales, hallando cantidades inferiores a 20 ppm en todas las muestras.

Según los datos referidos en bibliografía, el óptimo aroma y sabor del yogur se obtiene por un contenido en acetaldehído entre 23 y 41 ppm. Los productos con niveles por debajo de 10 ppm son generalmente considerados de baja intensidad aromática (Romero del Castillo y Mestres Lagarriga, 2004).

Ott y cols. (1997), encontraron una concentración de acetaldehído en yogures fabricados con leche de vaca que oscilaba entre 5 a 21 ppm.

FIGURA 17. Concentración de acetaldehído de las muestras analizadas



En cuanto al kéfir, el acetaldehído también se ha analizado en otros trabajos, comprobándose su presencia en el mismo (Zourari y Anifantakis, 1988).

Minervini y cols. (2009), obtuvieron una concentración de 15,0 mg kg⁻¹ (0,34 mM), en leches fermentadas de cabra, adicionada con 0,8 g/kg de treonina a fin de aumentar la concentración de acetaldehído.

Güler-Akin y Akin (2007), observaron que en las muestras de yogur, el contenido de acetaldehído fue menor que en las muestras de otras leches fermentadas (11,7 ppm y 15,8 ppm, respectivamente). Esto puede atribuirse a

los niveles de inóculos y a las bacterias ácido lácticas adicionales utilizadas para la elaboración de estos productos (*L. acidophilus*, *L. paracasei subsp. casei* y *B. bifidum*). El *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* produce más compuestos aromáticos en la leche que el *S. thermophilus* (Bonczar y cols., 2002).

La actividad de la alcohol-deshidrogenasa en especies microbianas, es importante y no debe pasarse por alto. Según Fuller (1989), las cepas del *L. acidophilus* poseen menor actividad de la alcohol-deshidrogenasa que las del *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, que resulta en una menor reducción del acetaldehído a etanol. Por lo tanto, la presencia de cualquiera de las especies de lactobacilos en los cultivos starter pueden afectar el contenido total de este compuesto en estos productos.

Güler-Akin y Akin (2007), al igual que Minervini y cols. (2009), encontraron que el contenido de acetaldehído aumentó en los primeros 7 días de almacenamiento y luego disminuyó. Este descenso al final del período de almacenamiento puede deberse a la hidrólisis de las enzimas microbianas para formar otras sustancias, como etanol (Bonczar y cols., 2002; Tamime y Robinson, 2007).

En el kéfir y en bebidas a base de suero de kéfir, el acetaldehído, fue encontrado en concentraciones bajas (6,0 mg/l) después de 48 horas de fermentación (Magalhães y cols., 2011). Estos resultados coinciden con los reportados por Ertekin y Güzel-Seydim (2010) en kéfir de leche entera y descremada, fermentada a 25°C durante 18 ± 2 días, que se almacenaron a 4°C durante 1 día.

En otro estudio realizado con yogures elaborados con leche de cabra y de oveja, el mayor compuesto volátil encontrado fue el acetaldehído, observando que el tipo de cultivo afectó significativamente la producción de este compuesto, siendo mayor su concentración en el yogur de cabra respecto al de oveja. También observaron que los yogures que contienen mayor acidez tienen una mayor concentración de acetaldehído, y que ésta concentración fue significativamente más baja en los yogures de leche de oveja, independientemente del cultivo utilizado, debido al elevado contenido de

sólidos totales que contiene este tipo de leche. También hallaron una relación entre el tiempo de almacenamiento y el tipo de leche, en el contenido de acetaldehído, en el que los niveles del mismo disminuyen a medida que aumenta el tiempo de almacenamiento (Güler y Gursoy-Balci, 2011).

3. MINERALES

Al igual que los otros nutrientes, el contenido mineral de la leche depende de numerosos factores, como las características genéticas, el estado de lactación, las condiciones medioambientales, el tipo de pastos, así como la contaminación del suelo, entre otros (Park, 2000).

Los minerales representan en la leche de cabra un contenido de 6 a 8 g/Kg pudiendo estar tanto en forma disuelta (moléculas e iones) como en estado coloidal. La mayoría de las sales son de tipo mineral aunque también la hay de tipo orgánico. Las sales minerales representan el 0,70 - 0,85% (Rivas García, 2005).

El calcio, magnesio, fosfato y citrato juegan un rol importante en la estabilidad de la leche de cabra (Anjaneyulu y cols. 1985).

Haenlein (2001) comentó que la leche de cabra presenta una composición mineral muy similar a la de la leche de vaca en lo que se refiere a su contenido de Na, Fe, Zn y Mb, pero tiene mayor cantidad de Ca, K, Mg, P, Cl y Mn.

La leche de cabra es una excelente fuente de calcio biodigestible, fósforo y magnesio, ya que contiene cantidades más altas de estos minerales en forma soluble (Gueguen 1997). Los resultados presentados por Remeuf (1993) muestran que en las razas de cabra europeas, el calcio soluble varió de 30 a 38%, y que los niveles de Mg y P solubles en la leche de cabra fueron de 66 y 39%, respectivamente.

El yogur puede ser una buena fuente de nutrientes esenciales como los minerales. Puede contribuir significativamente con los requerimientos diarios de calcio y magnesio para mantener los procesos fisiológicos, aunque también es una buena fuente dietaria de fósforo y zinc (De la Fuente y cols., 2003).

Sin embargo, la absorción de minerales no depende únicamente de la cantidad del elemento presente en el producto lácteo, sino también de otros factores como la solubilidad (Delisle y cols., 1995). La disponibilidad de los minerales en los productos lácteos se ve afectada por diversos factores. La forma química del nutriente puede influir en la biodisponibilidad: las formas libres o solubles se absorben bien, mientras que las que están precipitadas podrían absorberse pobremente. También, los tratamientos tecnológicos utilizados en la elaboración de productos lácteos pueden modificar las proporciones de sus formas químicas (De la Fuente, 1998).

La producción bacteriana de ácido láctico proveniente de la lactosa de la leche es un paso esencial en la fabricación de yogur. La reducción de pH provoca alteraciones importantes en la composición, estructura y reactividad de las micelas de caseína y modifican el equilibrio mineral. La naturaleza ácida de yogur también tendría efectos positivos sobre la absorción gastrointestinal de calcio de la leche (De la Fuente y cols., 2003).

La fabricación de yogur puede dar lugar a la redistribución de los nutrientes, como los minerales, principalmente aquellos relacionados con las caseínas.

a) Calcio (Ca)

La leche es la principal fuente de calcio dietario para el ser humano, sin importar si es de cabra, vaca u otra especie (Rodden, 2004). La leche de vaca contiene una media de 1,20 g/litro (la misma cantidad aproximadamente que la de cabra), de los cuales el 20% está unido a caseína como un coloide orgánico insoluble y el 80% restante en forma mineral (45% en el fosfato tricálcico de los fosfocaseinatos, que es también insoluble y coloidal, y un 35% soluble). El calcio orgánico y mineral unido a la caseína es fácilmente liberado durante la digestión, y su biodisponibilidad es alta. Muchos estudios de solubilidad del calcio usan el calcio de la leche como patrón de referencia.

Está presente en forma abundante y fácilmente asimilable por el organismo. Estudios dietéticos han mostrado que las deficiencias de calcio en

nuestras dietas son debidas al bajo consumo de leche. Aproximadamente dos tercios del contenido total de calcio de la leche adoptan una configuración coloidal dispersa y solo un décimo de él se encuentra ionizado. El estado de equilibrio entre el calcio iónico y las formas ligadas o en complejos desempeña un papel importante en la estabilidad física de los productos lácteos elaborados. Por acidificación, se ioniza más calcio y ello contribuye a la desestabilización de la caseína. La ingesta diaria recomendada para hombres y mujeres adultos sanos es de 900 mg/día.

Al analizar la composición mineral de un determinado tipo de leche, no solo hay que tener en cuenta las cantidades de cada mineral, sino también su biodisponibilidad. En este sentido existen interacciones entre diferentes minerales, y de estos con otros compuestos lácteos que pueden afectar su absorción.

El calcio de la leche difiere en varios aspectos interesantes del calcio de otros alimentos o suplementos dietéticos. Puesto que está unido a péptidos y proteínas, es más probable que permanezca en solución cuando el pH es desfavorable, como cuando existe acidosis. El calcio de la leche puede absorberse en ausencia de vitamina D, bajo la influencia de la lactosa en el intestino delgado distal a través de la vía paracelular.

Alfárez y cols, (1996), observaron que la mayor absorción de calcio en animales que consumen una dieta con leche de cabra se puede atribuir en parte al elevado contenido en vitamina D de la leche de cabra respecto a la de vaca, que favorece la absorción de este mineral. Otro factor que puede contribuir a la mayor absorción de calcio en dietas elaboradas con leche de cabra es su mayor contenido en lisina respecto a la leche de vaca. El efecto de este aminoácido parece que está relacionado con el transporte pasivo de calcio, ya que no hay diferencias significativas entre los dos estereoisómeros de la lisina.

En nuestro estudio, la media de calcio obtenida en leche cruda de cabra, fue de $120,5 \pm 4,10$ mg/100g, levemente inferior al contenido de calcio de las leches comerciales de cabra y vaca ($127,3 \pm 3,74$ y $126,9 \pm 3,17$ mg/100g, respectivamente). El mayor contenido en calcio en leches desnatadas y

semidesnatadas se asocia al carácter hidrosoluble del calcio, por lo que al eliminarse la grasa, se aumenta significativamente el calcio presente disuelto en la fase hidrosoluble.

Según los resultados obtenidos en nuestro análisis estadístico, para el calcio, no hay distribución normal en leches comerciales y crudas de cabra, y se observa una diferencia significativa en los niveles de calcio en leches crudas y comerciales de cabra, siendo mayor en las comerciales. Comparando leche de vaca y cabra, si existen diferencias estadísticamente significativas en los niveles de calcio entre las mismas, siendo mayor en la de vaca.

Otros autores han encontrado que comparativamente la leche de cabra aporta 13% más calcio que la leche de vaca (Rodden, 2004), de forma contraria a lo hallado en nuestro estudio, ya que nuestros valores son similares.

Nuestros resultados son similares a los referidos por Le Mens (1993), que indica valores de calcio en leche de cabra entre 119,9 a 127,2 mg/100g, los cuales varían según el mes del año, siendo superiores en el mes de octubre. Sin embargo, son inferiores a los hallados por Park (2006a) y Costa y cols. (2010) que obtuvieron una media de 134 mg y 138,18 mg/100 g de leche de cabra, respectivamente. Kaminarides y Anifantakis (2004) hallaron un contenido de calcio en leche de cabra comprendido entre 121,6 mg y 155,5 mg/100g. Mientras que Sanz Ceballos y cols. (2009) encontraron un valor superior, de 158,57 mg/100 g de leche de cabra.

En la leche de vaca, Nascimento y cols., (2010), encontraron valores mínimos y máximos de Ca comprendidos entre 63 a 117 mg/100 g, mientras que las tablas de composición química (Novartis: Jimenez, 2002, Tabla del programa de nutrición DIAL: Ortega Anta y cols., 2010 y Tablas de la Sociedad Española de Nutrición Clínica SENC, 2010), indican que la misma posee entre 117 a 125 mg/100 g de leche, por lo que nuestro valor se considera dentro de los parámetros normales.

Respecto a las leches fermentadas, los valores de calcio encontrados en bibliografía en yogures de cabra fueron de 121 mg y 133 mg (Kaminarides y cols., 2004), 104,79 mg% (Farnsworth, 2006) y 145,5 mg% (Güler 2007). En nuestros análisis, los resultados obtenidos son mayores a los que se hallaron

estos autores, siendo la media en yogures de cabra de $178,86 \pm 63,40$ mg/100 g, $224,85 \pm 24,27$ mg/100 g en kéfir y $140,44 \pm 24,90$ mg/100 g en los artesanales.

En los yogures de vaca, el contenido de calcio encontrado por Pirkul y cols (1997), estuvo comprendido entre 157 mg/100 g y 166 mg/100g de calcio. Mientras que en nuestras muestras, la media del total de leches fermentadas de vaca fue de $207,85 \pm 19,87$ mg/100g con un mínimo de 147,42 y un máximo de 250,88 mg/100g.

En las tablas de composición de alimentos, el contenido de calcio de yogures y leches fermentadas, se encuentra comprendido entre 110 a 150 mg/100g (Jimenez, 2002, Tabla del programa de nutrición DIAL: Ortega Anta y cols., 2010 y Tablas de la SENC, 2010)

Según los valores de significancia obtenidos en el análisis estadístico, existen diferencias estadísticamente significativas en los niveles de calcio, según si es leche o leche fermentada y según sea de vaca o de cabra ($p < 0,05$), siendo mayor en las leches fermentadas respecto a las leches y en las de vaca respecto a las de cabra.

Existen estudios que indican que la producción de ácido láctico a partir de la lactosa por acción de las bacterias ácido lácticas, es un paso esencial en la fabricación de yogur. La reducción de pH provoca alteraciones importantes en la composición, estructura y reactividad de las micelas de caseína y modifican el equilibrio mineral. La naturaleza ácida de yogur también tendría efectos positivos en la absorción intestinal de calcio de la leche. La fabricación de yogur puede dar lugar a la redistribución de los nutrientes minerales, principalmente los relacionados con las caseínas. Los cambios en esta distribución pueden tener efectos sobre las propiedades nutricionales (De la Fuente y cols., 2003).

Algunos autores afirman que en leches fermentadas, la biodisponibilidad del calcio del yogur es mayor que el de la leche. El pH ácido del mismo ioniza el calcio y esto facilita su absorción intestinal (Bronner y Pansu, 1999). El bajo pH del yogur a su vez reduce el efecto inhibitorio del ácido fólico sobre la biodisponibilidad de calcio (Adolfsson y cols., 2004).

b) Cobre (Cu)

El cobre es el tercer elemento traza más importante del organismo. Su importancia radica en su participación en numerosos procesos fisiológicos resultado esencial para el normal desarrollo del hueso, sistema nervioso central y tejido conectivo, forma parte de ciertas enzimas, contribuye a la actividad de otras enzimas, colabora en el metabolismo del hierro y actúa en el sistema inmune y la inflamación (Simón Magro y Lasa Elgueza, 2008; Wardlaw, 2008). El cobre es un cofactor esencial para la actividad catalítica de la lisil oxidasa, tirosinasa, Cu/Zn superóxido dismutasa (SOD1), citocromo c oxidasa (COX) y ceruloplasmina (Cp) (Olivares Grohnert y cols., 2010).

Los síntomas de la deficiencia de cobre incluyen anemia microcítica, desmineralización ósea, disminución del crecimiento, depigmentación y desordenes gastrointestinales, mientras que su toxicidad puede causar cirrosis hepática, dermatitis y desordenes neurológicos (Simón Magro y Lasa Elgueza, 2008)

La ingesta diaria adecuada y segura de Cu es de 1,1 mg/día para el adulto. Algunos factores tales como los fitatos, algunos aminoácidos, vitamina C, fibra vegetal, el Zn y el Fe pueden interferir en la absorción de Cu (Wardlaw, 2008).

En un estudio realizado en ratas con síndrome de mala absorción, se encontró que la leche de cabra aumenta la absorción intestinal de cobre, lo cual se atribuye a los altos niveles de cisteína en la leche (83 mg/100g en leche de cabra y 28 mg/100 g en leche de vaca) (Barrionuevo y cols. 2002)

Según los datos proporcionados por Le Mens, (1993) el contenido medio de cobre de la leche de cabra se encuentra comprendido entre 0,0169 a 0,0227 mg/100g, siendo el mes de marzo en el que se presentan los valores más altos. Sanz Ceballos y cols. (2009), obtuvieron valores de 0,042 mg/100 g de leche de cabra, similar al hallado por Park (2006a), de 0,05 mg/100 g de leche de cabra. En bibliografía, no se han encontrado valores de referencia para leches fermentadas de cabra.

En nuestros análisis, se observa que las leches fermentadas de cabra, contienen más cobre respecto a las de vaca, siendo la media de $0,065 \pm 0,023$ mg/100 g y $0,046 \pm 0,015$ mg/100 g, respectivamente.

En un estudio realizado por Enby y cols., (2009), hallaron una concentración media de cobre en yogures de leche de vaca de 0,185 mg/kg.

Según el análisis estadístico, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el contenido de cobre en las leches fermentadas en función de todas las variables analizadas.

c) Cromo (Cr)

La función más estudiada del cromo es el mantenimiento de la captación de glucosa en las células corporales. El cromo, penetra en la célula y probablemente aumenta el número de receptores de insulina o mejora el transporte de glucosa por la membrana celular. También contribuye al metabolismo de proteínas, carbohidratos y lípidos, ayuda a la expresión congénita del ADN, favorece el crecimiento, disminuye el colesterol sérico y HDL y ayuda al control de la tensión arterial (Wardlaw, 2008).

Las carencias de este mineral, suelen aparecer en personas mantenidas con una nutrición parenteral total sin suplementación y en niños con malnutrición. Se caracteriza por una peor tolerancia a la glucosa y un nivel elevado de colesterolemia y triglicéridos (Wardlaw, 2008).

La intoxicación por cromo se ha registrado en personas expuestas a cromo en centros industriales y en pintores que empleen pinturas con un elevado contenido en este mineral. De tales ingestas elevadas se pueden derivar lesiones hepáticas y cáncer de pulmón.

La IDR para la población española en adultos sanos es de 35 μ g/d para hombres de 20 a 39 años y de 25 μ g/d para mujeres de 20 a 39 años (FESNAD, 2010).

En las muestras analizadas se observa una gran variabilidad en el contenido de cromo, tanto en leches fermentadas de vaca como de cabra,

siendo el valor medio de $7,20 \pm 4,80 \mu\text{g}/100\text{g}$ con un mínimo de 3,80 y un máximo de $10,62 \mu\text{g}/100\text{g}$ para las de cabra, y $1,76 \pm 1,54 \mu\text{g}/100 \text{g}$ (0,22 a $8,21 \mu\text{g}/100\text{g}$) para las de vaca.

Enb y cols., (2009), analizaron el contenido de minerales de la leche y yogures de vaca durante el procesamiento y hallaron una concentración media de 3,8 g/100 g en el yogur.

Según el análisis estadístico, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el contenido de calcio en las leches fermentadas analizadas.

d) Fósforo (P)

Al igual que el calcio, el fósforo es uno de los minerales más abundantes en el organismo, representando del 0,8 - 1,1%. El 80% se encuentra en el tejido óseo y en los dientes. El resto se encuentra disuelto en el líquido extracelular y en los tejidos blandos del organismo.

El fósforo estimula la absorción intestinal y la reabsorción tubular renal de la glucosa mediante el proceso de fosforilación, donde se combina con la glucosa; junto con los lípidos compone los fosfolípidos; es necesario para la formación de moléculas energéticas como la adenosina trifosfato (ATP), el fosfato de creatina y el fosfoenolpiruvato; forma parte del músculo e interviene en su metabolismo; colabora en el transporte sanguíneo de los ácidos grasos; constituye el ADN, RNA y moléculas con importantes funciones en el metabolismo intracelular tales como AMP cíclico; ayuda en la regulación del equilibrio ácido-base tanto en sangre, como en el líquido intra y extracelular (Simón Magro y Lasa Elguezua, 2008). La ingesta diaria recomendada para hombres y mujeres adultos sanos es de 700 mg/día.

El contenido de fósforo citado en las tablas de composición química para leche de cabra, es de 95 mg/100 g, (Jimenez Curz, 2002) y 103 mg% (Tablas de composición de alimentos del C ESNID, 2004) . En la leche de vaca, sin embargo, este contenido es netamente inferior, comprendido entre 88 a 92 mg% (Tablas de Composición de Alimentos por medidas caseras de consumo

habitual en España: Palma y cols., 2008; Tabla del programa de nutrición DIAL: Ortega A nta y co ls., 20 10). En l eche de v aca, N ascimento y co ls., 2010, encontraron v alores mínimos y m áximos de P c omprendidos entre 0,060 a 0,114%.

En leche de cabra, Park (2006a), da valores de 121 mg/100 g, similar a lo hallado p or Sanz C eballos y co ls. (2009), de 118,97 mg/100 g de l eche, mientras que Le M ens (1993), refiere v alores inferiores, c omprendidos en tre 87,8 a 93,3 mg/100g.

La media obtenida en nuestro estudio fue de $118,8 \pm 26,65$ mg/100 g en leche cruda de cabra, con un m ínimo de 100,0 y un m áximo de 137,7 mg/100 g; 160 mg/100g en la leche comercial de cabra, mientras que en leche de vaca, fue b astante i nferior, encontrando u na media de $95,55 \pm 5,00$ y el i ntervalo comprendido entre 95,50 a 96,00 mg/100 g de leche.

En l eche de ca bra, Le M ens (1993), refiere u na media de 87,8 a 93,3 mg/100g, observando q ue en el mes de oct ubre se presentan l as concentraciones más altas. Por otro lado, Park (2007) halló un valor medio de 121 mg/100 g y Sanz C eballos y cols. (2009), obtuvieron un contenido medio de fósforo de 118,97 mg/100 g.

Según l os valores de si gnificancia o btenidos, no existen di ferencias estadísticamente significativas en los niveles de fósforo, según si son leches de cabra o vaca.

El y ogur y ot ras leches fermentadas, son t ambién un a bu ena f uente dietética de fósforo (además del calcio, c onsiderado co mo el nut riente m ás importante para la salud de los huesos) (Flynn y Cashman, 1997).

En leches fermentadas, De l a F uente y co ls., (2003), obtuvieron e n yogures de vaca, valores de fósforo comprendidos entre 878 a 1560 mg/L.

En nuestras muestras, el contenido medio de f ósforo fue de las leches fermentadas de vaca fue de $83 \pm 7,00$ mg/100g y de $81 \pm 3,00$ mg/100g en las leches fermentadas de cabra comerciales. Sin embargo en las de elaboración artesanal, la concentración media hallada fue de 121 ± 31 mg/100 g, con un

mínimo de 106 y un máximo de 197 mg/100g, siendo estos significativamente superiores que las concentraciones medidas en leches de cabra comercial.

Según el análisis estadístico, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de fósforo según si son leches o leche fermentada ($p > 0,05$). Sin embargo, si se han observado diferencias significativas en cuanto al origen de las mismas, siendo significativamente más bajas las concentraciones de fósforo en yogur de vaca y en cuanto al contenido graso, siendo mayor en las leches fermentadas enteras.

Si se comparan los niveles de fósforo según el cultivo bacteriano iniciador, el valor de significancia obtenido ($p = 0,057$), muestra una tendencia a la significancia entre los niveles de fósforo determinados en LF elaboradas con otras bacterias probióticas, frente a los yogures tradicionales elaborados con *LB* y *ST*; concretamente los niveles de fósforo en LF con otras bacterias probióticas tienden a ser significativamente más bajos.

e) Magnesio (Mg)

El magnesio es el segundo catión del medio intracelular en abundancia y está considerado, al igual que el calcio y el fósforo, como un mineral mayoritario, siendo su contenido de unos 25 g en el cuerpo del adulto. De este total, un 65-70% está en los huesos, que también constituyen una reserva de magnesio, al igual que el músculo en forma tanto de fosfato como de carbonato. El resto se localiza en el interior de las células de los tejidos blandos, en una concentración de 182,34 mg/l, donde participa en la utilización de la energía metabólica, y en menor proporción en el plasma (1,4-2,5 mg/ml), de este último, al rededor del 80% está ionizado y es difusible, el resto está ligado a proteínas séricas (Pérez Llamas F. y cols., 2010).

El magnesio es un mineral esencial en los humanos, con múltiples funciones bioquímicas y fisiológicas como la activación de enzimas, implicación en múltiples rutas metabólicas, regulación de los canales de membrana y contracción muscular (Schweigel y Martens, 2000). Forma parte de la estructura mineral del hueso y regula el intercambio de calcio y del fósforo

entre el tejido óseo y el resto de tejidos; participa en la contracción muscular, en la secreción de glándulas y en la transmisión de impulsos nerviosos; actúa como cofactor de enzimas que intervienen en reacciones para la liberación de energía por medio del ATP; interviene en la formación de AMP cíclico a partir del AMP; interviene en el metabolismo de hidratos de carbono y proteínas; participa en el equilibrio ácido-base, disminuyendo la alcalinidad de la sangre y aumentando la acidez de la orina; favorece la estabilización de la doble hélice del ADN (Simón Magro y Lasa Elguezua, 2008).

El déficit de magnesio generalmente está ocasionado por diversos factores como el aporte dietético insuficiente, alcoholismo, vómitos, diarreas o poliuria que dan lugar a la aparición de síntomas como fatiga, tetania, irritabilidad neuromuscular, trombosis, convulsiones tónico crónicas, espasmos musculares, disfunción miocárdica, trastornos de la personalidad, depresión.

Por el contrario, el exceso se produce únicamente en situaciones patológicas como la insuficiencia renal aguda, nefritis crónica, enfermedad de Addison, provocando somnolencia, arritmias cardíacas y depresión del sistema nervioso central.

La ingesta diaria recomendada para hombres adultos sanos es de 350 mg/d y de 300 mg/d para mujeres adultas sanas (FESNAD 2010).

El contenido medio de magnesio hallado en nuestras muestras de leche cruda de cabra fue de $13,29 \pm 0,52$ mg/100 g con un intervalo de 12,36 a 14,20 mg/100 g notándose una ligera diferencia respecto a la leche comercial de cabra que fue de $10,95 \pm 1,90$ mg/100 g (9,60 a 12,30 mg/100 g).

Nuestros resultados son similares a los descritos por Kaminarides y Anifantakis (2004) y Sanz Ceballos y cols. (2009), que obtuvieron una media de 13,30 y 12,92 mg/100 g de leche de cabra, respectivamente. Le Mens (1993) cita valores comprendidos entre 11,8 a 16,5 mg/100 g, destacando que en el mes de octubre se presenta la mayor concentración de minerales. Sin embargo, son bastante inferiores a los mencionados por Park (2006a), de 16 mg/100 g, y por las tablas de composición química de alimentos, que indican que la leche de cabra posee entre 14 a 20 mg/100 g (Jimenez Cruz, 2002; Mataix-Verdú, 2009 y Moreira y cols., 2011; Tablas de Composición de

Alimentos por medidas caseras de consumo habitual en España: Palma y cols., 2008; Tabla del programa de nutrición DIAL: Ortega Anta y cols., 2010).

La cantidad de Mg en leche de vaca, es bastante menor, tal como lo indican las tablas de composición química de alimentos, que va de 8,7 a 11,6 mg/100 g de leche, así como los valores obtenidos en nuestro estudio, de $9,63 \pm 0,25$ mg/100 g con un intervalo de 9,40 a 9,90 mg/100 g. Nascimento y cols., 2010, encontraron valores mínimos y máximos de Mg en leche de cabra, comprendidos entre 5,42 a 10,99 mg/100 g.

Según los valores de significancia obtenidos en el estudio estadístico, existen diferencias estadísticamente significativas en los niveles de magnesio ($p < 0,05$), según si son leches de cabra o vaca, observándose en el presente estudio niveles significativamente inferiores en leche de vaca.

En las muestras de leches fermentadas, se obtuvo una media de $10,24 \pm 1,55$ mg/100 g para las leches fermentadas de vaca, $11,66 \pm 5,20$ mg/100 g para las de cabra comerciales y $8,79 \pm 0,70$ mg/100 g para las de elaboración propia.

Los datos encontrados en bibliografía respecto al Mg en yogures de cabra estuvieron comprendidos entre 13,14 a 14,9 mg/100g (Gambelli y cols, 1999, Park, 2000; Kaminarides y cols., 2004; Farnsworth, 2006).

Para yogures de leche de vaca, los resultados fueron similares, así Abdulrahman y cols. (1998), obtuvieron un contenido medio de 13,4 mg/100 g.

De la Fuente y cols., (2003), en yogures de leche de vaca, encontraron valores de Mg comprendidos entre 100 y 115 mg/L y en yogures de cabra de 123 mg/L.

Según el análisis estadístico, existen diferencias estadísticamente significativas en los niveles de magnesio, según si es leche o leche fermentada, siendo mayor en leche natural respecto a las fermentadas. En las leches fermentadas, también se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los diferentes tipos de cultivo bacteriano iniciador, siendo mayores las concentraciones de Mg en kéfir y en leches fermentadas elaboradas con bifidobacterias, respecto al yogur tradicional y a otras bacterias probióticas.

f) Manganeso (Mn)

Es un co factor de ciertas enzimas como la piruvato carboxilasa, una enzima empleada en el metabolismo de los hidratos de carbono, y la superóxido dismutasa, una enzima antioxidante sobre todo en la superóxido dismutasa mitocondrial. También es importante en la formación ósea. No se ha observado carencia de manganeso en el ser humano, y a que al parecer la necesidad del mismo es muy reducida (2,3 mg/d para hombres y de 1,8 mg/d para mujeres) (Wardlaw, 2008, FESNAD, 2010).

En nuestro estudio se observa una mayor concentración en leches fermentadas de cabra respecto a las de vaca, con valores medios de $6,23 \pm 3,31$ y $5,22 \pm 3,04$ $\mu\text{g}/100$ g, respectivamente. En las leches fermentadas de cabra de elaboración artesanal, el contenido medio es aún menor, de $2,19 \pm 1,49$ $\mu\text{g}/100$ g.

En yogures de leche de vaca, Enb y cols., (2009), hallaron una concentración media de Mn en yogures de leche de vaca de $6,0$ $\mu\text{g}/100$ g.

En leche de cabra Le Mens, (1993) indica valores comprendidos entre 5,6 a $6,9$ $\mu\text{g}/100$ g, mientras que Park (2007) da valores de Mn de $3,2$ $\mu\text{g}/100$ g en leche de cabra y de $3,45$ $\mu\text{g}/100$ g para yogures de leche de cabra (Park, 2000).

No se han observado diferencias estadísticamente significativas para los niveles de manganeso en ninguna de las variables analizadas.

g) Selenio (Se)

El selenio es un elemento traza esencial para la salud humana (Rayman, 2000, 2008; Thomson, 2006). Existe en muchas formas iónicas. La mayor parte del selenio en los alimentos forma enlaces con derivados de los aminoácidos metionina y cisteína. La ingesta del selenio se absorbe en torno al 50% o más.

La función que más se conoce de este mineral, es el de co factor de la enzima glutatión peroxidasa. También actúa en el metabolismo de la hormona tiroidea.

El RDA es de 55 $\mu\text{g}/\text{día}$ para adultos sanos. Sin embargo, la ingesta de selenio varía entre los diferentes países, existiendo algunos que muestran una deficiencia en particular (Navarro Alarcón y Cabrera Vique, 2008; Navarro Alarcón y Gil Hernández, 2010).

Entre los signos y síntomas de carencia, se encuentran la mialgia, atrofia muscular y miocardiopatía.

Existen evidencias que el aumento de la ingesta recomendada de selenio (hasta 200 $\mu\text{g}/\text{día}$) puede proteger al cuerpo humano contra los radicales libres, que pueden causar enfermedades degenerativas y relacionadas con la edad, así como ciertos tipos de cáncer (Rayman, 2005). Por el contrario, ingestas diarias de 1 a 3 mg pueden causar toxicidad si se toman durante muchos meses, causando alopecia, náuseas, diarrea, fatiga, alteraciones de las uñas y dientes, erupciones cutáneas y cirrosis hepática (Wardlaw, 2008).

La leche de cabra y la humana contiene niveles más altos de Se que la leche de vaca. Pequeñas cantidades de este mineral (<3%) están asociadas con la fracción lipídica de la leche. La glutatión peroxidasa es mayor en leche de cabra que la leche humana y de vaca. El total de la actividad peroxidasa (asociada con la glutatión peroxidasa) es del 65% en leche de cabra versus un 29% en leche humana y un 27% en leche de vaca (Debski y cols., 1987).

Los productos lácteos contribuyen considerablemente con el consumo dietario de Se, particularmente en niños (Navarro y Cabrera, 2008).

A pesar de lo indicado con anterioridad, en nuestro análisis, las muestras de leches fermentadas de vaca presentaron mayor contenido de Se que las de cabra: el contenido medio de encontrado fue de $5,18 \pm 1,56 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ en las de vaca, con valores mínimos y máximos comprendidos entre 0,95 a 13,28 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$, mientras que en las leches fermentadas de cabra los valores medios fueron de $2,49 \pm 0,34 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ para las comerciales y $2,64 \pm 0,82 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ para las artesanales, con valores comprendidos entre 0,78 a 5,74 y 1,70 a 4,04 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$, respectivamente.

En un estudio realizado por Park (2007), la media de selenio obtenida en leche de cabra fue de 1,33 $\mu\text{g}/100\text{ g}$, mientras que en yogures y leches fermentadas no se han encontrado valores de referencia.

En el estudio estadístico realizado, no se han apreciado diferencias significativas para el contenido de selenio en ninguna de las variables analizadas.

h) Zinc (Zn)

El zinc es un nutriente esencial para el metabolismo humano. Está presente en más de 120 enzimas implicados en el metabolismo de los hidratos de carbono, lípidos, proteínas, en la síntesis de ácidos nucleídos, en el transporte de CO_2 . También actúa en la unión y estabilización de membranas proteicas, participa en el control del estrés oxidativo puesto que, junto con el cobre, se requiere para una adecuada actividad de la superóxido dismutasa (Simón Magro y Lasa Elguezua, 2008).

La esencialidad del zinc está dada por funciones insustituibles relacionadas principalmente con sistemas enzimáticos de los procesos de división y multiplicación celular y con los sistemas metabólico-hormonales de regulación. Además, está ampliamente demostrado que la deficiencia nutricional de Zn puede llevar a signos clínicos de enfermedad, los cuales mejoran con la normalización de la nutrición de zinc (Olivares Grohnert y cols., 2010).

Su deficiencia puede causar anorexia, reducción del crecimiento, alteraciones en la maduración sexual, diarrea y dermatitis (Onianwa y cols., 2001; Umeta y cols., 2000; Brown y cols., 2002; Simón Magro y Lasa Elguezua, 2008).

La absorción del Zn, se ve afectada por el ácido fítico y por ingestas elevadas de calcio. Los estudios realizados han concluido que se produce una reducción de hasta el 50% de la absorción de Zn cuando se toman suplementos de Ca. Por esta razón las mujeres postmenopáusicas y otros grupos con necesidades mayores de Ca también deben aumentar la ingesta de

Zn. El Zn compite con la absorción del Cu y Fe. La RDA en adultos es de 15 mg/día en el hombre y 12 mg/días en la mujer (Wardlaw, 2008), aunque según el Instituto de Medicina (IDM, 2002) las ingestas dietéticas de referencia para el Zn son de 9,5 y 7 mg/día para hombre y mujer adultos sanos, respectivamente (FESNAD, 2010).

El contenido medio de Zn obtenido en nuestro análisis de leche cruda de cabra fue de $340 \pm 20 \mu\text{g}/100 \text{ g}$, lo cual coincide con lo referido en las tablas de composición de alimentos, cuyos valores van de 300 a 500 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$. Sanz Ceballos y cols. (2009) y Park (2006a) obtuvieron valores de 520 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ y 560 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$, respectivamente. Sin embargo Le Mens (1993), estable valores en leches de cabra de 297 a 376 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$.

En la leche de vaca, Nascimento y cols., (2010), encontraron valores mínimos y máximos comprendidos entre 2,46 a 5,73 $\mu\text{g}/\text{g}$. al igual que en las tablas de composición química de alimentos que establecen valores medios de Zn en leche de vaca de 4,2 $\mu\text{g}/\text{g}$ (Jiménez cruz, 2002, Tabla del programa de nutrición DIAL: Ortega Anta y cols., 2010 y Tablas de la SENC, 2010).

En las leches comerciales analizadas, el valor medio de Zn fue similar, tanto en las muestras de vaca como en las de cabra, de $480 \pm 20 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ y $460 \pm 50 \mu\text{g}/100 \text{ g}$, respectivamente. Estos valores son superiores a los hallados en las muestras de leche cruda de cabra ($340 \pm 20 \mu\text{g}/100 \text{ g}$), pero se encuentran dentro de los parámetros normales referidos en bibliografía.

Según el análisis estadístico, si se encontraron diferencias estadísticamente significativa para los niveles de Zn, en leches crudas y leches comerciales de cabra, como así también entre leches de cabra y de vaca ($p < 0,05$), siendo significativamente mayores en leche de vaca. Sanz Ceballos y cols., (2009), observaron que los niveles de Zn en $\mu\text{g}/100 \text{ g}$, resultaron menores en leche de cabra, respecto a la de vaca. También se observó que existen diferencias estadísticamente significativas en los niveles de zinc, según si es leche o leche fermentada.

En yogures y leches fermentadas de vaca, obtuvimos un valor medio de $421 \pm 45 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ ($270 - 780 \mu\text{g}/100 \text{ g}$), observándose el valor máximo en el grupo de yogures griegos. Por otro lado, en las leches fermentadas

comerciales de cabra, la media fue de $410 \pm 49 \mu\text{g}/100 \text{ g}$, con un intervalo comprendido entre 382 a $460 \mu\text{g}/100 \text{ g}$, mientras que en los de elaboración propia, los valores medios fueron bastante superiores al de los comerciales, la media fue de $540 \mu\text{g}/100 \text{ g} \pm 180$ con un mínimo de 390 y un máximo de $960 \mu\text{g}/100 \text{ g}$.

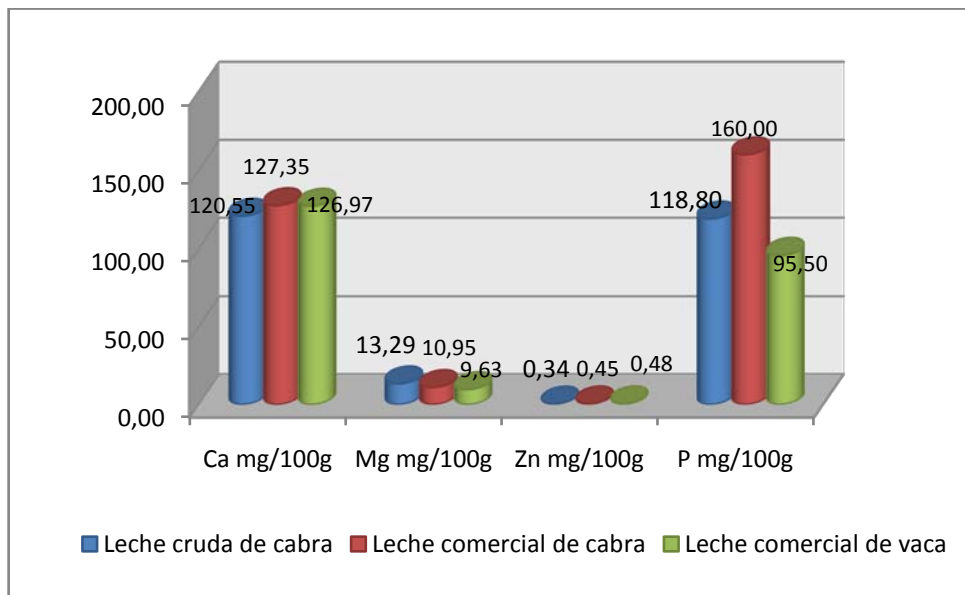
Al comparar las leches fermentadas según el cultivo bacteriano iniciador, se observan diferencias estadísticamente significativas, siendo menores las concentraciones en las leches fermentadas elaboradas con otras bacterias probióticas que en las bifidobacterias y yogures tradicionales.

En un estudio realizado por Ebs y cols., (2009), hallaron una concentración media de Zn en yogures de leche de vaca de $405 \mu\text{g}/100 \text{ g}$, mientras que Olivares y cols., (2004), hallaron una media de $316 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ y Brandao y cols., (2010), valores comprendidos entre 212 a $485 \mu\text{g}/100 \text{ g}$.

De la Fuente y cols., (2003) obtuvieron en yogures valores comprendidos entre 4,0 y 7,3 mg/L para yogures de vaca y de 4,0 mg/L para los de cabra.

En yogures de cabra, Park (2000) indica valores de $337 \mu\text{g}/100 \text{ g}$, mientras que Martín Diana (2003), en leches fermentadas de cabras, obtuvo una concentración media de Zn de $450 \mu\text{g}/100 \text{ g}$.

FIGURA 18. Contenido mineral de los diferentes tipos de leches analizadas.



Como puede observarse en la figura 19, el contenido de Ca hallado en leche cruda de cabra, fue ligeramente inferior al de las comerciales, si n embargo el valor de Mg, fue bastante mayor en la leche cruda. En cuanto al Zn, casi no se observan diferencias entre los distintos tipos de muestras.

Diversos autores concuerdan que la mejor calidad nutricional de la leche de cabra respecto a la de vaca, no resulta solo por la cantidad de nutrientes que aporta, sino porque son de mejor utilización por el organismo, tanto en los procesos digestivos como metabólicos (Park y cols., 1989; Barrionuevo y cols., 2002; Campos y cols., 2003; López-Aliaga y cols., 2003; Alférez y cols., 2006).

4. ACIDOS GRASOS

Existe gran diversidad de datos referidos a la composición de los ácidos grasos de la grasa láctea, y a que la misma está influenciada por diversos factores, tales como la alimentación de los rumiantes, el rendimiento lechero, la constitución genética, el estadio de la lactación, época del año, zona geográfica y prácticas ganaderas (Ordoñez, 1998; Sanz Sampelayo y cols., 2007).

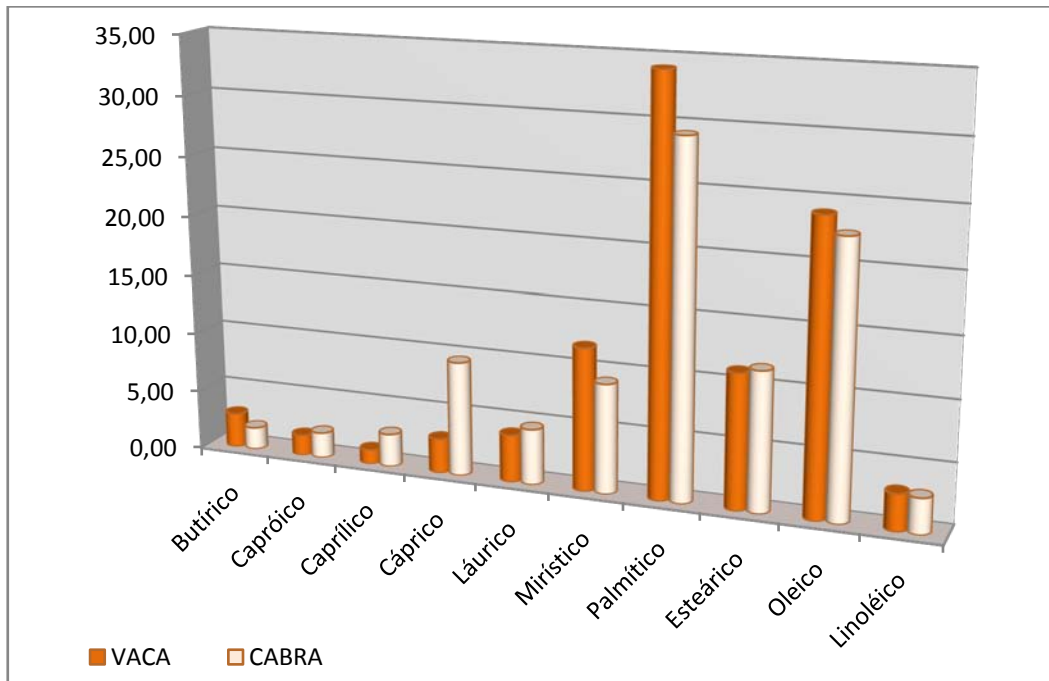
En la tabla 36, se presenta el contenido de ácidos grasos de las leches analizadas. En las leches crudas de cabra, los ácidos grasos mayoritarios en orden descendente fueron palmítico ($6,51 \pm 2,17$ g/100 g), el oleico ($3,95 \pm 1,34$ g/100 g), el cáprico ($2,68 \pm 1,04$ g/100 g) y el mirístico ($2,11 \pm 0,66$ g/100 g). En la leche comercial de cabra, fueron el oleico ($9,51 \pm 2,94$ g/100 g), el palmítico ($8,45 \pm 3,14$ g/100 g), el mirístico y el cáprico ($3,84$ y $3,34 \pm 1,21$ g/100 g, respectivamente). En la leche comercial de vaca, los ácidos grasos predominantes también fueron el palmítico y el oleico, pero en concentraciones superiores a los de la leche de cabra ($7,51 \pm 2,01$ g/100 g y $6,41 \pm 3,40$ g/100 g, respectivamente), luego le sigue el mirístico ($2,91 \pm 1,16$ g/100 g) y el esteárico con ($2,25 \pm 1,15$ g/100 g de leche).

El butírico, presentó diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tipos de leche, siendo su cantidad superior en leche de vaca. También se observó que las cantidades medias de caproíco, caprílico y cáprico fueron mayores en las leches de cabra, especialmente en la comercial que presentó las mayores cantidades tanto estos ácidos grasos como de los restantes.

En cuanto a las leches fermentadas comerciales de cabra y vaca, pueden observarse las cantidades de los distintos ácidos grasos en las tablas 43 y 44. Debido a que existe poca bibliografía referida al contenido de ácidos grasos en leches fermentadas de cabra, hemos utilizado para comparar nuestros resultados, los valores referidos a leche de cabra.

En leches fermentadas, el ácido graso mayoritario es el palmítico, tanto en las de vaca como en las de cabra, le siguen en cantidad el oleico, el mirístico y el esteárico, siendo sus valores mayores en las leches fermentadas de vaca (figura 19). Žan y cols., (2006) también observaron que el palmítico y el oleico eran los ácidos grasos que se encontraron en mayor concentración en leche de cabra, seguido del mirístico y del cáprico.

FIGURA 19. Perfil de ácidos grasos en leches fermentadas de cabra y vaca



Las leches fermentadas de cabra y vaca presentan una proporción ligeramente superior al 70% de ácidos grasos saturados (figuras 20 y 21).

Entre los ácidos grasos saturados, el ácido palmítico es el más abundante en ambas especies, siendo su concentración de 28,43% en los productos fermentados de cabra, y de 35,13% en los de vaca (Figura 19). Concretamente, los yogures naturales y los griegos presentaron las concentraciones más altas de este ácido graso, le siguen el mirístico y el esteárico.

Talpur y cols., (2009), estudiaron el perfil de ácidos grasos en leche de cabra y de oveja, y también observaron que el palmítico (C16:0), el mirístico (C14:0) y el esteárico (C18:0) fueron los ácidos grasos mayoritarios en ambos tipos de leche.

FIGURA 20. Concentración en porcentaje, de ácidos grasos saturados e insaturados en leches fermentadas de vaca.

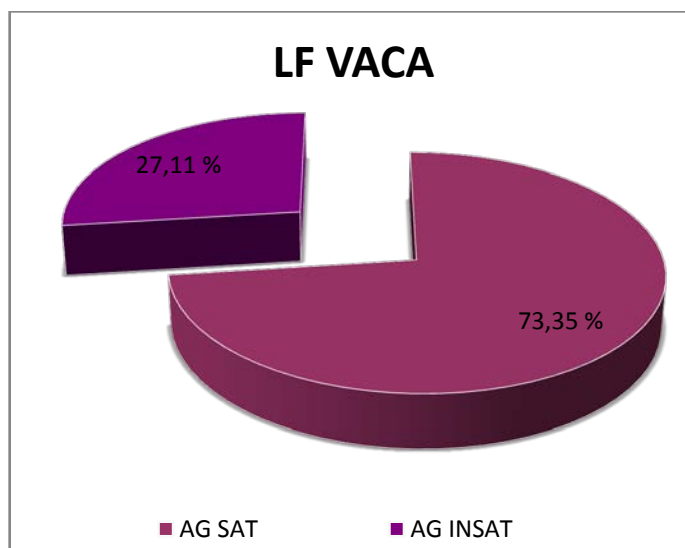
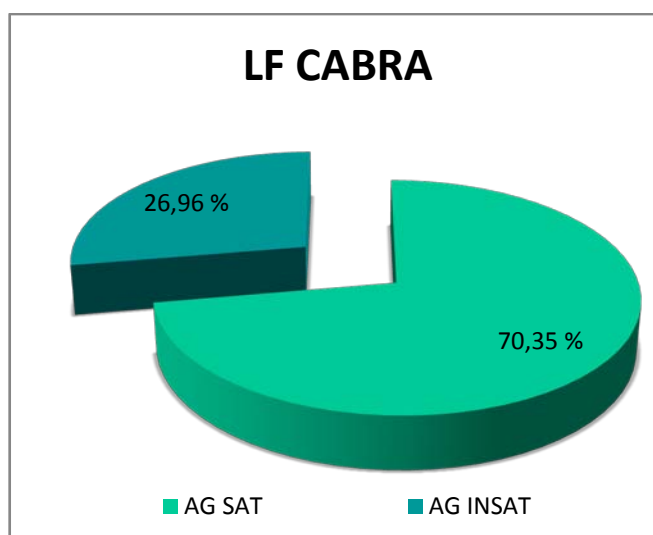


FIGURA 21. Concentración en porcentaje, de ácidos grasos saturados e insaturados en leches fermentadas de cabra.



Siguiendo con los ácidos grasos saturados, la proporción de ácido mirístico (C14:0) en nuestras muestras fue de 12,91% (4,35 g /100 g de leche fermentada) en leches fermentadas de vaca y de 8,97% (2,79 g /100 g de leche

fermentada) en leches fermentadas de cabra, similar a lo obtenido por Talpur y cols., (2009); y Schmidely y cols., (2005), en leche de cabra (9,85 y 12,03 %, respectivamente). En el caso de las leches fermentadas de cabra, una menor proporción de mirístico en la grasa láctea, podría resultar favorable para la salud humana debido a su efecto negativo en la aterosclerosis (Pfeuffer y Schrezenemeir, 2006).

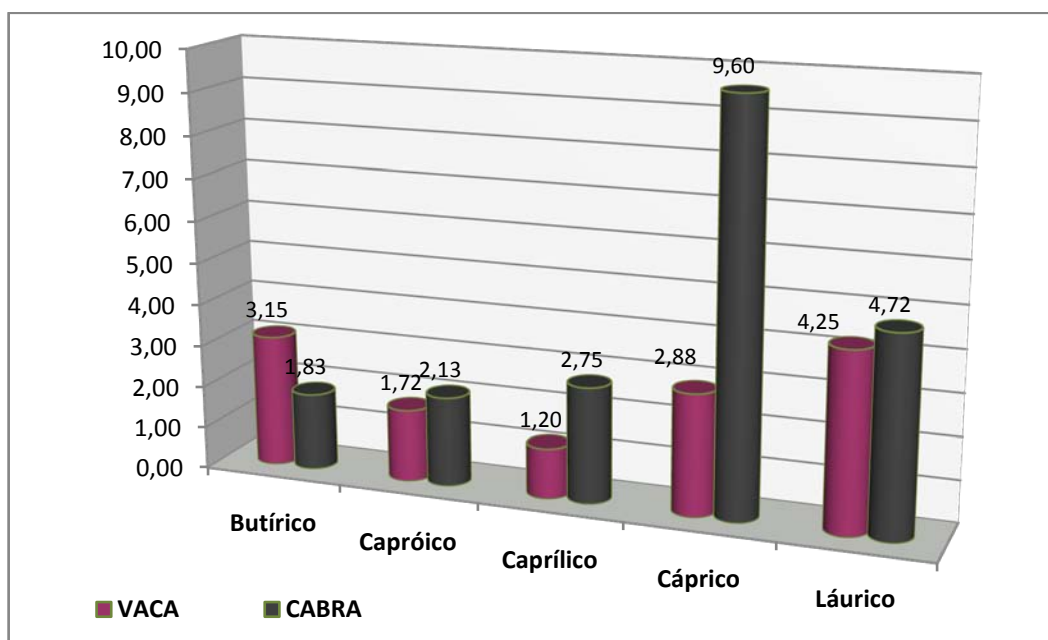
En cuanto a los ácidos grasos de cadena corta y media, (AGCC y M) las leches fermentadas de cabra presentaron las mayores concentraciones. A excepción del butírico (C4:0) (figura 22). En nuestros análisis, al igual que en los resultados obtenidos por Sanz Ceballos (2009), este último fue mayor en leche de vaca (3,02%) que en cabra (1,86%). Los valores más bajos de este ácido graso se encontraron en los kéfires de leche de cabra, con un 0,81%. En los productos fermentados de leche de vaca, el butírico presenta variaciones aportadas por el producto “Danacol” y el “Essensis”, cuyos valores son significativamente menores (0,31 y 0,49 g/100g, respectivamente) respecto a la media de 1,12 g/100 g de las leches fermentadas. Estos productos son leches fermentadas semidesnatadas pero con el agregado de otras fuentes de materia grasa, como es el aceite de borraja en el último producto. Bernard y cols. (2005) reportaron valores similares de butírico en leche de cabra, de 1,08 g/100 g. Sin embargo, Talpur y cols., (2009), obtuvieron una media de 3,98 g/100 g, valor similar al hallado por Le Doux y cols. (2002), de 3,34 y 4,02 en razas Saanen y Alpina, respectivamente.

El ácido graso mayoritario en los productos de cabra fue el cáprico, que se presenta con valores de 5,66 g/100 g de leche fermentada, lo que representa el 9,60%, frente a 1,05 g/100 g de leche fermentada de vaca (2,88%). Le sigue en cantidad, el láurico (4,72%), el caprílico (2,75%) y el caproíco (2,13%). Las mayores concentraciones se observaron en los yogures de elaboración propia o artesanales, seguidos de los comerciales y por últimos los kéfires de cabra, este último presentó valores más bajos en todos los ácidos grasos de cadena corta y media (figura 25).

Jeness (1980), y Sanz Ceballos y cols. (2009), compararon el perfil de ácidos grasos en leche de cabra y vaca, obteniendo mayor cantidad de

caprónico (C6: 0), caprílico (C8: 0), cáprico (C10: 0) y láurico (C12:0) en leches de cabra. Los resultados de estos autores, muestran que la leche de cabra tiene un contenido de 40% más alto de ácidos grasos de cadena media que la leche de vaca. Según Boza y Sanz Sampelayo (1997) y Chilliard y cols. (2006), estos ácidos grasos representan del 15 al 18% en la leche de cabra, mientras que en la de vaca es del 5 al 9%.

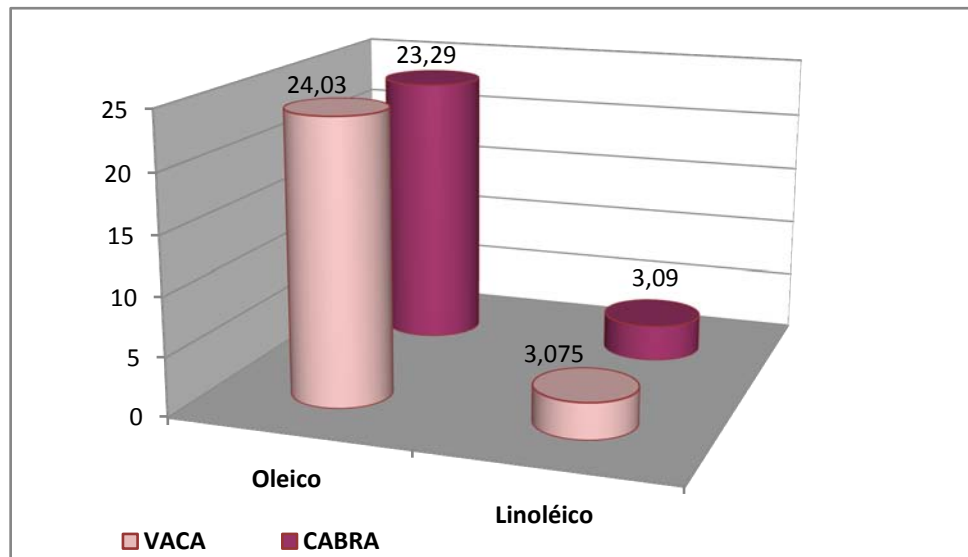
FIGURA 22. Proporción de ácidos grasos de cadena corta y media en leches fermentadas de cabra y vaca.



Por último, en cuanto a los ácidos grasos insaturados, el contenido porcentual de oleico fue de 23% en leches fermentadas de cabra y 24% en las de vaca, sin embargo, como puede observarse en la figura 23, cuando nos referimos a las cantidades de este ácido graso por 100 g de leche fermentada observamos que fue del 8,74 g/100 g en las de vaca y de 13,97 g/100 g en las de cabra. Lo mismo ocurre con el ácido graso linoléico, siendo sus valores relativos similares, pero al expresarlo en gramos de ácido graso por 100 g de leche fermentada se observa que la cantidad es mayor en las leches fermentadas de cabra que en las de vaca (1,80 g/100 g y 1,14 g/100 g ,

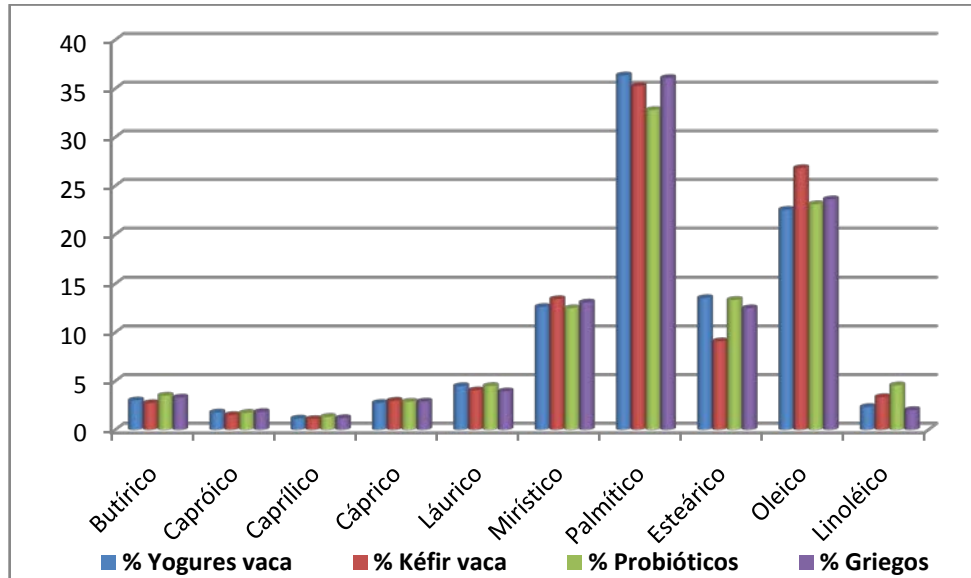
respectivamente), lo que hace a la leche de cabra un producto nutricionalmente más saludable, debido a sus conocidos beneficios para la salud humana.

FIGURA 23. Concentración en porcentaje de los ácidos grasos oleico y linoléico en leches fermentadas de cabra y vaca



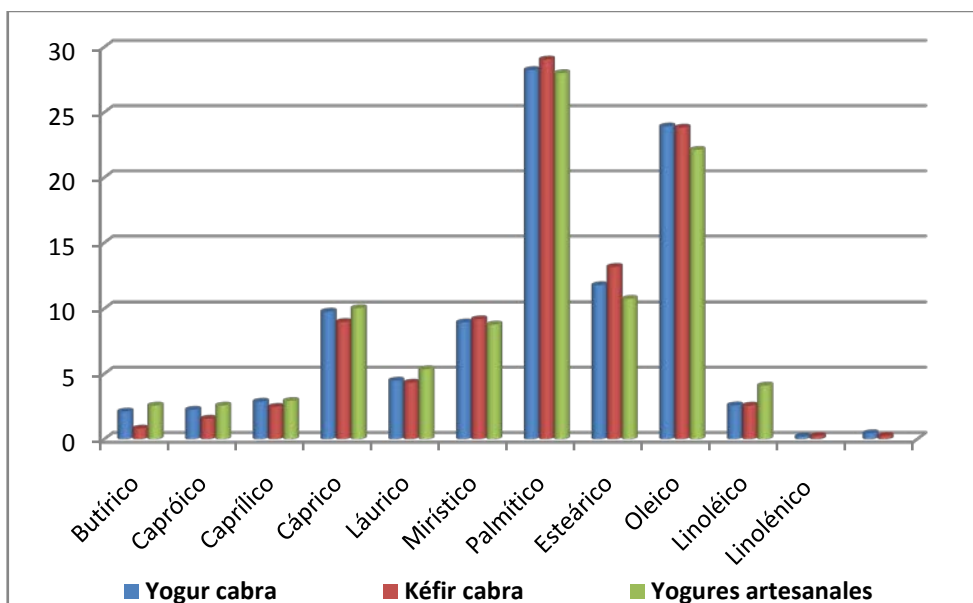
Valenzuela y cols, (1999) observaron en leches, que aunque el contenido de saturados y monoinsaturados son prácticamente idénticos, los ácidos grasos poliinsaturados resultaron mayor en la grasa de la leche de cabra. Entre ellos, los de la serie n-6 y n-3, fueron superiores en la leche de cabra respecto a la leche de vaca, y el n-6: n-3 fue notablemente inferior en ésta última, un aspecto que refleja un mayor nivel de calidad en cabra.

FIGURA 24. Perfil de los ácidos grasos en leches fermentadas de vaca. Valores expresados en porcentaje.



Entre las LF de vaca, los probióticos resultaron nutricionalmente mejores debido a que poseen menor concentración de pal mítico y mirístico, y mayor cantidad de AG insaturados, especialmente en linoléico.

FIGURA 25. Perfil de los ácidos grasos en leches fermentadas de cabra. Valores expresados en porcentaje.



Al comparar el perfil de ácidos grasos entre los productos fermentados **artesanales** y los **comerciales**, puede observarse que nutricionalmente son mejores los primeros, ya que poseen más ácidos grasos de cadena corta y media, menor contenido en esteárico, y mayor en linoléico. Sin embargo el oleico es ligeramente inferior en las LF artesanales, lo cual podría mejorarse controlando la alimentación que se le suministre al animal (Sanz Sampelayo y cols., 2007).

Según los valores de significancia obtenidos en el análisis estadístico, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de ácido graso caproico, caprílico, cáprico, láurico, palmítico, esteárico y oleico ($p < 0,05$), según si son leches fermentadas de cabra o vaca, siendo mayores en leches fermentadas de cabra. Según el tipo de producto en función del cultivo bacteriano iniciador, también se observaron diferencias estadísticamente significativas en el butírico, caproico, palmítico y oleico, concretamente, las mayores concentraciones de butírico se encontraron en las leches fermentadas elaboradas con bifidobacterias y las más bajas en los kéfires; mientras que el contenido de caproico, fue más abundante en las bifidobacterias y menor en las leches fermentadas elaboradas con otras bacterias probióticas. Sin embargo, tanto el ácido graso oleico como el palmítico, presentaron las mayores concentraciones en los kéfires y las menores en las leches fermentadas elaboradas con otras bacterias probióticas.

VI. CONCLUSIONES

En la caracterización físico-química y nutricional de las leches comerciales crudas y fermentadas estudiadas, se han determinado los parámetros siguientes: pH, acidez, extracto seco, cenizas, acetaldehído, lactosa, galactosa, proteínas, grasas, ácido láctico, calcio, cobre, cromo, fósforo, magnesio, manganeso, selenio, zinc y el perfil de ácidos grasos.

1. Según el tipo de leche:

- Se han analizado 50 muestras de leches crudas y comerciales de cabra, estas últimas correspondientes a la producción anual de un año de las explotaciones ganaderas más importantes en Andalucía, así como en las leches comerciales más representativas de vaca.
- Se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre la **lactosa** de la leche comercial de vaca ($4,90 \pm 0,13$ g/%) y la de la leche comercial de cabra ($3,43 \pm 0,22$ g/%), entre las **cenizas** de la leche cruda de cabra ($0,84 \pm 0,02$ g/%) y las de la leche comercial de cabra ($0,74 \pm 0,02$ g/%); en el **extracto seco** de leches crudas ($13,29 \pm 1,09$ g/%) y leches comerciales de cabra ($10,84 \pm 0,29$ g/%); entre el **calcio** en leche cruda ($120,5 \pm 4,10$ mg/%) y comercial de cabra ($127,35 \pm 3,74$ mg/%); entre el **magnesio** de las leches comerciales de cabra ($10,95 \pm 1,90$ mg/%) y vaca ($9,63 \pm 0,25$ %); entre el **zinc** en leches crudas (340 ± 20 µg/%) y comerciales de cabra (440 ± 12 µg/%), así como entre el anterior grupo con la leche de vaca comercial (480 ± 20 µg/%), y entre los niveles del ácido graso caprílico de las leches de cabra, crudas y comerciales ($2,680 \pm 1,049$ g/% y $3,347 \pm 1,211$ g/%, respectivamente) y las comerciales de vaca ($0,965 \pm 0,464$ g/%).

2. Atendiendo al origen de las leches fermentadas

- Se han analizado 74 muestras de leches fermentadas comerciales de cabra y vaca y artesanales de cabra.
- En las de cabra, los niveles de calcio y los de los ácidos grasos caprílico, caprílico, caprílico, láurico, palmítico, estéarico, oleico y linoléico fueron significativamente superiores a los de las leches fermentadas de vaca.

- El ácido gálico es el más abundante en todas las leches fermentadas es el palmítico, seguido del oleico.

3. En relación al tipo de leche fermentada, atendiendo a las bacterias ácido lácticas adicionadas:

- Hemos observado que existen diferencias estadísticamente significativas en el **extracto seco**, presentando el menor valor los kéfires; y en las **proteínas** siendo los yogures los que mostraron las mayores concentraciones, especialmente los griegos y desnatados.
- En referencia a los minerales, en el **fósforo** las mayores concentraciones se determinaron en los yogures tradicionales frente a las de otras leches fermentadas. Para el **magnesio** fue en kéfires y leches fermentadas con bifidobacterias donde se determinaron niveles estadísticamente superiores a los del yogur tradicional y otras leches fermentadas probióticas. En las leches fermentadas con otras bacterias probióticas, las concentraciones de **zinc** fueron significativamente inferiores a las de las restantes leches fermentadas.
- En relación a los **ácidos grasos** se apreciaron diferencias significativas en el **butírico** que fue superior en las leches fermentadas con bifidobacterias, respecto a las de kéfir; en el **caproico** que fue mayor en leches fermentadas con bifidobacterias respecto a las que incluyen otras bacterias probióticas; y en los ácidos **palmítico** y **oleico** que fueron significativamente inferiores en leches fermentadas con otras bacterias probióticas.

4. En función del método de elaboración de las leches fermentadas de cabra

- Las leches fermentadas de cabra de elaboración artesanal presentaron niveles significativamente superiores de cenizas, fósforo y ácido linoléico, e inferiores en grasas, calcio y manganeso que las leches fermentadas de cabra comerciales ($p < 0,05$).

5. De entre las múltiples correlaciones lineales estadísticamente significativas establecidas entre los diferentes parámetros físico-químicos y nutricionales determinados en las leches fermentadas, es destacable el que tiene lugar entre los ácidos grasos caprílico y cáprico ($p < 0,05$ y $r > 0,8$). Este resultado implica la existencia de una regulación interdependiente en la biosíntesis de estos dos ácidos grasos en las leches fermentadas.

CONCLUSION FINAL

La leche de cabra tiene ventajas nutricionales reseñables respecto a la leche de vaca al presentar mayores niveles de Mg. Este resultado se refuerza en las leches fermentadas donde se hallaron mayores concentraciones de Ca y de los ácidos grasos de cadena corta y media, así como de oleico y linoléico. Estos hallazgos reafirman la mayor digestibilidad y calidad nutricional de la fracción grasa de las leches fermentadas de cabra. Adicionalmente el cultivo microbiano fermentador usado en las leches fermentadas influye significativamente en su composición, afectando al extracto seco, al contenido proteico y mineral y al perfil de ácidos grasos.

Finalmente, el microorganismo probiótico fermentador usado en la elaboración de las leches fermentadas artesanales de cabra, desarrollado por nuestro grupo de investigación, influyó en la composición final.

VII. BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1. AAMANT F. Cultivos lácticos para productos lácteos. Una estrategia para el desarrollo futuro. *Tecn. Lact. Latinoam.*, 1: 31 – 36, (1995).
2. ABDULRAHMAN, O .; MUSAIGER J. A.; AL -SAAD, D .S.; AL -HOOTI and ZAKARIA A. K. Chemical co mposition o f fermented d airy pr oducts consumed in Bahrain. *Food Chem.*, 61 (1-2): 49-52, (1998).
3. ABRAHAM, A .G. and DE ANTONI, G.L. Características de gránulos de kéfir des arrollados en leche y leche de soja. En: Resúmenes del 10^{mo} Seminario Latinoamericano y del Caribe de Ciencias y Tecnología de Los Alimentos. 7^{mo} Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Buenos Aires (República Argentina). 1997.
4. ABRAHAM, A .G.; G ARROTE, G.L. and D E A NTONI, G.L. K éfir: Actualidad de una leche fermentada artesanal. En: Resúmenes del VIII Congreso A rgentino de C iencia y Tecnología de A limentos. Santa F e (República Argentina). 1999. 4.1.
5. ACS COMMITTEE ON ENVIROMENTAL IMPROVEMENT. Guidelines for data acq uisition and dat a q uality ev aluation i n env ironmental ch emistry. *Anl. Chem.*, 52: 2242, (1980).
6. ADOLFSSON, O.; NIKBIN MEYDAN, S.I. and RUSSELL, R.M. Yogurt and gut function. *Am. J. Clin. Nutr.*, 80: 245–256, (2004).
7. AGNIHOTRI, M.K. and PRASAD, V.S.S. Biochemistry and processing of goat milk and milk products. *Small Rumin. Res.*, 12: 151-170, (1993).
8. ALAIS, C. Manual de bi oquímica de l os alimentos. Barcelona: Masson, (1990).
9. ALBENZIO, M.; CAROPRESE, M.; MARINO, R.; MUSCIO, A.; SANTILLO, A. and S EVI, A. Characteristics of Garganica goat milk and Ca cioricotta cheese. *Small Rumin. Res.*, 64:35–44, (2006).
10. ALCALDE ALDEA, M.J. Calidad higiénico- sanitaria de la leche de cabra. En: 22 ° C ongreso A rgentino de P roducción A nimal; O ct 14 – 16; R ío Cuarto, Córdoba. Argentina. p. 1-11 (1998).
11. ALFÉREZ, M .J.M.; L ÓPEZ-ALIAGA, I .; B ARRIONUEVO, M .; L ISBONA, F.; HARTITI, S.; PALLARES, I. and CAMPOS, M.S. Calcium absorption in rats with distal intestinal resection: influence of dietary fat, cholecalciferol

- and nature of the adaptive response. *Int. J. Vit. Nutr. Res.*, 66: 59 – 65, (1996).
12. ALFÉREZ, M .J.; B ARRIONUEVO, M .; L ÓPEZ-ALIAGA, I. ; S ANZ SAMPELAYO, M .R.; L ISBONA, F . a nd C AMPOS, M .S. The d igestive utilization o f goat a nd cow milk fat i n m alabsorption syndrome. *J. Dairy Res.*, 68: 451 – 461, (2001).
 13. ALFÉREZ, M.J.M.; LÓPEZ ALIAGA, I.; NESTARES, T.; DÍAZ CASTRO, J. Dietary goat m ilk improves iron bi oavailability i n r ats with i nduced ferropenic anaemia i n comparison with cow milk. *Int. Dairy J.*, 16: 813–821, (2006).
 14. ALM L. Effect of fermentation on lactose, glucose, and galactose content i n milk and su itability of fermented milk products for l actose i ntolerant individuals. *J. Dairy Sci.*, 65: 346 – 52, (1982).
 15. AMERICAN DA IRY G OAT ASSOCIATION. Goat Milk Facts (en lí nea). (2004). D isponible en:
<http://members.aol.com/drinkingoatsmilk/milkfacts.htm>
 16. AMIOT J. Ciencia y Tecnología de l a Leche. Acribia Zaragoza, España, pp: 69, (1991).
 17. ANJANEYULU, A.S.R.; LAKSHMANAN, V. and KESAVA RAO, V. Status of meat and milk production from Indian goats. *J. Food. Sci. Technol.*, 22: 151-160, (1985).
 18. ANSELMO, R.J.; VIORA, S.S.; LAUSADA, L.I. Effect of kefir bactericide on *Salmonella* spp. *Información Tecnológica*, 12: 91-95, (2001).
 19. ANTUNAC, N. and SAMARZIJA, D. Proizvodnja, sastav l josobine kozjeg mlijeka. (Production, composition and properties of goat milk). *Mljekarstvo Dairy*, 50: 53–66, (2000).
 20. AOAC (Association o f O fficial A nalytical Ch emists). O fficial M ethods of Analysis (18th ed.). Washington, DC: USA., 2006.
 21. ARANCETA BARTRINA, J. La l eche y los lácteos en l a alimentación de los españoles. En: ARANCETA, J.; SERRA, LL. Leche, Lácteos y Salud. Madrid, España: Editorial Médica Panamericana, S.A., pp: 31-42, (2005).
 22. ARORA, K. a nd SINGH S . Effect o f bl ending goat an d buffalo milk on sensory characteristics of ghee. *Indian J. Dairy Sci.*, 39: 488-490, (1986).

23. ATTAIE, R. and RITCHER, R. L. Size distribution of fat globules in goat milk. *J. Dairy Sci.*, 83: 940–944, (2000).
24. BALLESTA, S.; VELASCO, C.; BOROBIO, M. V.; ARGÜELLES, F. and PEREA, E.J. Yogures frescos frente a pasteurizados: estudio comparativo de sus efectos sobre los parámetros microbiológicos, inmunológicos y el bienestar gastrointestinal. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, 26 (9): 552-7, (2008).
25. BANDA, J., STEINBAH, J. and ZERFAS H. P. Composition and yield of milk from non-dairy goats and sheep in Malawi. *En Rey B., S.B. Lebbie y I. Reynolds (Eds) Small Rumin. Res. and Development in Africa. African Small Ruminant Research Network. ILCA, Nairobi, Kenya. (1992).* Disponible en: <http://www.fao.org/Wairdocs/ILRI/x5520B/x5520b1b.htm>
26. BARBA, C.; DE LA NUEZ, J.; FERNÁNDEZ, M.; RODRÍGUEZ, J. and PARIACOTE, F. Estimación de la producción de leche en la Agrupación Caprina Canaria. Caso de una explotación modelo en régimen intensivo. *Zootecnia Trop.*, 19 (Supl. 1): 289-296, (2001).
27. BARÓ RODRÍGUEZ, L.; LÓPEZ-HUERTAS, L.E. and BOZAPUERTA, J.J. En: Gil A (editor). *Tratado de Nutrición. Tomo II: Composición y calidad nutritiva de los alimentos.* Ed. Médica Panamericana. 2010. Madrid, España.
28. BARRIONUEVO, M.A.; ROSB, P.B., CAMPOS, M.S.; ALONSO, L.; FONTECHA, J., LOZADA, L.; FRAGA, M.J. and JUAREZ, M. Fatty acid composition of caprine milk: major, branched chain, and trans fatty acid. *J. Dairy Sci.*, 5: 878 – 884, (1999).
29. BARRIONUEVO, M.; ALFÉREZ, M.J.M.; LÓPEZ ALIAGA, I.; SANZ SAMPELAYO, M.R. and CAMPOS, M.S. Beneficial effect of goat milk on nutritive utilization of iron and copper in malabsorption syndrome. *J. Dairy Sci.*, 85: 657 – 664, (2002).
30. BARRIONUEVO, M.; LÓPEZ ALIAGA, I.; ALFÉREZ, M.J.M.; MESA, E.; NESTARES, T. and CAMPOS, M.S. Beneficial effect of goat milk on bioavailability of copper, zinc and selenium in rats. *J. Physiol. Biochem.*, 59 (2): 111 – 118, (2003).
31. BELITZ, H.D. and GROSCH, W. *Química de los alimentos.* Acribia. Zaragoza, pp. 813, (1997).

32. BERNARD L., ROUEL J., LEROUX C., FERLAY A., FAULCONNIER Y., LEGRAND P., CHILLIARD Y. Mammary lipid metabolism and milk fatty acid secretion in alpine goats fed vegetable lipids. *J. Dairy Sci.*, 88: 1478-1489 (2005).
33. BESHKOVA, D.; SIMOVA, E.; FRENGOVA, G. and SIMOV, Z. Production of flavor compounds by yogurt starter cultures. *J. Ind. Microbiology and Biotechnology*, 20: 180–186, (1998).
34. BEUTLER, H.O. Lactose and D-Galactose. In *Methods of Enzymatic Analysis* (Bergmeyer, H.U., ed.), 3rd ed., Vol. VI, pp. 104-112, VCH Publishers (UK) Ltd, Cambridge, UK., (1988).
35. BEVILACQUA, C.; MARTIN, P.; CANDAHHLH, C.; FAUQUANT, J.; PIOT, M.; ROUCAYROL, A.M.; PILLA, F. and HEYMAN, M. Goat's milk of defective aS1-casein genotype decreases intestinal and systemic sensitization to b-lactoglobulin in guinea pigs. *J. Dairy Sci.*, 68: 217-222, (2001).
36. BIANCA-MARÍA, E.; RAVILACQUA, C.; MARTIN, P. and CHANDAL, C. Goat's milk of defective aS1-casein genotype decreases intestinal and systemic sensitization to b-lactoglobulin in guinea pigs. *J. Dairy Res.*, 68: 217 – 227, (2001).
37. BINDAL, M.P. and WADHWA, B.K. Compositional differences between goat milk fat and that of cows and buffaloes. *Small Rumin. Res.*, 12: 79-88, (1993).
38. BISSONNETTE, D.J.; JEEJEEBHOY, K.N., eds. Meeting dietary nutrient requirements with cow's milk and milk products. Rotterdam: Balkeema, (1994).
39. BIZZOZERO, N.; PROCATI, G. Caratteristiche chimiche di campioni commerciali di yogurt. *Industrie Alimentari*, (2001).
40. BONCZAR, G.; WSZOLEK, M. and SIUTA, A. The effects of certain factors on the properties of yogurt made from ewe's milk. *Food Chem.*, 79: 85 – 91, (2002).
41. BORRUEL SAINZ N. Interacciones de las Bacterias de la Flora con el Sistema Inmune Intestinal. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Barcelona, (2005).

42. BOUDIER, J. F. Productos frescos. En: Luquet F M. Leche y productos lácteos: vaca – oveja – cabra. Los productos lácteos. Transformación y Tecnologías. Vol. 2. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A, pp.: 33 – 58, (1993).
43. BOURLIOUX, P. and P OCHART, P. Nutritional and health properties of yogurt. *World Rev. Nutr. Diet.*; 56: 217- 58 (1988).
44. BOZA, J. Obtención de hidrolizados enzimáticos de proteínas lácticas. Estudio del valor nutritivo y de la capacidad antigénica. Tesis doctoral. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada, (1992).
45. BOZA, J. and SANZ S AMPELAYO, M.R. Aspectos nutricionales de la leche de cabra. *ACVAO*, 10: 109-139, (1997).
46. BOZANIK, R.; ROGELJ, L. and TRATNIK, L.J. Fermented acidophilus goat's milk supplemented with inulin: comparison with cow's milk. *Milchwiss*; 56: 618-22, (2001).
47. BRANNON, C.A. Prebiotics as “good carbs”. *Today's Dietitian*, 8 (8): 12–21, (2006).
48. BRANDAO, G.C.; RAILDO, M.J.; DA SILVA, E.G. and FERREIRA, S.L.C. *Talanta*, 81: 1357–1359, (2010).
49. BRENDHAUG, J. and ABRAHAMSEN, R. K. Chemical composition of milk from a herd of Norwegian goats. *J. Dairy Res.* 53 (2): 211-221, (1986).
50. BRIALY, C.; RIVALLAND, P.; COIFFARD, L. and DE ROECK HOLTZHAUER, Y. Microbiological study of lyophilized dairy kefir. *Folia Microbiologica*, 40: 198 – 200, (1995).
51. BRONNER, F. and PANSU, D. Nutritional aspects of calcium absorption. *J. Nutr.*, 129, 9-12, (1999).
52. BROWN, K.H.; PEERSON, J.M.; RIVERA, J. and ALLEN, L.H. Effect of supplemental zinc on the growth and serum zinc concentrations of prepubertal children: A meta-analysis of randomised trials. *Am. J. Clin. Nutr.*, 75: 1062 – 1071, (2002).
53. BURGUESS, K.J. Productos lácteos. En: RANKEN, M.D., editor. Manual de industrias de los alimentos. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A., pp. 147 – 149, (1993).

54. BUTTRISS, J. Nutritional properties of fermented milk products. *Int. J. Dairy Tech.*, 50: 21–27, (1997).
55. CALDERON, I.; DE PETERS, E. J.; SMITH, N. E. and FRANKE, A. A. Composition of goat's milk: Changes within milking and effects of a high concentrate diet. *J. Dairy Sci.*, 67: 1905–1911, (1984).
56. CAMPOS, M. S.; LÓPEZ-ALIAGA, I.; ALFÉREZ, M. J. M.; NESTARES, T. and BARRIONUEVO, M. Effects of goat's or cow's milks on nutritive utilization of calcium and phosphorous in rats with intestinal resection". *Br. J. Nutr.*, 90: 61-67, (2003).
57. CARNICELLA, D.; DARIO, M.; AYRES, M. C.; LAUDALIO, V. and DARIO, C. The effect of diet, parity, year and number of kids on milk yield and milk composition in maltese goat. *Small Rumin. Res.*, 77: 71-74, (2008).
58. CARVAJAL AZCONA, A. La dieta mediterránea en España, 1ª parte. (2008). Disponible en: www.ucm.es/info/nutri1/carbajal/manual.htm
59. CASALTA, E.; CACHENAUT, J. M., AUBERT, C.; DU FRENE, F.; NOEL, Y. and BEUVIER, E. Application of specific starters for manufacture of Venaco cheese. *Lait*, 85: 205–222, (2005).
60. CASTAGNASSO, H.; MICELI, E.; DIETRICH, M. and LACCHINI, R. Composición de leche de cabra criolla y cruce criolla con nubian. Vº Congreso de especialistas en pequeños rumiantes y camélidos sudamericanos, Mendoza, Argentina, (2007).
61. CAURANT, F. Bioaccumulation de quelques éléments traces (As, Cd, Cu, Hg, Se, Zn) chez le globicéphale noir (*Globicephala mallas*, Delphinidé) pêché au large des îles Feroé. Tesis doctoral. Université de Nantes, (France), (1994).
62. CESNI (Centre d'Ensenyament Superior de Nutrició i Dietètica). Tablas de composición de alimentos/Taules de composició d'aliments. Coordinadas por el Dr. Andreu Farran. Mc- Graw-Hill, Interamericana y Edicions de la Universitat de Barcelona. Barcelona, (2003).
63. CÓDIGO ALIMENTARIO ESPAÑOL y DISPOSICIONES COMPLEMENTARIAS. Edición preparada por Paloma Deleuze Iñasi. Madrid: Tecnos., (2006).
64. COLLOMB, M.; BUTIKOFER, U.; SIEBER, R.; JEANGROS, B. and BOSSET, J. O. Composition of fatty acids in cow's milk fat produced in the

- lowlands, mountains and highlands of Switzerland using high-resolution gas chromatography. *Int. Dairy J.*, 12 (8): 649-659, (2002).
65. COSTA, R. G.; BELTRÃO FILHO, E. M.; RAMOS DE EGYPITO QUEIROGA, R. de C.; SUELY MADRUGA, M.; NUNES DE MEDEIROS, A. and BRUNO DE OLIVEIRA, C. J. Chemical composition of milk from goats fed with cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L. Miller) in substitution to corn meal. *Small Rumin. Res.*, 94: 214 - 217, (2010).
 66. CHACÓN VILLALOBOS, A. Acidez y peso específico de la leche de cabra de un grupo de capricultores de la meseta central costarricense. *Agronomía mesoamericana*, 15 (2): 179-183, (2004).
 67. CHACÓN, A. Aspectos nutricionales de la leche de cabra (*capra hircus*) y sus variaciones en el proceso agroindustrial. *Agronomía Mesoamericana* 16 (2): 239-252, (2005).
 68. CHANDAN, R. C.; ATTAIE, R. and SAHANI, K.H. Nutritional Aspects of goat milk and its products. En: Recent advances in goat production. Pre-Conference Proceedings. Vol. I, Part II, 399: 420, (1992).
 69. CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; ROUE, J.; and LAMBERET, G. A Review of Nutritional and Physiological Factors Affecting Goat Milk Lipid Synthesis and Lipolysis. *J. Dairy Sci.*, 86 (5): 1751-1770, (2003).
 70. CHILLIARD, Y.; ROUEL, J.; FERLAY, A.; BERNARD, L.; GABORIT, P., RAYNAL-LJUTOVAC, K. and LAURET, A. Effects of type of forage and lipid supplementation on goat milk fatty acids and sensorial properties of cheeses. In: Future of the Sheep and Goat Dairy Sector, IDF 0501, part 5, pp. 297–304, (2005).
 71. CHILLIARD, Y.; ROUEL, J.; FERLAY, A.; BERNARD, L.; GABORIT, P., RAYNAL-LJUTOVAC, K.; LAURET, A. and LEROUX, C. Optimising goat's milk and cheese fatty acid composition. In: Williams, C., Buttriss, J. (Eds.), Improving the Fat Content of Foods. Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, U.K, (Chapter 12), pp. 281–312, (2006).
 72. CRITTENDEN, R.G.; MARTINEZ, N.R. and PLAYNE, M.J. Synthesis and utilization of folate by yoghurt starter cultures and probiotic bacteria. *Int. J. Food Microbiol.*, 80: 217–222, (2003).

73. DAEL P., SH EN L, R ENTERGHEM R and DEELSTRA H. S elenium content of goat milk and its distribution in protein fractions. *Zeitschrift fuer Lebensmittel Untersuchung und Forschung* 195 (1): 3-7 (1992).
74. DANDRIFOSSE, G.; P EULEN, O.; EL KHEFIF, N .; D ELOYER, P .; DANDRIFOSSE, A .C. a nd G RANDFILS, C. A re milk polyamines preventive ag ents against food al lergy?. *Proc. Nutr. Soc.*, 5 9: 8 1-86, (2000).
75. DAVE, R .I. a nd S HAH, N .P. C haracteristics of bacteriocin pr oduced by *Lactobacillus acidophilus* LA-1. *Int. Dairy J.*, 7: 707–715, (1997).
76. DAVE, R .I. and S HAH, N .P. I ngredient S upplementation E ffects on Viability of P robiotic Bacteria i n Y ogurt. *J. Dairy Sci.*, 81: 280 4-1816, (1998).
77. DE A NTONI, G .L. A spectos tecnológicos y probióticos de pr oductos fermentados con m icroorganismos aislados de g ránulos de ké fir. E n: Resúmenes del X C ongreso A rgentino d e C iencia y T ecnología de Alimentos. 1^{er} Simposio I nternacional de Nuevas Tecnologías. B uenos Aires (República Argentina), 2005.
78. DE LA FUENTE, M.A. Changes on the mineral balance in milk submitted to technological t reatments. *Trends in Food Sci. Tech.*, 9 , 2 81–288, (1998).
79. DE LA FUENTE, M.A.; MONTES, F .; GUERRERO, G. and JUÁREZ, M. Total and soluble contents of calcium, magnesium, phosphorus and zinc in yoghurts. *Food Chem.*, 80: 573 – 578, (2003).
80. DE LA FUENTE, M.A.; JUÁREZ, M. and LUNA, P. Validation of a Rapid Milk Fat S eparation Method to D etermine the F atty A cid P rofile by G as Chromatography. *J. Dairy Sci.*, 88 (10): 3377-3381, (2005).
81. DEBSKI, B.; P ICCIANO, M .F. a nd M ILNER, J. A. S elenium co ntent a nd distribution of human, cow and goat milk. *J. Nutr.*, 117: 35– 46, (1987).
82. DEETH, H .C. a nd TAMIME, A .Y. Y oghurt: N utritive and t herapeutic aspects. *J. Food Protect.*, 44: 78 – 86, (1981).
83. DELISLE, J.; AMIOT, J.; a nd DORÉ, F. B iological a vailability o f calcium and magnesium from dairy products. *Int. Dairy J.*, 5: 87–96, (1995).

84. DE VRESE, M.; KELLER, B. and BARTH, C.A. Enhancement of intestinal hydrolysis of lactose by microbial β -galactosidase (EC 3.2.1.23) of kefir. *Brit. J. Nutr.*, 67: 67-75, (1992).
85. DOSTALOYA, J. Goats milk. *Vyziva*, 49 (2):43-44, (1994).
86. DROUVAULT, S.; CORTIER, G.; EHRLICH, D. and Renault, P. Survival, physiology, and lysis of *Lactococcus lactis* in the digestive tract. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65: 4881-4886, (1999).
87. DUEZ, H.; PELLETIER, C.; COOLS, S.; AISSI, E.; CAYUELA, C.; GAVINI, F.; BOUQUELET, S.; NEUT, C. and MENGAUD, J: A colony-immunoblotting method for quantitative detection of a *Bifidobacterium animalis* probiotic strain in human faeces. *J. Applied Microb.*, 88: 1019-1027, (2000).
88. DUGGAN, C.; GANNON, J. and WALKER, W.A. Protective nutrients and functional foods for the gastrointestinal tract. *Am. J. Clin. Nutr.*, 75: 789 – 808, (2002).
89. ENB, A.; ABOU DONIA, M.A.; ABD-RABOU, N.S., ABOU-ARAB, A.A.K. and EL-SENAITY, M.H. Chemical Composition of Raw Milk and Heavy Metals Behavior During Processing of Milk Products. *Global Veterinaria*, 3 (3): 268-275, (2009).
90. EL-GAWAD, I.A.A.; EL-SAYED, E.M.; HAFEZ, S.A.; EL ZEINI, H.M. and SALEH, F.A. The hypocholesterolaemic effect of milk yoghurt and so yoghurt containing bifidobacteria in rats fed on a cholesterol-enriched diet. *Int. Dairy J.*, 15: 37-44, (2005).
91. EL ZUBEIR, I. E.M.; ABDALLA, W.M. and EL OWNI, O.A.O. Chemical composition of fermented milk (rouf and mish) in Sudan. *Food Control* 16: 633-637, (2005).
92. ERTEKIN, B. and GÜZEL-SEYDIM, Z.B. Effect of fat replacers on kefir quality. *J. Sci. Food and Agriculture*, 90 (4), 543-548, (2010).
93. ESPIE, W.H. and MULLAN, W.M.A. Compositional aspects of goat milk in northern Ireland. *Milchwissenschaft*, 145: 361 – 362, (1990).
94. EXL, B.M.; FRITSCHÉ, R. Cow's milk protein allergy and possible means for its prevention. *Nutrition.*, 17: 642-651, (2001).
95. FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). La leche y productos lácteos en la nutrición humana.

- Colección FAO: Alimentación y Nutrición N° 28. Roma, Italia,. pp: 153 – 175, (1997).
96. FAO. Production Year book 2002. Food Agric. Organization, UN, Rome, Italy, pp. 271, (2003).
 97. FAO. Statistical Year book, Food Agric. Organization, (2004). Disponible en: <http://www.fao.org>.
 98. FAOSTAT. Base de datos estadísticos de la FAO. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Disponible en: <http://faostat.fao.org>
 99. FARÍA REYES, J.F.; GARCÍA, A.; ALLARA, M.; GARCÍA, A.; OLIVARES, Y, and RÍOS, G. Algunas características físico-químicas y microbiológicas de la leche de cabra producida en Quisiro. Fac. Agron., 16: 99-106, (1999).
 100. FARNSWORTH, J.P.; LI, J.; HENDRICKS, G.M. and GUO, M.R. Effects of transglutaminase treatment on functional properties and probiotic culture survivability of goat milk yogurt. Small Rum. Res., 65: 113-121, (2006).
 101. FESNAD. (Federación Española de Sociedades de Nutrición, Alimentación y Dietética). Ingestas Dietéticas de Referencia (IDR) para la población española. EUNSA. Ediciones Universidad de Navarra, S.A. Pamplona, 2010.
 102. FEHR, P.; CHILLIARD, Y. and SAUVANT, D. Goat milk and its components. Proc. Int. Conf. Goat Production and Disease, pp. 113-121, (1982).
 103. FELLER, E.; CESCATTI, G.; SEPPI, A.; AVANCINI, A.; GIACOMELLI, F. and BOSSI, M.G. Lo yogurt, caratteristiche nutrizionali, microbiologiche, biochimiche. Il Latte XV, (1990).
 104. FLYNN, A. and CASHMAN, K. Nutritional aspects of minerals in bovine and human milks. In P.F. Fox (Ed.), Advanced Dairy Chemistry, vol. 3. Lactose, water, salts and vitamins (pp. 257–302). London: Chapman and Hall, (1997).
 105. FOUCAUD C and POOLMAN B. Lactose transport system of *Streptococcus thermophilus*. J. Biol. Chem., 267: 22087-22094, (1992).
 106. FULLER, R. Probiotics in man and animals. Applied Bacteriology, 66: 365-378, (1989).

107. GALDEANO, C.M. and PERDIGÓN, G. Role of viability of probiotic strains in their persistence in the gut and in mucosal immune stimulation. *J. Applied Microb.*, 97, 673-681, (2004).
108. GAMBELLI, L.; MANZI, P.; PANFI, G.; VIVANTI, V, and PIZZOFERRATO, L. Constituents of nutritional relevance in fermented milk products commercialized in Italy. *Food Chem.*, 66: 353-358, (1999).
109. GARROTE, G.L.; ABRAHAM, A.G. and DE ANTONI, G.L. Preservation of kefir grains, a comparative study. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, 30 (1), 77- 84, (1997).
110. GAUDICHON, C .; ROOS, N .; MAHÉ, S .; SICK, H .; BOULEY, C . and TOMÉ, D. Gastric emptying regulates the kinetics of nitrogen absorption from ¹⁵N-labeled milk and ¹⁵N-labeled yogurt in miniature pigs. *J. Nutr.* 124:1970-1977, (1994).
111. GILLILAND, S.E. and WALKER, D.K. Factors to consider when selecting a culture of *L. acidophilus* as a dietary adjunct to produce a hypocholesterolemic effect on humans. *J. Dairy Sci.*, 73: 905, (1990).
112. GONZALES CRESPO, J. ; LOZANO, M. ; MAS, M. and SERRANO, A. Producción y composición química de la leche de cabra. *Verata Alimentaria*, 263: 53-58, (1995).
113. GÖSTA BYLUND, M. and LÓPEZ GÓMEZ. A. Tetra Pak Hispania. Manual de industrias lácteas. (2003).
114. GRANDPIERRE, C.; GHISOLFI, J. and THOUVERROT, J.P. Biochemical study of goat's milk. *Cahiers de Nutrition et de diététique*, 23 (5): 367-374, (1988).
115. GUÉGUEN, L. La valeur nutritionnelle minérale du lait de chèvre. In: Intérêts nutritionnel et diététique du lait de chèvre, Niort, Ed INRA, Paris Colloques, pp. 67-80, (1997).
116. GÜLER-AKIN, M .B. and SERDAR AKIN, M . Effects of cy steine and different incubation temperatures on the microflora, chemical composition and sensory characteristics of bio-yogurt made from goat's milk. *Food Chem.*, 100: 788-793, (2007).
117. GÜLER, Z and GÜR SOY-BALCI, A.C. Evaluation of volatile compounds and free fatty acids in set types yogurts made of ewes', goats' milk and

- their mixture using two different commercial starter cultures during refrigerated storage. *Food Chem.*, 127: 1065-1071, (2011).
118. GUO M. Goat's milk. In : CABALLERO, B.; TRUGO, L.; FINGLAS, P. (Eds.), *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Academic Press, London, UK, pp. 2944–2949, (2003).
 119. GUO M, PARK Y W, DIXON PH, GILMORE JA, KINDSTEDT PS. Relationship between the yield of cheese (Chevre) and chemical composition of goat milk. *Small Ruminant Research* 52: 103–107, (2004).
 120. GÜZEL-SEYDIM, Z.B.; SEYDIM, A.C.; GRENEE, A.K. and BODINE, A.B. Determination of organic acids and volatile flavor substances in kefir during fermentation. *J. Food Comp and Anal.*, 13: 35-43, (2000).
 121. HA, J.K. and LINDSAY, R.C. Release of volatile branched-chain and other fatty acids from ruminant milk fats by various lipases. *J. Dairy Sci.*, 76: 677–690, (1993).
 122. HAENLEIN, G.F.W. and CACCESE, R. Goat milk versus cow milk. In: HAENLEIN, G.F.W. *Acce DL*. (Eds.), *Extension Goat Handbook*. USDA Publ., Washington, DC, p. 1, (1984).
 123. HAENLEIN, G.F.W. Role of goat meat and milk in human nutrition. *Proc. V Conf. Intl. on Goats*. Nueva Delhi, pp: 575-580, (1992):
 124. HAENLEIN, G.F.W. Nutritional value of dairy products of ewes and goats milk. *Int. J. Anim. Sci.*, 11: 395-411, (1996).
 125. HAENLEIN, G.F.W. Status and prospects of the dairy goat industry in the United States. *J. Anim. Sci.*, 74: 1173–1181, (1996 b).
 126. HAENLEIN, G.F.W. Past, Present, and Future Perspectives of Small Rumin. Dairy Res.. *J. Dairy Sci.*, 84 (9): 2097-2115, (2001).
 127. HAENLEIN, G.F.W. Milk and meat products. (2002). Disponible en : http://goatconnection.com/articles/publish/article_73.shtml
 128. HAENLEIN, G.F.W. Goat Milk in Human Nutrition. *Small Rumin Res.* 51: 155-163, (2004).
 129. HAENLEIN, G.F.W. About the evolution of goat and sheep milk production. *Small Rumin Res.*, 68: 3, (2007).
 130. HALLÉ, C., LEROI, X.; DOUSSET and PIDOUX, M. Les Kéfir: des associations bactéries lactiques-levures. In ROISSART, De H., LUQUET,

- F.M. [Eds], Bactéries lactiques: Aspects fondamentaux et technologiques. Vol. 2. Uriange, France, L'Orica, pp: 169-182, (1994).
131. HERRERO, A.M. and REQUENA, T. The effect of supplementing goats milk with whey protein concentrate on textural properties of set-type yoghurt. *Int. J. Food Sci. Technol.* 41: 87-92, (2006).
132. HERTZLER, S.R. and CLANCY, S.M. Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion. *J. Am. Diet. Assoc.*, 103: 582-587, (2003).
133. HEWITT, D. and BANCROFT, H.J. Nutritional value of yogurt. *J. Dairy Res.*, 52: 197-207, (1985).
134. HICKEY, M.W.; HILLIER, A.J. and JAGO, G.R. Transport and metabolism of lactose, glucose, and galactose in homofermentative lactobacilli. *Appl Environ Microbiol.*, 51: 825-831, (1986).
135. HOMONS, C. and BALLERINI, G. Significato fisiopatologico e alimentare dell'acido D-lattico. *Riv. Sc. Alim.*, 28, (1999).
136. HONER, C. Now kefir. *Dairy Field.*, 176 (9): 9, (1993).
137. HONG, W.S.; CHEN, H.S.; CHEN, Y.P. and CHEN, M.J. Effects of kefir supernatant and lactic acid bacteria isolated from kefir grain on cytokine production by macrophage. *Int. Dairy J.*, 19: 244 - 251, (2009).
138. HORIE, K.; HORIE, N.; ABDOU, M.; YANG, J.O.; YUN, S.S.; CHUN, H.N.; PARK, C.K.; KIM, M. and HATTA, H. Suppressing effect of functional drinking yogurt containing egg yolk immunoglobulin on *Helicobacter pylori* in humans. *J. Dairy Sci.*, 87: 4073-4079, (2004).
139. HUNGENHOLTZ, J.; STARRENBURG, M.; BOELS, I.; SYBESMA, W.; CHAVES, A. C.; MERTENS, A. and KLEEREBEZEM, M. Metabolic engineering of lactic acid bacteria for the improvement of fermented dairy products. Animating the cellular map. In: Proceedings of BTK 2000, the 9th International Bio Thermo Kinetics meeting. Stellenbosch University Press, Stellenbosch, South Africa, pp. 3009-3013, (2000).
140. IDF (International Dairy Federation). General standard of identity for fermented milks. 163, p.4, (1992).
141. IDEPA. (Instituto de Desarrollo Económico del Principado de Asturias). Yogures y postres. (2010). Disponible en :

- http://www.idepa.es/sites/web/idepaweb/productos/flashsectorial/Sector_Lacteo/Sector_Espania/yogures_postres.jsp?menu=7
142. International Journal of Systematic Bacteriology, 44 (3): 435-439, (1994).
Disponibile en: http://www.kefir.com.au/9_microflora.html.
143. IP, C .; BANNY, S .; A NGIONI, E.; C ARTA, G.; MCGINLEY, J. ; THOMPSON, H.J.; BARBANO, D. and BAUMAN, D.E. Conjugated linoleic acid e nriched bu tter fat al ters mammary g land morphogenesis and reduces cancer risk in rats. *J. Nutr.*, 129: 2135-2142, (1999).
144. IRIGOYEN, A.; ORTIGOSA, M.; TORRE, P. and IBÁÑEZ, F.C. Influence of di fferent t echnological par ameters in t he ev olution o f pH dur ing fermentation in kefir. *Milchwissenschaft*, 11/12, 631- 633, (2003).
145. IRIGOYEN, A.; ARANA, I.; CASTIELLA, M.; TORRE, P. and IBÁÑEZ, F.C. Microbiological, phy sicochemical, an d s ensory ch aracteristics of ke fir during storage. *Food Chem.*, 90: 613 – 620, (2005).
146. ISLETEN, M . a nd KARAGUL-YUCEER, Y . E ffects of dried d airy ingredients on physical and sensory properties of nonfat yogurt. *J. Dairy Sci.*, 89: 2865-2872, (2006).
147. ISLETEN, M. and KARAGUL-YUCEER, Y. Effect of functional dairy based properties on nonfat yogurt quality. *J. Food Qual.*, 31: 265 -280, (2008).
148. I.U.P.A.C. Nomenclature symbols units and their usage in spectrochemical analysis. II. *Spectrochimica acta*; 33 (B): 242, (1978).
149. JANER, C .; P ELAEZ, C . and R EQUENA, T . C aseinomaclopeptide an d whey protein concentrate enhance *Bifidobacterium Lactis* growth in milk. *Food Chem.*, 86: 263-267, (2004).
150. JENKINS, B .; H OLSTEN, S.; BENGMARK, S . and M ARTINDALE, R . Probiotics: A Practical Review of Their Role in Specific Clinical Scenarios *Nutr. Clin. Pract.*, 20: 262 – 270, (2005).
151. JENNESS, R. Composition and characteristics of goat milk. Review 1968-1979. *J. Dairy Sci.* 1605-1630. 1980. En: Société Scientifique D'Hygiène Alimentaire. Leche y productos lácteos: vaca – oveja.- cabra. Vol. 1. La leche: De la mama a la lechería. (Traducido del original en francés por Calvo Rebollar, M. y Sevillano Calvo, E.). Editorial Acribia, S.A. Zaragoza (España). 1991. p. 356.

152. JENNESS, R. Composition and characteristics of goat milk: review 1968–1979. *J. Dairy Sci.*, 63: 1605–1630, (1980).
153. JIMÉNEZ, A.M.; HERRADOR, M.A. and ASUERO, M.A. Elementos traza en alimentos. Aspectos metodológicos de su determinación. *Alimentaria*; 152: 107-112, (1984).
154. JIMÉNEZ CRUZ, A.; C ERVERA, P. and BAC ARDÍ, M . T ablas de composición d e al imentos. Novartis Consumer H ealth, S .A. B arcelona, (2002).
155. KARADEMIR, M .; AT AMER, B. ; T AMUCAY, B. a nd Y AMAN, S. So me properties of g oat milk yoghurts produced by di fferent fortification methods. *Milchwissenschaft-Milk Sci. Int.*, 57: 261- 263, (2002).
156. KAMINARIDES, S. a nd AN IFANTAKIS, E. Characteristics of s et t ype yoghurt made from caprine or ovine milk and mixture of t he two. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 39: 319-324, (2004).
157. KATSIARI, M .C.; V OUTSINAS, L .P. a nd K ONDYLI, E . M anufacture o f yogurt from stored frozen sheep's milk. *Food Chem.*, 77, 413–420, (2002).
158. KAUP, S.M.; SHAHANI, K.M.; AMER, M.A. and PEO, E.R. Bioavailability of calcium in yogurt. *Milchwissenschaft.*, 42: 513 – 6, (1987).
159. KAYANUSH, J. A. a nd M c Grew, P . Qu ality a ttributes of y ogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. *L.W.T.*, 40: 1808-1814, (2007).
160. KELLY, M.L.; KOLVER, E.S.; BAUMAN, D.E.; VAN AMBURDH, M.E. and MULLER, L.D. Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 81, 1630-1636, (1998).
161. KHEARD, E. E.; ABD -EL-RAHMAN, A.M. a nd EL -SOUKKARY, F .A.H. Impact o f y oghurt a nd pr obiotic strains on se rum ch olesterol an d lipoprotein profile in rats. *Alexandria J. Agric. Res*; 45: 81-100, (2000).
162. KIM, H.S. and GILLILAND, S. *L acidophilus* as a dietary adjunct for milk to aid lactose digestion in humans. *J. Dairy Sci.*, 66: 959 – 966, (1983).
163. KINSELLA, J.E.; WHITEHEAD, D.M.; BRADY, J. and BRINGE, N.A. Milk proteins: Possible relationship of structure and function. In *Developments in Dairy Chemistry-4*, pp. 55 - 97. Fox P F, ed. New York, London: Elsevier Applied Science. (1989).
164. KNEIFEL, W. and MAYER, H.K. Vitamin profiles of kefir made from milks of different species. *Int. J. Food Sci. Technol.*; 26:423–8, (1991).

165. KNEIFEL, W.; KAU FMANN, M .; F LEISCHER, A. a nd ULBERTH, F . Screening of c ommercially av ailable mesophilic dairy st arter c ultures: biochemical, s ensory and morphological pr operties. *J. Dairy Sci.*, 7 5: 3158–66, (1992).
166. KOLARS, J.C.; LEVITT, M.D.; AOUJI, M. and SAVAIANO, D.A. Yogurt, an autodigesting source of lactose. *N. Engl. J. Med.*; 310:1-3, (1984).
167. KOMAI, M . a nd N ANNO, M . In testinal m icroflora a nd l ongevity. In Functions of fermented milk, ed Y Nakazawa, A Hosono. London: Elsevier Applied Sci. pp.343, (1992):
168. KOUBA, M. and MOUROT, J. Mini-review. A review of nutritional effects on fat c omposition o f ani mal products with sp ecial e mphasis on n -3 polyunsaturated fatty acids. *Biochimie*, 93: 13 -17, (2011).
169. KUMURA, H .; T ANOUE, Y .; T SUKAHARA, M .; T ANAKA, T. a nd SHIMAZAKI, K. Screening of dairy yeast strains for probiotic applications. *J Dairy Sci.*, 87: 4050-4056, (2004).
170. KUNZ, C .; R UDLOFF, S .; B AIER, W.; KLEIN, N . and S TROBEL, S. Oligosaccharides in hum an m ilk: S tructural, f unctional and metabolic aspects. *Annual Review in Nutrition*, 20: 699 – 722, (2000).
171. LANDAU, B . a nd M OLLE, G. Improving m ilk yield and q uality t hrough feeding”, en: T he future of t he sheep a nd goat dai ry se ctors. Int. Dairy Federation, Zaragoza, Spain. 28 –30 Octubre. (2004).
172. LAMOUREUX, L .; ROY, D . a nd GA UTHIER, S .F. Production o f Oligosaccharides in Yogurt Containing Bifidobacteria and Yogurt Cultures *J. Dairy Sci.*, 85:1058–1069, (2002).
173. LASERNA, J.J. Pérdidas y contaminación en análisis de trazas. *Química analítica*, 4: 1-22, (1985).
174. LAW, B.A. Microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk. 2º ed. Blackie Academic and Profesional, (1997).
175. LEDOUX M, ROUZEAU A, BA S P, SAU VANT D. Occurrence of *trans*-C_{18:1} Fatty Acid Isomers in goat milk: Effect of Two Dietary Regimens. *J. Dairy Sci*, 85, (1): 190-197. (2002).
176. LEDOUX, M.; ROUZEAU, A.; BAS, P. and SAUVANT, D. Occurrence of *trans*-C_{18:1} Fatty A cid I somers in G oat Milk: E ffect o f Two D ietary Regimens. *J. Dairy Sci.*, 85 (1):190-197, (2004).

177. LE MENS, P. Propiedades físico-químicas, nutricionales y químicas. En: LUQUET, F.M. Leche y productos lácteos: vaca - oveja - cabra. La leche: De la mama a la lechería. Vol. 1. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A., pp. 343-360, (1993).
178. LIBUDZISZ, Z. and PIATKIEWICZ, A. Kefir production in Poland. *Dairy Ind. Int.* 55, 31-33, (1990).
179. LIDBECK, A. Effect of oral supplementation with lactic acid bacteria during intake of an antimicrobial agent. In International Dairy Lactic Acid Bacteria Conference, NZ., (1995).
180. LIU, J. R.; CHEN, M. J. and LIN, C. W. Antimutagenic and antioxidant properties of milk kefir and soy-milk kefir. *J. Agric. Food Chem.*; 53: 2467-2474, (2005 a).
181. LIU, J.R.; LIN, Y.Y.; CHEN, M.J.; CHEN, L.J. and LIN, C.W. Antioxidative activities of kefir. *Asian-Australasian J Animal Sci.*, 18: 567-573, (2005 b).
182. LO, C.G.; LEE, K.D.; RITCHER, R.L. and DILL, C.W. Influence of guar gum on the distribution of some flavor compounds in acidified milk products. *J. Dairy Sci.* 79: 2081-2090, (1996).
183. LONG, G.L. and WINEFORDNER, J.D. Limit of detection: a closer look at the IUPAC Definition. *Anal. Chem.*, 55 (7): 713, (1983).
184. LOOR, J.; FERLAY, A.A.; OLLIER, A.; DOREAU, M. and CHILLIARD, Y. Relationship among trans and conjugated fatty acids and bovine milk fat yield due to dietary concentrate and linseed oil. *J. Dairy Sci.*, 88, 726-740, (2005).
185. LÓPEZ ALIAGA, M. J.M.; ALFÉREZ, M. J.; BARRIONUEVO DÍAZ, M. J., LISBONA, F. and CAMPOS, M.S. Influence of goat and cow milk on the digestive and metabolic utilization of calcium and iron. *J. Physiol. Biochem.*, 56 (3): 3: 201-208, (2000).
186. LÓPEZ ALIAGA, I.; ALFÉREZ, M. J.M.; BARRIONUEVO, M. and CAMPOS, M. S. Efecto protector de la leche de cabra por su alto contenido y buena utilización de dos minerales antioxidantes (zinc y selenio). *Nutr. Hosp.* 16 (5): 192, (2001).
187. LÓPEZ ALIAGA, I.; ALFÉREZ, M.J.M.; BARRIONUEVO, M.; NESTARES, T., SANZ SAMPELAYO, M. R. and CAMPOS, M. S. Study of Nutritive Utilization of Protein and Magnesium in Rats with Resection of the Distal

- Small Intestine. Beneficial Effect of Goat Milk. *J. Dairy Sci.*, 86 (9): 2958-2966, (2003).
188. LÓPEZ AL IAGA, M.J.M.; AL FÉREZ, M.T.; NESTARES, P.B.; ROS, M.; BARRIONUEVO, M. and CAMPOS, M.S. Goat Milk Feeding Causes an Increase in Biliary Secretion of Cholesterol and a Decrease in Plasma Cholesterol Levels in Rats. *J Dairy Sci.*; 88 (3): 1024 – 1030, (2005).
189. LOPITZ-OTSOA, F.; R EMENTERIA, A.; EL GUEZABAL, N. and GARAIZAR, J. Kefir: A symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities. *Rev Iberoam Micol.*, 23: 67-74, (2006).
190. LORANSKAIA, T.I.; KHOROMSKI, L.N. and BENEDIKT, V.V. Effects of a series of food substances on motor and emptying function of the gastric stump and diverting intestinal loop after stomach resection and truncal vagotomy. *Vopr Pitan.*, 1: 19-22, (1986).
191. LORETANA, T.; M OSTERTA, J. F. and V ILJOEN, B .C. Microbial flora associated with South African household kefir. *S. Afr. J. Sci.*. 99: 1 -2, (2003). Disponible en: http://www.kefir.com.au/9_microflora.html.
192. LORICA. E n: O TLES, S . and C AGINDI, O. K efir: A probiotic dairy–composition, nutritional and therapeutic aspects. *Pakistan J. Nutr.* 2 (2): 169-182, (2000).
193. LUQUET, F.M. Leche y productos lácteos vaca, oveja y cabra. D Société Scientifique, H Alimentaire, (1993).
194. MACRAE, R.; ROBINSON, R.K. and SADLER, M.J., eds. Encyclopaedia of Food Sciences, Food Technology, and Nutrition. pp: 1804-1808, (1993). Disponible en: http://www.kefir.com.au/9_microflora.html.
195. MAGALHÃES, K .T.; D RAGONE, G.; D E M ELO P EREIRA, G.V .; OLIVEIRA, J.M.; DOMINGUES, L.; TEIXEIRA, J.A.; ALMEIDA, J.B. and SCHWAN, S .R.F. Comparative study of the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kéfir. *Food Chem.*, 126: 249-253, (2011).
196. MAHAUT, M.; JE ANTET, R.; B RULÉ, G. and S CHUCK, P. Productos Lácteos Industriales. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A.; p.23-36, (2004).

197. MANCA D E N ADRA, M .C.; A MOROSO, M .J. a nd OLIVER, G. Acetaldehyde M etabolism i n *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* isolated from market yogurt. *Microbiologie-Aliments-Nutrition*, 6: 269-272, (1988).
198. MANTELLO S .Y ogur: V alor N utritivo. (2007). D isponible en : <http://www.mundohelado.com/materiasprimas/yogurt/yogurt10.htm>,
199. MARAFON, A .P.; S UMI, A .; A LCÂNTARA, M .R.; T AMIME, A .Y. a nd NOGUEIRA DE OLIVEIRA, M. Optimization of the rheological properties of probiotic yoghurts supplemented with milk proteins. *LWT - Food Sci. Technol.*, 44 (2):511-519, (2011).
200. MAREE, H. P. M ilk and meat pr oducts. G oat milk and i ts use as a hypoallergenic infant f ood. (2003). D isponible en: <http://www.goatconnection.com/articles/publish/article152shtml>
201. MARM. D ossier de dat os sobre l a Alimentación e n E spaña. Mimeografiado. Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino. Madrid, (2008, 2009).
202. MARTIN, A. and LUNA, J. Bioestadística para las ciencias de la salud. Ed. Norma, Madrid, (1988).
203. MARTIN, P. La composition protéique du lait de chèvre: ses particularités. En: Intérêts nutritionnel et diététique du lait de ch èvre. INRA editions.pp. 27-49, (1996).
204. MARTIN, P.; SZYMANOWSKA, M.; ZWIERZCHOWSKI, L. and LEROUX C. The i mpact of g enetic polymorphisms on t he pr otein co mposition of ruminant milks. *Reprod. Nutr. Dev.*, 42: 433 – 459, (2002).
205. MARTÍN-DIANA, A .B.; JA NER, C .; P ELÁEZ, C . a nd R EQUENA, T . Development of a fermented goat's milk containing probiotic bacteria. *Int. Dairy J.*, 13: 827–833, (2003).
206. MARTÍNEZ-FÉREZ A. O btención de ol igosacáridos de l eches de diferentes especies por tecnología de membranas. Tesis Doctoral, (2004).
207. MATAIX-VERDÚ, F .J. T abla de co mposición de al imentos. E n MATAIX VERDÚ (ed.). Granada: Universidad de G ranada, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, (2009).
208. MATAIX VERDÚ, F .J. T ratado de nutrición y al imentación. E n MATAIX VERDÚ. Barcelona: Océano, (2009).

209. MATSUO, T. and TAKEUCHI, H. Effects of structured medium- and long-chain triacylglycerols in diets with various levels of fat on body fat accumulation in rats. *Brit. J. Nut.*, 91: 219-125, (2004).
210. MC CULLOUGH, F.S.W. Nutritional evaluation of goat's milk. *Br. Food J.* 105 (4/5), 239 -251, (2003).
211. MC GUIRE, M.A. and MC GUIRE, M.K. Conjugated linoleic acid (CLA): A ruminant fatty acid with beneficial effects on human health. *Proc. Am. Soc. Anim. Sci. Annu.*, (2000).
212. MEDRANO, M.; PÉREZ, P.F. and ABRAHAM, A.G. Kefiran antagonises cytopathic effects of *Bacillus cereus* extracellular factors. *Int. J. Food Microb.*, 122, 1-7, (2008).
213. MEHAIA, M.A. The fat globule size distribution in camel, goat, ewe and cow milk. *Milchwissenschaft-Milk Sci. Int.*, 50: 260-269, (1995).
214. MENA, Y .; C ASTEL, J. M.; C ARAVACA, F .P.; GU ZMÁN, J. L. and GONZÁLEZ, R .P. Situación actual, evolución y diagnóstico de los sistemas semiextensivos de producción caprina en Andalucía occidental. Ed. Junta de Andalucía. Consejería de agricultura y pesca. Sevilla, (2005).
215. MERCASA. Alimentación en España. Producción, industria, alimentación y consumo. 2007. Disponible en:
http://www.mercasa.es/nueva/_html/08.php
216. MEYDANI, S.N. and HA, W.K. Immunologic effects of yogurt. *Am. J. Clin. Nutr.*, 71: 861-72, (2000).
217. MEYER, M .R. Elaboración de productos lácteos. Manuales para la educación agropecuaria. Área: Industrias rurales. 2^a ed. Editorial Trillas. México (D.F.). pp. 14, 49-62, (1990).
218. MINERVINI, F .; B ILANCIA, M .T.; SIRAGUSA, S .; GOBBETTI, M. and CAPONIO, F . Fermented goats' milk produced with selected multiple starters as a potentially functional food. *Food Microb.*, 26: 559-564, (2009).
219. MORAND-FEHR, P .; FEDELE, V .; DECANDIA, M. and LE FRILEUX, Y. Influence of farming and feeding systems on composition and quality of goat and sheep milk. *Small Rum. Res.* 68: 20-34, (2007).

220. MONTES, A .L. B romatología. T omo I . 2^a ed. E ditorial U niversitaria de Buenos Aires. Buenos Aires (Argentina). pp. 486-551, (1981).
221. MONTROSE, D.C. and FLOCH, M.H. Probiotics used in human studies. *J. Clin. Gastroenterol.*, 39: 469-484, (2005).
222. MOREIRA, O.; CARBAJAL, A.; CABRERA, L. and CUADRADO, C. Tabla de Composición de alimentos. Ed. Pirámide. Madrid. España, (2011).
223. MORENO-TORRES, R.; NAVARRO, M.; RUIZ-LÓPEZ, M.D.; ARTACHO, R., LÓPEZ, M.C. Comparison of wet and dry mineralization procedures for determining calcium and phosphorus in cow's milk. *The Australian J. Dairy Technol.*, 55: 23-27, (2000).
224. MORENO-TORRES, R.; NAVARRO, M.; RUIZ-LÓPEZ, M.D.; ARTACHO, R. a nd L ÓPEZ, M .C. A Mineralization procedure f or det ermining magnesium in milk *Food Sci. Technol.*, 33: 397-400, (2000).
225. MULVIHILL, D .M. and F OX, P .F. P hysico-chemical and f unctional properties of milk proteins. In *Developments in Dairy Chem.*, 4: 131-173. Fox P F, ed. New York, London: Elsevier Applied Science, (1989).
226. MUÑOZ, J. F. E nsayos de m etabolismo e n g anado ca prino de sde el nacimiento hasta la etapa de rumiante. Lactancia artificial. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba., 1984.
227. NASANOVSKY, M .A.; GA RIJO, R .D.; a nd K IMMICH, R .C. Lechería. (2001). D isponible en:
<http://www.hipotesis.com.ar/hipotesis/Agosto2001/Catedras/Lecheria.htm>
228. NASCIMENTO, I.R .; RAILDO, M .J.; D OS SANTOS, W.N.L.; S ANTOS SOUZA, A. ; F RAGOSO, W.D. a nd S ANCHES D OS R EIS, P. Determination o f the mineral co mposition o f fresh bov ine m ilk from t he milk-producing ar eas l ocated i n the S tate o f S ergipe i n B razil an d evaluation employing ex ploratory anal ysis. *Microchem. J.*, 96: 37 -41, (2010).
229. NAVARRO, M. Incidencia medioambiental del mercurio y el arsénico en el área de M otril (Granada). Tesis Doctoral. U niversidad d e G ranada, España, (1991).
230. NAVARRO A LARCÓN, M. a nd CA BRERA V IQUÉ, C. Selenium in food and t he hu man bo dy: A R eview. *Sci. Total Environm.*, 400: 1 15-141, (2008).

231. NAVARRO ALARCÓN, M and GIL HERNÁNDEZ, F. Selenio, manganeso, cromo, molibdeno, iodo y otros oligoelementos minoritarios. En: Gil A (editor). Tratado de Nutrición. Tomo I: Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición. Ed. Médica Panamericana. Madrid, España. (2010).
232. OLALLA, M.; RUIZ-LÓPEZ, M.D.; NAVARRO, M.; ARTACHO, R.; CABRERA, C.; GIMÉNEZ, R.; RODRÍGUEZ, C, and MINGORANCE, R. Nitrogen fractions of Andalusian goat milk compared to similar types of commercial milk. *Food Chem.*, 113: 835-838, (2009)
233. OLIVARES, M.; PIZARRO, M.D.; SATURNINO DE PABLO, M.T.; ARAYA, M. and UAUY, R. Iron, Zinc, and Copper: Contents in Common Chilean Foods and Daily Intakes in Santiago, Chile. *Nutrition*, 20, (2), (2004).
234. OLIVARES G ROHNERT, M.; CASTILLO DURÁN, C.; ARRONDONDO OLGUÍN, M. and UAUY DA GACH-IMBARACK, R. En: Gil A (editor). Tratado de Nutrición. Tomo I: Bases Fisiológicas y bioquímicas de la nutrición. Ed. Médica Panamericana. Madrid, España. (2010).
235. OLIVEIRA, M.A.L.; GUIDO, S.I. and LIMA, P.F. Comparison of different protocols used to induce and synchronize estrus cycle of Saanen goats. *Small Rumin. Res.*, 40: 149-153, (2001a).
236. OLIVEIRA, M.N.; SODINI, I.; REMEUF, F. and CORRIEU, G. Effect of milk supplementation and culture composition on acidification, textural properties and microbiological stability of fermented milks containing probiotic bacteria. *Int. Dairy J.*, 11, (11-12): 935-942, (2001 b).
237. OLIVEIRA, R.P.S.; FLORENCE, A.C.R.; SILVA, R.C.; PEREGO, P.; CONVERTI, A.; GIOIELLI, L.A. and OLIVEIRA, M.N. Effect of different prebiotics on the fermentation kinetics, probiotic survival and fatty acids profiles in nonfat symbiotic fermented milk. *Int. J. Food Microb.*, 128: 467-472, (2009).
238. OLISZEWSKY, R.; RABASA, A.E.; FERNÁNDEZ, J.L.; POLI, M.A, and NÚÑEZ DE KAIRÚZ, M.S. Composición química y rendimiento quesero de la leche de cabra Criolla Serana del noroeste Argentino. *Zootecnia tropical*, 20 (2): 179-189, (2002).
239. O'MAY, G.A. and MACFARLANE, G.T. Probiotic efficacy: are the claims justified?. In *Probiotic Dairy Products*, pp 138-166. Tamime Ay, ed. London: Blackwell Publication, (2005).

240. ONIANWA, P.C.; ADEYEMO, A.O.; IDOWU, O.E. and OGABIOLA, E.E. Copper and zinc contents of Nigerian foods and estimates of the adult dietary intakes. *Food Chem.*, 72: 89 – 95, (2001).
241. ORDOÑEZ, J. A.; CAMBERO, M. I.; FERNÁNDEZ, L. J.; GARCÍA, M. L.; GARCÍA DE FERNANDO, G.; DELALHOZ, L. and SELGAS, M. D. Tecnología de los alimentos. Vol. II. Alimentos de origen animal. Madrid. Ed. Síntesis, pp: 90-111, (1998).
242. ORTEGANTA, R.M.; MENA VALVERDE, M.C. and LÓPEZ SOBALER, A.M. Leche y lácteos: valor nutricional. En: ARANCETA J y SERRALL. Leche, Lácteos y Salud. Madrid, España: Editorial Médica Panamericana, S.A. pp: 19-30, (2005).
243. OTT, A.; FAY, L.B. and CHAINTREAU, A. Determination and origin of the aroma impact compounds of yogurt flavor. *J. Agr. Food Chem.* 45: 850-858, (1997).
244. OTT, A.; GERMOND, J. E. and CHAINTREAU, A. Volitional diketone formation in yogurt: precursors and effect of branched-chain amino acids. *J. Agric. Food Chem.*, 48:724-31, (2000).
245. ÖTLES, S. and CADINGI, Ö. Kefir: A probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. *Pakistan J. Nutr.*, 2 (2): 54-59, (2003).
246. ÖZER, B.H. and KIRMACI, H.A. Functional milks and dairy beverages. *Int. J. Dairy Technol.*, 63 (1): 1-15, (2010).
247. PACCARD, P. and LAGRIFOUL, G. Synthèse bibliographique sur la composition du lait de brebis en composés d'intérêt nutritionnel. Personal communication, pp: 28, (2006a).
248. PACCARD, P. and LAGRIFOUL, G. Synthèse bibliographique sur la composition des fromages de brebis en composés d'intérêt nutritionnel. Personal communication, pp: 24, (2006b).
249. PAMPLONA ROGER, J.D. La leche y los productos lácteos. Enciclopedia de los Alimentos y su poder curativo. Tratado de Bromatología y Dietoterapia. Madrid: Editorial Safeliz SL, pp: 180, (1999).
250. PANDYA, A. J. and GHODKE, K.M. Goat and sheep milk products other than cheeses and yoghurt. *Small Rumin. Res.*, 68: 193-206, (2007).

251. PAPPA, E. C.; PAPPAS, A. C. and SURARI, P. F. Selenium content in selected foods from the Greek market and estimation of the daily intake. *Sci. Total Environ.*, 372: 100-108, (2006).
252. PARIZA, M.W.; PARK, Y. and COOK, M.E. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progr. Lipid Res.*, 40: 283-298, (2001).
253. PARK, Y.W. and CHUKWU, H.I. Trace mineral concentrations in goat milk from French-Alpine and Anglo-Nubian breeds during the first 5 months of lactation. *J. Food Compos. Anal.*, 2: 161-169, (1989).
254. PARK, Y.W. Hypo-allergenic and therapeutic significance of goat milk. *Small Rumin. Res.*, 14: 151-161, (1994).
255. PARK, Y.W. Cholesterol contents of US and imported goat milk cheeses as quantified by different colorimetric methods. *Small Rumin. Res.*, 32, 77-82, (1999).
256. PARK, Y.W.; STORKSON, J.M.; ALBRIGHT, K.J.; LIU, W. and PARIZA, M.W. Evidence that the trans-10, cis-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice. *Lipids*, 34: 235-241, (1999).
257. PARK, Y.W. Comparison of mineral and cholesterol composition of different commercial goat milk products manufactured in USA. *Small Rumin. Res.*, 37: 115-124, (2000).
258. PARK, Y.W. and HAENLEIN, G.F.W. Goat milk, its products and nutrition. In: Hui, Y.H. (Ed.), *Handbook of Food Products Manufacturing*. John Wiley, New York, NY. (2006).
259. PARK, Y.W. Goat milk. Chemistry and nutrition. In: PARK, Y.W., HAENLEIN, G.F.W. (Eds.), *Handbook of Milk of Non-bovine Mammals*. Blackwell Publishing, Oxford, pp. 34-58, (2006).
260. PARK, Y.W.; JUÁREZ, M.; RAMOS, M. and HAENLEIN, G.F.W. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Rumin. Res.*, 68 88-113, (2007).
261. PARVEZ, S.; MALIK, K.A.; AH KANG, S. and KIM, H.Y. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *J. Appl. Microbiol.*; 100:1171-85, (2006).
262. PELÁEZ-PUERTO, P.; FRESNO B. AQUERO, M.; RODRIGUEZ RODRIGUEZ, E.M.; DARIAS, J.M. and DIAZ ROMERO, C. Chemometric

- studies of fresh and semi-hard goat's cheeses produced in Tenerife (Canary Islands). *Food Chem.* 88: 361-366, (2004).
263. PELLERIN P. Goat's milk in nutrition. *Annales pharmaceutiques françaises*, 59 (1): 51-62, (2001).
264. PÉREZ L LAMAS, F.; GARAULET AZA, M.; GIL HERNÁNDEZ, Á. and ZAMORA NAVARRO, S. 2010. En: Gil A (editor). Tratado de Nutrición. Tomo I: Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición. Ed. Médica Panamericana. Madrid, España. (2010).
265. PETERS, R.K.; PIKE, M.C.; GARABRANT, D. and MACK, T.M. Diet and colon cancer in Los Angeles County, California. *Cancer Causes Control*; 3: 457-73, (1992).
266. PFEUFFER, M. and SCHREZENMEIR, J. Review: Impact of trans fatty acids of ruminant origin compared with those from partially hydrogenated vegetable oils on CHD risk. *Int. Dairy J.*, 16: 1383-1388, (2006).
267. PIRISI, A.; LAURET, A. and DUBEUF, J.P. Basic and incentive payments for goat and sheep milk in relation to quality. *Small Rumin. Res.*; 68: 167-178, (2007).
268. PIRKUL, T.; TEMIZ, A. and ERDEM, Y.K. Fortification of yoghurt with calcium salts and its effect on starter microorganisms and yoghurt quality. *Int. Dairy J.*, 7: 547-552, (1997).
269. PLOSZAJ, T.; RYNIOWCZ, Z. and MOTYL, T. Polyamines in goat's colostrum and milk. *Comp. Biochem. Physiol.*, 118 B: 45-52; (1997).
270. POINTILLART, A.; CAYRON, B. and GUEGUEN, L. Calcium and phosphorus utilization and bone mineralization in yogurt-fed pigs. *Sci. Alim.*; 6: 15-30, (1986).
271. POPE, W. and BABLOCK, W.C. Avances en evaluación de métodos y aparatos en el laboratorio clínico. *Química Clínica*, 8: 71-92, (1989).
272. POSATI, L.P. and ORR, M.L. Composition of Foods. ARS, USDA, Washington, DC (Agric. Handbook N°: 8-1), 1976.
273. POSECIÓN, N.C.; CROWE, N.L.; ROBINSON, A.R. and ASI EDU, S. K. The development of a goat's milk yogurt. *J. Sci. Food Agric.*, 85:1909 - 1913, (2005).

274. POWELL, J. E.; WITTHUHN, R. C.; T O D O R O V, S. D. a n d D I C K S, L. M. T. Characterization of bacteriocin S T8KF p roduced by a ke fir i solate *Lactobacillus plantarum* ST8KF. *Int. Dairy J.*, 17 (3): 190-198, (2007).
275. PRANDINI, A .; SIGOLO, S .; TANSINI, G. BROGNA, N . a n d PIVA, G . Different level of conjugated linoleic acid (CLA) in dairy products from Italy. *J. Food Comp. Anal.*, 20: 472-479, (2007).
276. PRENTICE, J.H. Dairy rheology: A concise guide. New York, (1992).
277. PSATHAS, G. Halloumi Cheese - Case Study of Cyprus. IDF 0501, part 2, pp. 90 – 97, (2005).
278. QUILES SOTILLO, A . La l eche d e ca bra. Ed. U niversidad d e Murcia, (1994).
279. RAFTER, J.J. The role of lactic acid bacteria in colon cancer prevention. *Scand. J. Gastroenterol.*, 30: 497-502, (1995).
280. RAMCHANDRAN, L . a n d S HAH N. P. Ch aracterization o f functional, biochemical a nd textural pr operties of sy mbiotic low-fat y ogurts during refrigerated storage. *LWT - Food Sci. Tech.*, 43: 819-827, (2010).
281. RAMOS MORALES, E.; DE LA TORRE ADARVE, G.; CARMONA LÓPEZ, F.D.; GIL EXTREMERA, F .; SANZ SAMPLELAYO, M .R. and B OZA, J. Nutritional value of goats and cow milk protein. *Options Méditerranéennes*, 67: 167-170, (2005).
282. RAMÍREZ-SANTIAGO, C.; RAMOS-SOLIS, L.; LOBATO-CALLEROS, C.; PEÑA-VALDIVIA, C.; VERNON-CARTER, E.J. and ALVAREZ-RAMÍREZ, J. Enrichment of stirred yogurt with soluble dietary fiber from *Pachyrhizus erosus* L. U rban: E ffect on sy neresis, m icrostructure an d r heological properties. *J. Food Engin.*, 101: 229 – 235, (2010).
283. RAYMAN, M.P. The importance of selenium in human health. *Lancet*, 356: 233-245, (2000).
284. RAYMAN, M.P. Selenium in cancer prevention: a review of the evidence and mechanism of action. *Proceedings of the Nutrition Society*, 64 , 527-542, (2005).
285. RAYMAN, M .P. F ood ch ain s elenium and human health: emphasis on intake. *Brit. J. Nutr.*, 100: 254-268, (2008).

286. RAYMAN, M.P.; GOENAGA INFANTE, H. and SARGENT, M. Food chain selenium and human health: spotlight on speciation. *Brit. J. Nutr.*, 100: 238-253, (2008).
287. RAYNAL-LJUTOVAC, K.; GABORIT, P. and LAURET, A. The relationship between quality criteria of goat milk, its technological properties and the quality of the final products. *Small Rumin. Res.* 60: 167–177, (2005).
288. RAYNAL-LJUTOVAC, K.; LAGRIFFOUL, G.; PACCARD, P.; GUILLET, I. and CHILLIARD, Y. Composition of goat and sheep milk products: an update. *Small Rumin. Res.*, 79: 57-72, (2008).
289. REAL DECRETO 179/2003, de 14 de febrero, por el que se aprueba la Norma de Calidad para el yogur. BOE nº 42 de 18 de febrero de 2003.
290. REDDY, G.V.; FRIEND, B.A.; SHAHANI, K.M. and FARMER, R.E. Antitumor activity of yogurt components. *J. Food Protec.*, 46 (1): 8 -11, (1983).
291. REMEUF, F. Influence du polymorphisme de la caseine alpha-s-1 sur les caractéristiques physico-chimiques et technologiques de lait. *Lait*, 73: 549-557, (1993).
292. RENNER, E. and RENZ-SHAVEN. Nährwerttabellen für Milch und Milchprodukte. VERLAG, B.; RENNER KÖHNER, K.G. GIEBEN, Germany, (1986).
293. REYES-CASTAÑEDA, P. Biostatística aplicada. Ed. Trillas, México, (1980).
294. RIBEIRO, A.C. and RIBEIRO, S.D.A. Specialty products made from goat milk. *Small Rumin. Res.*, 89: 225-233, (2010).
295. RICHARDSON, C. W. Let's learn about dairy goats and goat's milk. Oklahoma Cooperative Extension Service. Oklahoma State University. Boletín nº 424, (2004).
296. RIORDAN J. The biological specificity of breast milk. In: RIORDAN J, Averback KG. Breast feeding and human lactation. 2º ed. Boston, Jones and Barlett Publisher., pp: 121-161, (1998).
297. RIVAS GARCÍA, F.; JIMÉNEZ MARTÍNEZ, R. and DÍAZ NEYRA, L. Aspectos nutricionales de la leche de cabra y sus positivos efectos sobre la salud humana. *Nutr. Hosp.*, 20 (1): 1, (2005).

298. RIVAS-GONZALO, J.C. and MATAIX-VERDÚ, J. En: MATAIX-VERDÚ J. Nutrición y Alimentación Humana: Leche y derivados lácteos. 2º ed. Madrid, España, (2009).
299. RODDEN D. Dairy goat composition (en línea). 2004. Disponible en <http://drinc.ucdavis.edu/html/milk/milk-1.shtml>
300. ROGELJ, I. and PERKO, B. Fermentation of goat and cow milk with different lactic acid starter cultures. In FLAMANT J.C.D, GABIÑA, M. and ESPEJO DÍAZ (Eds.). Basis of the quality of the typical Mediterranean animal products – Proceedings of the international symposium on the basis of the quality of the typical Mediterranean animal products, pp: 262-267. Wageningen, The Netherlands: Wageningen Press, 1998.
301. ROISSART, H. and L UQUET, F .M. B actéries Lactiques: Aspects fondamentaux et technologiques. (Vol.2). Grenoble, France: Loriga, 1994.
302. ROMERO DEL CASTILLO, R.S.; MESTRES LAGARRIGA, J. Productos lácteos. Tecnología. Ediciones de la Universitat Politecnica de Catalunya, SL. Barcelona: cap Leches fermentadas, p 115-139, (2004).
303. ROSADO, J. L.; SOLOMONS, N.W. and ALLEN, L.H. Lactose digestion from unmodified, low-fat and lactose-hydrolyzed yogurt in adult lactose maldigesters. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 46:61-7, (1992).
304. ROUEL, B.J.; LEROUX, C.; FERLAY, A.; FAULCONNIER, Y.; LEGRAND P. and CHI LLIARD Y. Mammary lipid metabolism and milk fatty acid secretion in alpine goats fed vegetable lipids. *J. Dairy Sci.*, 88: 1478-1489, (2005).
305. RUTHERFURD, S .M.; M OUGHAN, P .J.; L OWRY, D. and P ROSSER, C.G. Amino acid composition determined using multiple hydrolysis times for three goat milk formulations. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 59: 679-690, (2008).
306. RYDER, J.W.; PORTOCARRERO, C.P.; S ONG, X.M.; C UI, L .; YU, M .; COMBATSIARIS, T.; GA LUSKA, D .; B AUMAN, D .E; B ARBANO, D .M.; CHARRON, M .J.; Z IERATH, J. R. and HO USEKNECHT, K .L. Isomer specific antidiabetic properties of conjugated linoleic acid. *Diabetes*, 50: 1149-1157, (2001).
307. SAHI T. Genetics and epidemiology of adult-type hypolactasia. *Scand. J. Gastroenterol.*, 202: 7-20, (1994).

308. SAINT-EVE, A. ; L ÉVY, C. ; MARTIN, N. and SOUCHON, I. Influence of Proteins on the Perception of Flavored Stirred Yogurts. *J. Dairy Sci.*, 89: 922–933, (2006).
309. SALCEDO, C.R.; FONT, A.M. and MARTÍNEZ, M.R. Yogur: Elaboración y Valor Nutritivo. Fundación Española de la Nutrición. Publicaciones: Serie divulgación, nº 10. Madrid, (1988).
310. SALMINEN, S.; VON WRIGHT, A. and OUWEHAND, A.C. Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects (3rd ed.). New York: Marcel Dekker, Inc. ISBN 0-8247-5332-1, (2004).
311. SALOF-COSTE, C.J. Kéfir. Danone World Newsletter. Nº11, (1996).
312. SALVADOR, A. ; MARTÍNEZ, G. ; ALVARADO, C. and HAHN, M. Composición de leche de cabras mestizas Canarias en condiciones tropicales. *Zootecnia Trop.*, 24 (3): 307-320, (2006).
313. SÁNCHEZ, M. Especies menores para pequeños productores: cabras lecheras. En: Memorias de la XIX Reunión Nacional sobre Caprinocultura. Acapulco, Gro. Noviembre, (2004).
314. SANTOS, J.S. and GARCÍA, M.L. Leche y productos lácteos. En: García MT, García MC, editores. Nutrición y Dietética. León: Universidad de León, pp. 321-30, (2003).
315. SANZ CEBALLOS L. Caracterización de la leche de cabra frente a la de vaca. Estudio de su valor nutricional e inmunológico. Tesis doctoral. Universidad de Granada, Granada, España, (2007).
316. SANZ CEBALLOS, L.; RAMOS MORALES, E.; DE LA TORRE ADARVE, E.; DÍAZ CASTRO, J.; PÉREZ MARTÍNEZ, L. and SANZ SAMPELAYO, M.R. Composition of goat and cow milk produced under similar conditions and analyzed by identical methodology. *J. Food Comp. Anal.*, 228: 322-329, (2009).
317. SANZ SAMPELAYO, M.R.; CHILLIARD, Y.; SCHMIDELY, P. and BOZA, J. Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk. *Small Rumin. Res.*; 68: 42-63, (2007).
318. SARKAR, S. Potential of acidophilus milk to lower cholesterol. *Nut. Food Sci.*, 33 (6): 273-277, (2003).
319. SARKAR S. Effect of probiotics on biotechnological characteristics of yoghurt. *Brit. Food J.*, 110: 717-740, (2008).

320. SAVORY, J. and WILLS, M.R. Trace metals: Essential Nutrients or Toxins. *Clin. Chem.*, 38: 1565-1573, (1992).
321. SECCHIARI, P .; MELE, M .; SERRA, A .; BUCCIONI, A .; ANTONGIOVANNI, M.; FERRUZZI, G.; PAOLETTI, F. and ANDREOTTI, L. Conjugated linoleic acid (CLA) content in milk of three dairy sheep breeds. *Progress in Nutrition*, 3: 37 - 42, (2001).
322. SAGPyA. (SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, PESCA y ALIMENTACIÓN DE LA REPÚBLICA ARGENTINA). Yogur y la leche cultivada. 2009. Disponible en: <http://www.alimentosargentinos.gov.ar>
323. SELNER, D .R. and SCHULTZ, L. H. Effects of feeding oleic acid or hydrogenated vegetable oils to lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 63: 1235-1241, (1980).
324. ŞENEL E, ATAMER, M. and ŞEBNEM ÖZTEKİN F. The oxidative and lipolytic stability of Yayık butter produced from different species of mammals milk (cow, sheep, goat) yoghurt. *Food Chem.*, 127: 333-339, (2011).
325. SERRA, M.; TRUJILLO, A.J.; GUAMIS, B. and FERRAGUT, V. Flavour profiles and survival of starter cultures of yoghurt produced from high-pressure homogenized milk. *Int. Dairy J.*, 19:100-106, (2009).
326. SÉVERIN, S. and WENSHUI, X. Milk biologically active components as nutraceuticals: a review. *Critical Reviews in Food Sci. and Nutr.*, 45: 645-656, (2005).
327. SHAH, N.P. Functional cultures and health benefits. *Int. Dairy J.*, 17: 1262-1277, (2007).
328. SHANTHA, N.C.; RAM, L.N.; O'LEARY, J.; HICKS, C.L. and DECKER, E.A. Conjugated linoleic acid concentrations in dairy products as affected by processing and storage. *J. Food Sci.*; 60: 695-698, (1995).
329. SHAPIRO, F. and SILANIKOVE, N. Rapid and accurate determination of D- and L-lactate, lactose and galactose by enzymatic reactions coupled to formation of a fluorochromophore: Applications in food quality control. *Food Chem.* 119: 829-833, (2010)
330. SHEN, L .; ROBBERECHT, H. ; VAN DAEL, P . and DE ELSTRA, H. Estimation of the bioavailability of Zinc and Calcium from human, cow's,

- goat and sheep milk by an in vitro method. *Biol. Trace Elem. Res.*, 49: 107-118, (1995).
331. SHEN, L.; DAEL, P.V.; LUTEN, J. and DEELSTRA, H. Estimation of selenium bioavailability from human, cow's goat and sheep milk by an in vitro method. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 47: 75-81, (1996).
332. SCHLIMME, E., MARTIN, D. and MEISEL, H. Nucleosides and nucleotides: natural bioactive substances in milk and colostrums. *Br. J. Nutr.* 84: 59-68, (2000).
333. SCHMIDELY, P.; MORAND-FEHR, P. and SAUVANT, D. Influence of Extruded Soybeans With or Without Bicarbonate on Milk Performance and Fatty Acid Composition of Goat Milk. *J. Dairy Sci.*, 88: 757-765, (2005).
334. SCHWEIGEL, M. and MARTENS, H. Magnesium transport in the gastrointestinal tract. *Front Biosci.*, 5: 666-667, (2000).
335. SILANIKOVEA, N.; LEITNER, G.; MERINC, U. and PROSSER, C.G. Recent advances in exploiting goat's milk: Quality, safety and production aspects. *Small Rumin. Res.*, 89: 110-124, (2010).
336. SIMÓN MAGRO, E. and LASA ELGUEZUA, A. Bases de la alimentación humana: Minerales: La Coruña. España, pp: 237-251.netbiblo., (2008).
337. SLACANAC V.; BOZANIC R.; HARDI J.; REZESSYNE SZABO J.; LUCAN M. and KRSTANOVIC V. Nutritional and therapeutic value of fermented caprine milk: A review. *Int. J. Dairy Technol.*, 63: 1-19, (2010).
338. SPREER E. Lactología Industrial: Leche, preparación y elaboración. Máquinas, instalaciones y aparatos. Productos Lácteos. 2ª ed. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A. pp.429 – 461, (1993).
339. SPUERGIN, P.; WALTER, M.; SCHILTZ, E.; DEICHMANN, K.; FORSTER, J. and MUELLER, H. Allergenicity of alpha-caseins from cow, sheep and goat. *Allergy* 52 (3): 293-298, (1997).
340. STAFF, M.C. Leches fermentadas y quesos frescos. En: EARLY, R. Tecnología de los productos lácteos. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A. pp: 127-150, (2000).
341. STEPHENIE, W.; KBEIR, B.M.; SHUHIMI, M.; ROSFARIZAN, M. and YAZID, A.M. Growth and optimization of a probiotic candidate, *Bifidobacterium Pseudocatenilatum G4*, in milk medium using response surface methodology. *Biotechnol. Bioproc. Eng.*, 12, 106-113, (2007).

342. SYMONS, H. Nutritional and health benefits of yogurt and fermented milks. *Danone World Newsletter*, 2, (1993).
343. TALPUR, F.N.; BHANGER, M.I.; NUSRAT, N. Milk fatty acid composition of indigenous goat and ewe breeds from Sindh, Pakistan. *J. Food Comp. Anal.*, 22: 59-64, (2009).
344. TAMIME, A.Y. and MARSHALL, V.M.E. Microbiology and technology of fermented milks. In *Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk*, pp. 57-131. Law B A, ed. London: Chapman & HALL, (1997).
345. TAMIME, A.Y.; ROBINSON, R.K. and LATRILLE, E. Yoghurt and other fermented milks. In A.Y. TAMIME & B.A. LAW (Eds.), *Mechanization and automation in dairy technology* (pp. 152 - 203). Reading: Sheffield Academic, (2001).
346. TAMIME, A.Y. and ROBINSON, R.K. *Yoghurt science and technology*. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, U.K., (2007).
347. THOMANN, S.; BRECHENMACHER, A. and HINRICHS, J. Strategy to evaluate cheese making properties of milk from different goat breeds. *Small Rumin. Res.*, 74: 172-178, (2008).
348. THOMSON, C.D. Selenium: its role in health and disease. *Asia Pacific J. Clin. Nutr.*, 15 (3):25, (2006).
349. THOREUX, K.; BALAS, D.; BOULEY, C. and SENEGAS-BALAS, F. Diet supplemented with yoghurt or milk fermented by *Lactobacillus casei* DN-114 001 stimulates growth and brush-border enzyme activities in mouse small intestine. *Digestion*, 59:349-359, (1998).
350. THOREUX, K. and SCHMUCKER, D. L. Kefir milk enhances intestinal immunity in young but not old rats. *J. Nutr.* 131: 807-812, (2001).
351. TOBA, T.; WATANABE, A. and ADACHI, S. Alolactose and 6-O-3-Dalactopyranosyl- D-Galactose in Commercial Yogurt. *J. Dairy Sci.*, 65: 702-706, (1982).
352. TURMARI, J.A. La leche y los lácteos en la historia de la alimentación. En: A RANCETA J and SERRALL. *Leche, Lácteos y Salud*. Madrid, España: Editorial Médica Panamericana, S.A., pp: 1-8, (2005).

353. TRATNIK, L. J. Mlijeko - tehnologija, biokemija i mikrobiologija (Milk - Technology, Biochemistry and Microbiology). Zagreb: Hrvatska Mljekarska udruga (Croatian Dairy Union), (1998).
354. TRATNIK, L.J.; BOZANIC, R.; HERCEG, Z. y DRGALIC, I. The quality of plain and supplemented kefir from goat's and cow's milk. *Int. Dairy J.*, 59: 40-46, (2006).
355. TRUM, H.B. Yogur, Kéfir y demás cultivos de leche. 75, 251. Edit. EDAF. Zaragoza. España, (1984).
356. TZIBOULA-CLARKE, A. Goat milk. In ROGINNSKI, J.W.; FUQUAY, P.F. and FOX (Eds.), *Encyclopedia of dairy sciences*, vol. 2 (pp. 1270–1279). London, UK: Academic Press, (2003).
357. UMETA, M. ; WEST, C. E.; HAIDAR, J. ; DEURENBERG, P. and HAUTVAST, J. G.A.J. Zinc supplementation and stunted infants in Ethiopia: a randomised controlled trial. *The Lancet* 355, 2 021-2026, (2000).
358. U.S.D.A. Department of Agriculture, Agricultural Research Service; Nutrient Data Laboratory. U.S.D.A. National Nutrient Reference. 17^a Ed. pp. 106, (2004).
359. VALENZUELA, A. ; SANHUESA, J. and GARRIDO, A. Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga n-3: cuando y por qué es necesaria la suplementación con estos ácidos grasos. *Aceites y grasas* 6: 294 -299, (1999).
360. VAN POPPEL, G. ; SCHAAFSMA, G. Cholesterol lowering by a functional yogurt. *Fd. Ing. Europe Conf. Proc.*, Maarssen. 12-14, pp. 31-32, (1996).
361. VARGAS, M.; CHÁFER, M.; ALBORS, A.; CHIRALT, A. and GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Physicochemical and sensory characteristics of yoghurt produced from mixtures of cows' and goats' milk. *Int. Dairy J.*, 18: 1146-1152, (2008).
362. VASILJEVIC, T. and SHAH, N.P. Probiotics from Metchnikoff to bioactives. *Int. Dairy J.*, 18: 714-728, (2008).
363. VEGA y LEÓN, S. Innovaciones alimentarias del siglo XXI. El caso de los llamados alimentos y sustancias funcionales, en: Coronado, M., (Comp.) *Las innovaciones tecnológicas en el futuro de los profesionales de las áreas de Biológicas. Un texto para estudiantes universitarios.* Universidad

- Autónoma Metropolitana y Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México, pp. 285, (2003).
364. VEGA, S.; GONZÁLEZ, M.; GUTIÉRREZ, R.; RAMÍREZ, A.; DÍAZ, G.; PÉREZ, N.; PRADO, G.; ALBERTI, A.; ESPARZA, H.; ROSADO, M. and MUÑOZ, G. Physical and chemical differences between milk samples of Saanen and Alpine –french goats produced in the México central region, en: The future of the sheep and goat dairy sectors. *Int. Dairy Fed.*, Zaragoza, Spain: 28-30, (2004).
365. VEGA, S.; GUTIÉRREZ, T.R.; DÍAZ GONZÁLEZ, G.; GONZÁLEZ LÓPEZ, M.; RAMÍREZ AYALA, A.; SALAS MORALES, J.; CRONADO HERRERA, M. and GONZÁLEZ CABRERA, C. Leche de cabra: producción, composición y aptitud industrial. Alfa editores técnicos. pp. 1-10, (2005).
366. VEGARUD, G.E.; DEVOLD, T.G.; OPHEIM, R.; LOEDING, E.; SVENNING, C.; ABRAHAMSEN, R.K.; LIEN, S. and LANGSRUD, T. Genetic variants of Norwegian goat's milk composition, micellar size and renneting properties. *Int. Dairy J.*, 9: 367-368, (1999).
367. WAHLE, K.W.J.; HEYS, S.D. and ROTONDO, D. Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health?. *Progress in Lipid Res.* 43: 553-587, (2004).
368. WARDLAW, G.M. Capítulo 14: Los oligoelementos. Libro: perspectivas sobre nutrición. Ed. Paidotribo Les Guixeres. Badalona, España. 2008.
369. WHIGHAM, L.D.; COOK, M.E. and ATKINSON, R.L. Conjugated linoleic acid: implications for human health. *Pharmacol Res.*; 42: 503-510, (2000).
370. WHITE, S.L.; BERTRAND, J. A.; WADE, M.R.; WASHBURN, S.P.; GREEN, J.P. and JENKINS, T.C. Comparison of fatty acid content of milk from Jersey and Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 84: 2295 -2301, (2001).
371. WOLF, R.L. Content and distribution of *trans*-18:1 acids in ruminant milk and meat fats. Their importance in European diets and their effect on human milk. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 72, 259-272, (1995).
372. WOLLOWSKI, I.; JI, S.; BAKALINSKY, A.T.; NEUDECKER, C. and POOLZOBEL, B.L. Bacteria used for the production of yogurt inactivate

- carcinogens and prevent DNA damage in the colon of rats. *J Nutr.*, 129: 77-82, (1999).
373. WSZOLEK, M .; TAMIME, A .Y.; MUIR, D .D. and BARCLAY, M.N.I. Properties of kéfir made in Scotland and Poland using Bovine, Caprine and Ovine Milk with different starter cultures. *Lebensm.-Wiss.u. Technol.* 34: 251-261, (2001).
374. XIAO, J. Z.; KONDO, S .; TAKAHASHI, N .; MIYAJI, K .; OSHIDA, K .; HIRAMATSU, A.; IWATSUKI, K.; KOKUBO, S. and HOSON, A. Effects of Milk Products Fermented by *Bifidobacterium longum* on Blood Lipids in Rats and Healthy Adult Male Volunteers. *J. Dairy Sci.*, 86: 2452-2461, (2003).
375. XU, Z .M.; EMMANOUELIDOU, D .G.; RAPHAELIDES, S .N. and ANTONIOU, K.D. Effects of heating temperature and fat content on the structure development of set yogurt. *J. Food Engin.*, 85, 590- 597, (2008).
376. YÜKSEKDAG, Z.N.; BEYATLI, Y. and ASLIM, B. Determination of some characteristic coccoid forms of lactic acid bacteria isolated from Turkish kefir with natural probiotic. *LWT e Food Sci. Technol.*, 37, 663 - 667, (2004).
377. YUKUCHI, H .; GOTO, T . and OKONO, S .H. The nutritional and physiological value of fermented milks and lactic milk drinks. In NAKAZAWA Y and HOSONO A. (Eds.), *Functions of fermented milk: challenges for the health sciences* UK: Elsevier Applied Sci. 217-244, (1992).
378. ŽAN, M.; STIBILJ, V. and ROGELJ, I. Milk fatty acid composition of goats grazing on alpine pasture. *Small Rumin. Res.* 64: 45 -52, (2006).
379. ZOURARI, A. and ANIFANTAKIS, E.M. Le kéfir. Caractère physico-chimiques, microbiologiques et nutritionnels. Technologie de production. Une revue. *Lait.*, 68: 373-392, (1988).
380. ZOURARI, A.; ACCOLAS, J.P. and DESMAZEAUD, M.J. Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria. A review. *Lait*, 72: 1 -34, (1992).
381. ZUBILLAGA, M.; WEILL, R. and POSTAIRE, E. Effect of probiotics and functional foods and their use in different diseases. *Nutr. Res.*, 21: 569-579, (2001).

VIII. ANEXOS

ESTUDIO ESTADISTICO

En este capítulo, se pretende, expresar de forma resumida, todos los datos manejados durante la presente tesis.

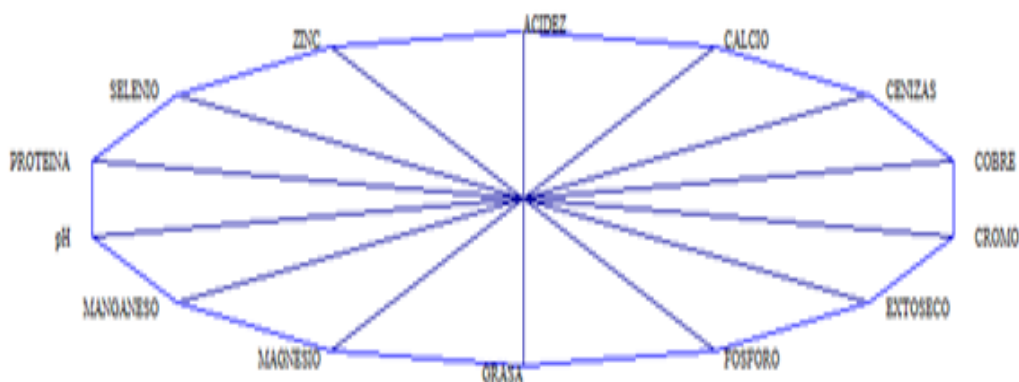
Para ello, y con el paquete estadístico Statgraphics (V.O. 7.0) y SPSS (15.0), se han realizado los siguientes estudios estadísticos.

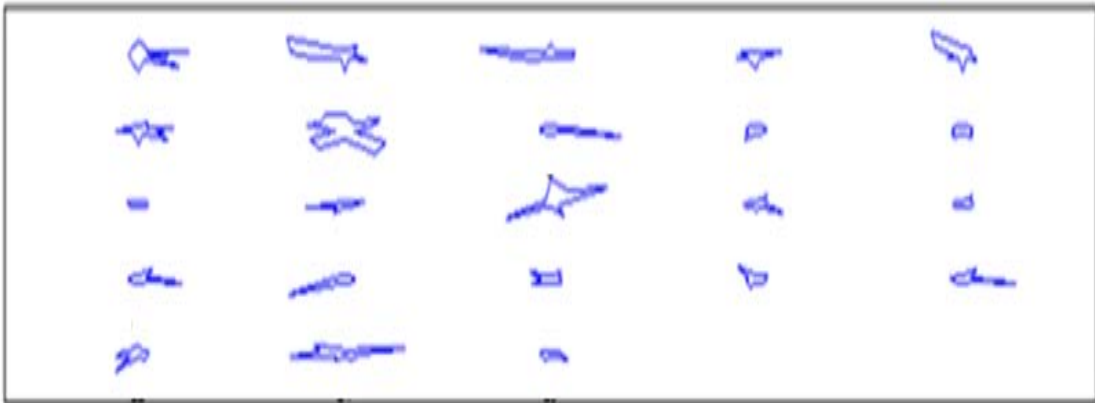
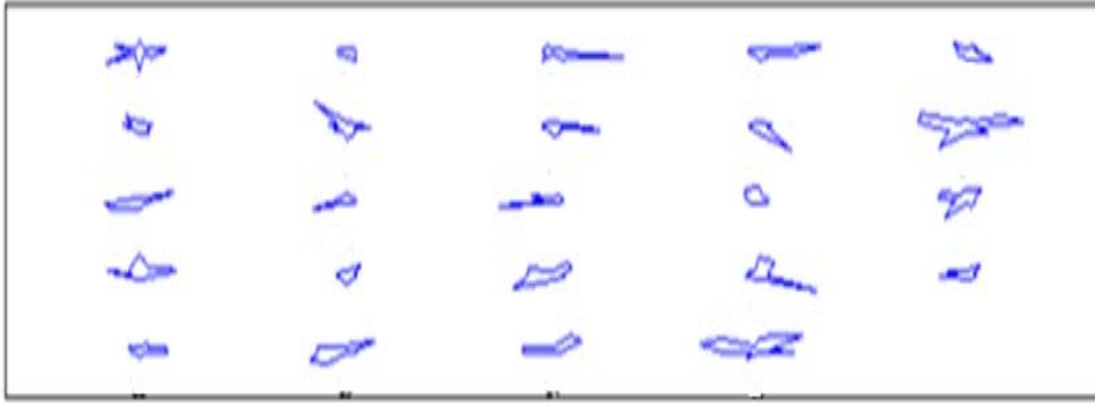
A. SUN RAY PLOT

Mediante este estudio del programa estadístico Statgraphics 7 pretendemos a modo de resumen, comparar visualmente los valores obtenidos para las leches fermentadas analizadas en las distintas observaciones, así como con los valores medios de cada una de las determinaciones.

Cada muestra se representa mediante una serie de rayos dibujados desde el punto central y líneas que conectan los rayos. El del centro, refleja la media de la variable y la longitud de cada rayo es siempre proporcional a la desviación standard (figura 26).

FIGURA 26. Representación gráfica mediante “Sun Ray Plot” y diagrama tipo, de 50 muestras analizadas de leches fermentadas para los parámetros físico-químicos y minerales.





B. ANALISIS DE VARIANZA

Con el objetivo de conocer de una forma objetiva si existen diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tipos de leches (cabra, vaca), se ha aplicado a los resultados el análisis de la varianza (ANOVA) de una vía.

Para dicho estudio se ha de comprobar previamente si la distribución que siguen las muestras presentes es normal o no; para ello se aplica el test de Kolmogorov-Smirnov para la bondad de ajuste de una distribución normal (o de Gauss). También es necesario conocer la homogeneidad de las varianzas y comprobar, por tanto, si existen o no diferencias entre las varianzas de las muestras; con este fin se aplica el test de Barlett.

En el caso de que tras la aplicación de estos dos tests se obtengan resultados no significativos ($p > 0,05$) se habrá demostrado la normalidad de la distribución y la homogeneidad de las varianzas, por lo que podremos hacer el

análisis de la varianza mediante un método paramétrico (test ANOVA) de una sola vía.

Si por el contrario, alguna de las dos premisas o las dos a la vez fallan ($p < 0,05$) no podremos aplicar un método paramétrico para el análisis de varianza y tendremos que elegir otro no paramétrico como el test de Kruskal-Wallis.

B.1. Según el tipo de leche (leche cruda de cabra, leche comercial de cabra y leche comercial de vaca)

Los resultados de este estudio vienen expresados esquemáticamente en la tabla 45.

Tras la aplicación de dichos tests, se han obtenido resultados significativos ($p < 0,05$), es decir, el contenido en estos compuestos depende del tipo de leche para: grasas, extracto seco, cenizas, lactosa, calcio, magnesio, zinc y capríco.

Aunque se ha realizado un estudio pormenorizado de las diferencias entre el tipo de leche, con los datos aquí expuestos y a modo de resumen, se observa que el contenido de grasas, extracto seco y magnesio es mayor en la leche de cabra cruda, el de cenizas, calcio y capríco es mayor en las leches de cabra comerciales, y el de lactosa y zinc es mayor en las de vaca (figuras 27 - 34).

TABLA 45: Análisis de la varianza por métodos paramétrico y no paramétrico de todos los parámetros analizados en relación al tipo de leche (cabra y vaca) (valores de significancia)

Variable	Test de Kolmogorov-Smirnof	Test de Barlett	ANOVA	Test de Kruskal-Wallis	Estudio Significativo (p<0,05)
Acidez	0,274	0,636	0,718	-	No
Proteínas	0,350	0,230	0,308	-	No
Grasas	0,174	0,074	0,000	-	Si
Extracto seco	0,984	0,303	0,002	-	Si
Cenizas	0,228	0,998	0,000	-	Si
Lactosa	0,771	0,098	0,038	-	Si
Calcio	0,340	0,916	0,011	-	Si
Magnesio	0,089	0,026	-	0,002	Si
Fósforo	0,138	0,002	-	0,117	No
Zinc	0,136	0,796	0,000	-	Si
Butírico	0,564	0,657	0,143	-	No
Caproíco	0,522	0,098	0,818	-	No
Caprílico	0,478	0,006	-	0,075	No
Cáprico	0,973	0,026	-	0,036	Si
Láurico	0,893	0,050	-	0,188	No
Mirístico	0,565	0,034	-	0,763	No
Palmítico	0,143	0,062	0,731	-	No
Esteárico	0,411	0,334	0,932	-	No
Oleico	0,733	0,058	0,366	-	No
Linoléico	0,293	0,129	0,622	-	No

TABLA 46. Test de rango múltiple para el contenido de lactosa según el tipo de leche (LCC: leche comercial de cabra; LCN: leche de cabra natural o cruda; LVC: leche de vaca comercial)

Multiple Range Tests for LACTOSA by TIPO

Method: 95,0 percent LSD

TIPO	Mean	Homogeneous Groups
LCC	3,415	X
LCN	4,6088	X
LVC	4,90333	X

Contrast	Difference	+/- Limits
LCC - LCN	*-1,1938	0,966733
LCC - LVC	*-1,48833	1,20093
LCN - LVC	-0,294533	0,803819

* denotes a statistically significant difference.

FIGURA 27. Representación de Box y Whisker para el contenido de lactosa según el tipo de leche (LCC: leche comercial de cabra; LCN: leche de cabra natural o cruda; LVC: leche de vaca comercial)

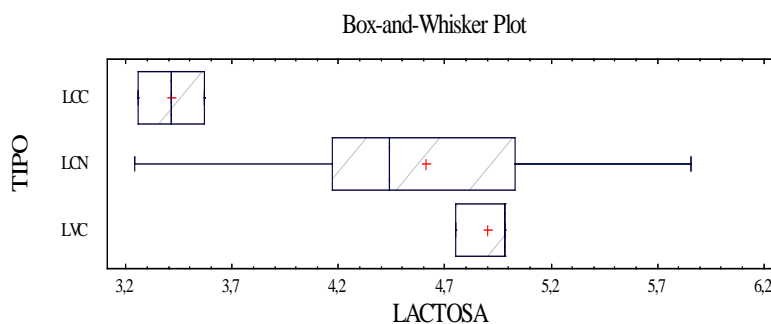


TABLA 47. Test de rango múltiple para el contenido de grasa según el tipo de leche

Multiple Range Tests for GRASA by TIPO

Method: 95,0 percent LSD

TIPO	Mean	Homogeneous Groups
LVC	1,76667	X
LCC	2,05	X
LCN	4,8304	X

Contrast	Difference	+/- Limits
LCC - LCN	*-2,7804	1,13637
LCC - LVC	0,283333	1,41167
LCN - LVC	*3,06373	0,944872

* denotes a statistically significant difference.

FIGURA 28. Representación de Box y Whisker para el contenido de grasa según el tipo de leche

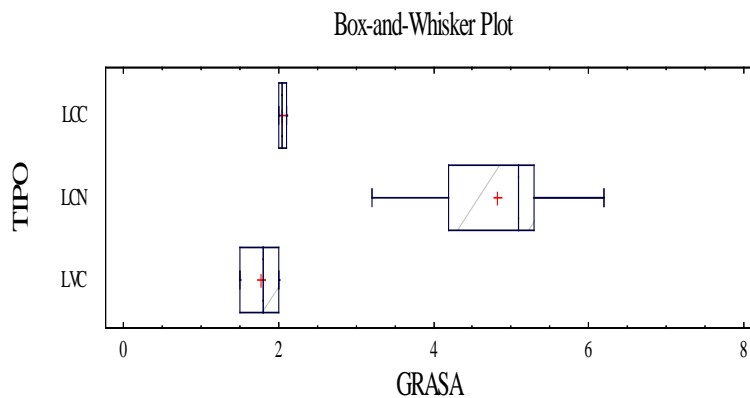


TABLA 48. Test de rango múltiple para el contenido de extracto seco según el tipo de leche

Multiple Range Tests for EXTOSECO by TIPO

Method: 95,0 percent LSD

TIPO	Mean	Homogeneous Groups
LVC	10,6967	X
LCC	10,84	X
LCN	13,1488	X

Contrast	Difference	+/- Limits
LCC - LCN	*-2,3088	1,5204
LCC - LVC	0,143333	1,88873
LCN - LVC	*2,45213	1,26418

* denotes a statistically significant difference.

FIGURA 29. Representación de Box y Whisker para el contenido de extracto seco según el tipo de leche

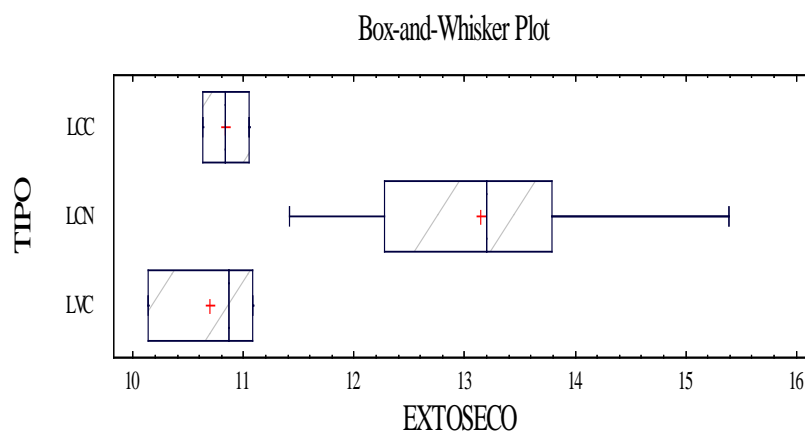


TABLA 49. Test de rango múltiple y representación de Box y Whisker para el contenido de cenizas según el tipo de leche

Multiple Range Tests for CENIZAS by TIPO

Method: 95,0 percent LSD

TIPO	Mean	Homogeneous Groups
LCN	0,7432	X
LVC	0,746667	X
LCC	0,835	X

Contrast	Difference	+/- Limits
LCC - LCN	*0,0918	0,0323913
LCC - LVC	*0,0883333	0,0402384
LCN - LVC	-0,00346667	0,0269327

* denotes a statistically significant difference.

FIGURA 30. Representación de Box y Whisker para el contenido de cenizas según el tipo de leche

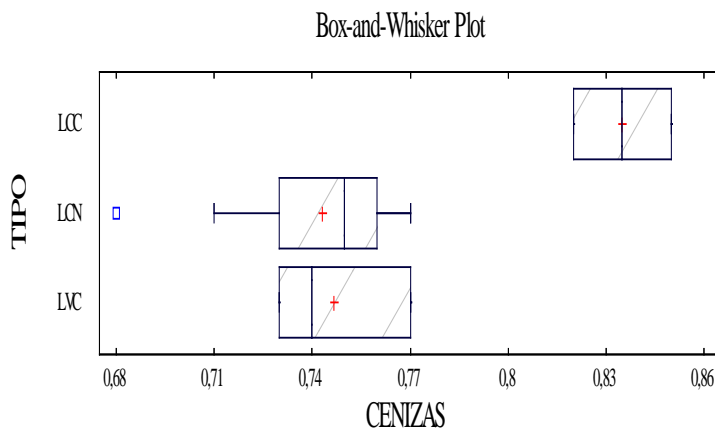


TABLA 50. Test de rango múltiple para el contenido de calcio según el tipo de leche

Multiple Range Tests for CALCIO by TIPO

Method: 95,0 percent LSD

TIPO	Mean	Homogeneous Groups
LCN	1205,48	X
LVC	1269,67	X
LCC	1273,5	X

Contrast	Difference	+/- Limits
LCC - LCN	*68,0238	61,4845
LCC - LVC	3,83333	75,8466
LCN - LVC	*-64,1905	51,2816

* denotes a statistically significant difference.

FIGURA 31. Representación de Box y Whisker para el contenido de calcio según el tipo de leche

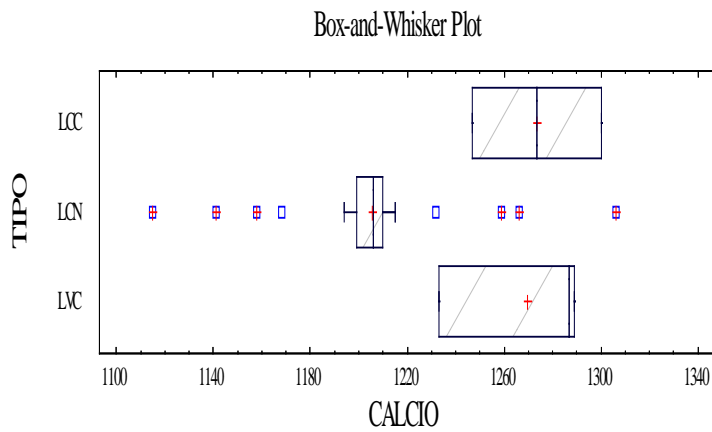


TABLA 51. Test de rango múltiple para el contenido de Mg según el tipo de leche

Multiple Range Tests for MAGNESIO by TIPO

Method: 95,0 percent LSD

TIPO	Mean	Homogeneous Groups
LVC	96,3333	X
LCC	109,5	X
LCN	132,899	X

Contrast	Difference	+/- Limits
LCC - LCN	*-23,399	9,76464
LCC - LVC	*13,1667	12,0455
LCN - LVC	*36,5657	8,14427

* denotes a statistically significant difference.

FIGURA 32. Representación de Box y Whisker para el contenido de Mg según el tipo de leche

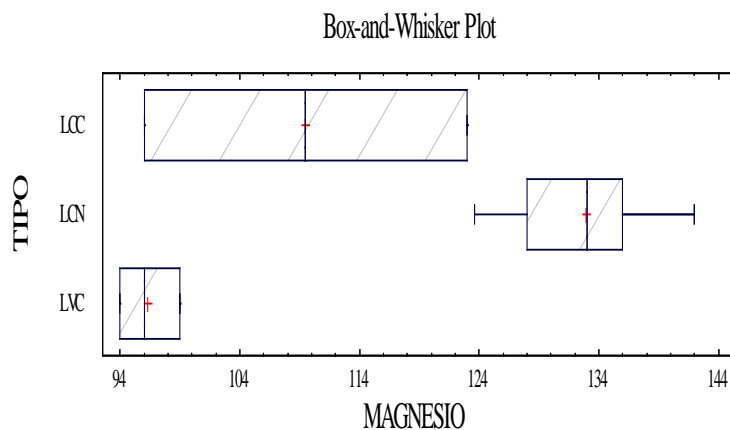


TABLA 52. Test de rango múltiple para el contenido de Zn según el tipo de leche

Multiple Range Tests for ZINC by TIPO

Method: 95,0 percent LSD

TIPO	Mean	Homogeneous Groups
LCN	3,43667	X
LCC	4,46	X
LVC	4,79667	X

Contrast	Difference	+/- Limits
LCC - LCN	*1,02333	0,368084
LCC - LVC	-0,336667	0,454064
LCN - LVC	*-1,36	0,307003

* denotes a statistically significant difference.

FIGURA 33. Representación de Box y Whisker para el contenido de Zn según el tipo de leche

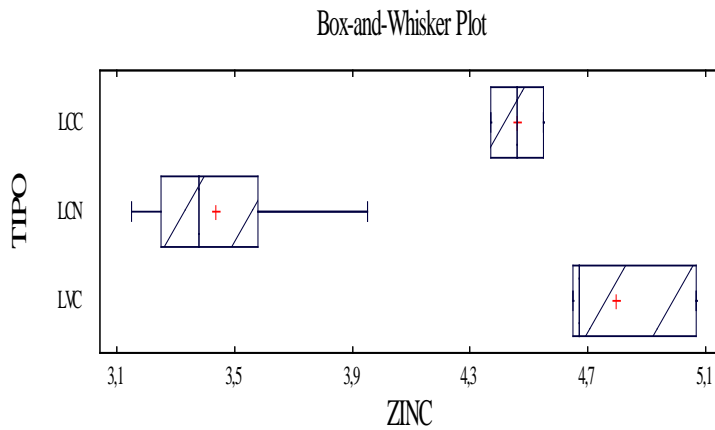


TABLA 53. Test de rango múltiple para el contenido de cáprico según el tipo de leche

Multiple Range Tests for CAPRICO by TIPO

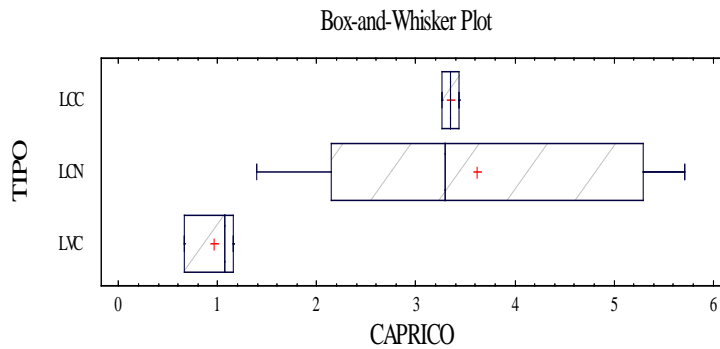
Method: 95,0 percent LSD

TIPO	Mean	Homogeneous Groups
LVC	0,964333	X
LCC	3,348	XX
LCN	3,62244	X

Contrast	Difference	+/- Limits
LCC - LCN	-0,274444	2,41908
LCC - LVC	2,38367	2,82487
LCN - LVC	*2,65811	2,06299

* denotes a statistically significant difference.

FIGURA 34. Representación de Box y Whisker para el contenido de cáprico según el tipo de leche



B.2. Según el origen (cabra o vaca) de las diferentes leches fermentadas analizadas

Los resultados de este estudio vienen expresados esquemáticamente en la tabla 54.

Tras la aplicación de dichos tests, se han obtenido resultados significativos ($p < 0,05$), dependientes del origen de la leche (cabra o vaca) para: el pH, contenido graso, caproico, caprílico, cáprico, láurico, palmítico, esteárico, oleico, linoléico, calcio y fósforo, y una tendencia a la significancia para los valores de manganeso ($p = 0,053$).

Aunque se ha realizado un estudio pormenorizado de las diferencias entre el tipo de leche (cabra y vaca), con los datos aquí expuestos y a modo de resumen, se observa que el contenido de grasa, caproico, caprílico, cáprico, láurico, palmítico, esteárico, oleico y fósforo es significativamente mayor en leches fermentadas de cabra, mientras que la cantidad media de calcio, y pH, es mayor en leches fermentadas de vaca (Gráficos 35 - 40). También se observa una tendencia a la significancia en los valores de manganeso, siendo mayor su concentración en las leches fermentadas de vaca (tabla 55).

TABLA 54: Análisis de la varianza por métodos paramétrico y no paramétrico de todos los parámetros analizados en relación al tipo de leche fermentada (cabra y vaca) (valores de significancia)

Variable	Test de Kolmogorov-Smirnof	Test de Barlett	ANOVA	Test de Kruskal-Wallis	Estudio Significativo (p<0,05)
pH	0,885	0,216	0,001	-	Si
Acidez	0,073	0,001	-	0,229	No
Proteínas	0,181	0,000	-	0,432	No
Grasas	0,211	0,000	-	0,001	Si
Extracto seco	0,002	0,000	-	0,876	No
Cenizas	0,090	0,000	-	0,298	No
Lactosa	0,768	0,269	0,761	-	No
Galactosa	0,386	0,000	-	0,305	No
Lactosa/galactosa	0,584	0,006	-	0,412	No
D-láctico	0,068	0,076	0,106	-	No
L-láctico	0,874	0,077	0,997	-	No
Láctico total	0,922	0,429	0,216	-	No
Acetaldehído	0,892	0,861	0,076	-	No
Calcio	0,231	0,011	-	0,0063	Si
Cobre	0,422	0,546	0,401	-	No
Cromo	0,008	0,019	-	0,275	No
Magnesio	0,047	0,032	-	0,130	No
Manganeso	0,000	0,009	-	0,053	No*
Fósforo	0,109	0,211	0,011	-	Si

*Tendencia a la significancia

TABLA 54: Análisis de la varianza por métodos paramétrico y no paramétrico de todos los parámetros analizados en relación al tipo de leche fermentadas (cabra y vaca) (valores de significancia) (cont.)

Variable	Test de Kolmogorov-Smirnof	Test de Barlett	ANOVA	Test de Kruskal-Wallis	Estudio Significativo (p<0,05)
Selenio	0,099	0,230	0,485	-	No
Zinc	0,021	0,071	-	0,071	No
Butírico	0,134	0,781	0,702	-	No
Caproíco	0,794	0,803	0,000	-	Si
Caprílico	0,062	0,024	-	0,000	Si
Cáprico	0,003	0,000	-	0,000	Si
Láurico	0,682	0,075	0,000	-	Si
Mirístico	0,497	0,111	0,371	-	No
Palmítico	0,411	0,681	0,035	-	Si
Esteárico	0,840	0,543	0,028	-	Si
Oleico	0,966	0,278	0,003	-	Si
Linoléico	0,007	0,000	-	0,002	Si
Linolénico	0,072	-	-	-	-
Araquidónico	0,930	-	-	-	-

*Tendencia a la significancia

TABLA 55. Niveles medios, desviaciones estándar e intervalos del todos los parámetros analizados, según el origen de las leches fermentadas.

Parámetro analizado	Origen de la leche	N	Media \pm DS	Mínimo - Máximo
pH	Cabra	19	4,009 \pm 0,15	3,55 - 4,21
	Vaca	55	4,183 \pm 0,19	3,64 - 4,61
Acidez (%)	Cabra	19	0,9281 \pm 0,10	0,815 - 1,155
	Vaca	55	0,979 \pm 0,18	0,677 - 1,426
Grasas (%)	Cabra	19	4,352 \pm 1,04	1,850 - 6,280
	Vaca	55	2,901 \pm 2,70	0,000 - 10,148
Proteínas (%)	Cabra	19	3,400 \pm 0,23	2,905 - 3,782
	Vaca	55	3,631 \pm 0,81	2,345 - 6,809
Extracto seco (%)	Cabra	19	13,590 \pm 1,15	12,736 - 17,669
	Vaca	55	14,883 \pm 4,40	8,565 - 26,768
Cenizas (%)	Cabra	19	0,7569 \pm 0,024	0,692 - 0,804
	Vaca	55	0,8261 \pm 0,18	0,554 - 1,602
Lactosa (%)	Cabra	9	2,518 \pm 0,80	1,282 - 3,444
	Vaca	14	2,588 \pm 0,60	1,452 - 3,473
Galactosa (%)	Cabra	9	1,056 \pm 0,86	0,000 - 2,355
	Vaca	14	0,645 \pm 0,27	0,236 - 1,245
Lactosa/galactosa	Cabra	9	3,469 \pm 0,23	3,148 - 4,009
	Vaca	14	3,234 \pm 0,67	1,921 - 4,237
D-láctico (%)	Cabra	9	0,1091 \pm 0,07	0,030 - 0,323
	Vaca	14	0,206 \pm 0,15	0,013 - 0,524
L-láctico (%)	Cabra	9	0,9734 \pm 0,14	0,743 - 1,201
	Vaca	14	0,948 \pm 0,24	0,344 - 1,280
Láctico total (%)	Cabra	9	1,079 \pm 0,15	0,844 - 1,283
	Vaca	14	1,154 \pm 0,19	0,772 - 1,458
Acetaldehído (ppm)	Cabra	9	19,322 \pm 6,24	10,199 - 28,110
	Vaca	5	26,506 \pm 6,06	21,260 - 34,438
Ca (mg/100 g)	Cabra	19	171,24 \pm 46,88	117,93 - 260,10
	Vaca	55	208,07 \pm 28,56	125,10 - 250,88
Cu (mg/100 g)	Cabra	19	0,059 \pm 0,037	0,000 - 0,144
	Vaca	55	0,048 \pm 0,031	0,011 - 0,139
Cr (μ g/100 g)	Cabra	19	3,297 \pm 3,59	0,000 - 10,602
	Vaca	55	1,990 \pm 2,84	0,000 - 13,707
Mg (mg/100 g)	Cabra	19	11,366 \pm 4,18	7,565 - 20,260
	Vaca	55	9,408 \pm 2,76	3,555 - 16,150
Mn (μ g/100 g)	Cabra	19	3,701 \pm 3,29	0,424 - 12,742
	Vaca	55	8,780 \pm 15,33	0,000 - 95,936
P (mg/100 g)	Cabra	19	101,223 \pm 29,91	75,140 - 196,574
	Vaca	55	82,784 \pm 23,37	37,580 - 171,484
Se (μ g/100 g)	Cabra	19	2,826 \pm 1,15	0,781 - 5,749
	Vaca	55	4,527 \pm 2,38	0,950 - 13,284
Zn (μ g/100 g)	Cabra	19	477,2 \pm 139	369,3 - 958,2
	Vaca	55	426,1 \pm 99	272,5 - 786,5

TABLA 55. Niveles medios, desviaciones estándar e intervalos de todos los parámetros analizados, según sean leches fermentadas de cabra o vaca (cont.)

Parámetro analizado	Origen de la leche	N	Media ± DS	Mínimo - Máximo
Butírico (g/100 g LF)	Cabra	19	1,100 ± 0,77	0,331 - 3,363
	Vaca	45	1,234 ± 0,74	0,268 - 4,098
Caproíco (g/100 g LF)	Cabra	19	1,227 ± 0,32	0,816 - 1,910
	Vaca	45	0,721 ± 0,32	0,000 - 1,644
Caprílico (g/100 g LF)	Cabra	19	1,534 ± 0,31	0,767 - 2,158
	Vaca	45	0,509 ± 0,18	0,200 - 1,023
Cáprico (g/100 g LF)	Cabra	19	5,579 ± 0,87	3,960 - 7,644
	Vaca	45	1,173 ± 0,35	0,236 - 1,900
Láurico (g/100 g LF)	Cabra	19	2,731 ± 0,55	1,931 - 4,033
	Vaca	45	1,641 ± 0,92	0,127 - 5,394
Mirístico (g/100 g LF)	Cabra	19	5,275 ± 0,96	3,327 - 6,954
	Vaca	45	4,828 ± 1,53	0,425 - 7,404
Palmítico (g/100 g LF)	Cabra	19	17,224 ± 5,02	8,543 - 27,094
	Vaca	45	12,949 ± 5,81	0,009 - 21,385
Esteárico (g/100 g LF)	Cabra	19	6,618 ± 1,74	2,795 - 9,498
	Vaca	45	5,035 ± 2,12	0,366 - 9,702
Oleico (g/100 g LF)	Cabra	19	13,363 ± 2,08	9,070 - 15,929
	Vaca	45	9,639 ± 2,74	1,127 - 14,347
Linoléico (g/100 g LF)	Cabra	19	1,674 ± 0,61	0,860 - 2,865
	Vaca	45	1,325 ± 2,01	0,103 - 10,458

FIGURA 35. Representación de Box y Whisker para el pH y el contenido de grasa según el origen de las leches fermentadas.

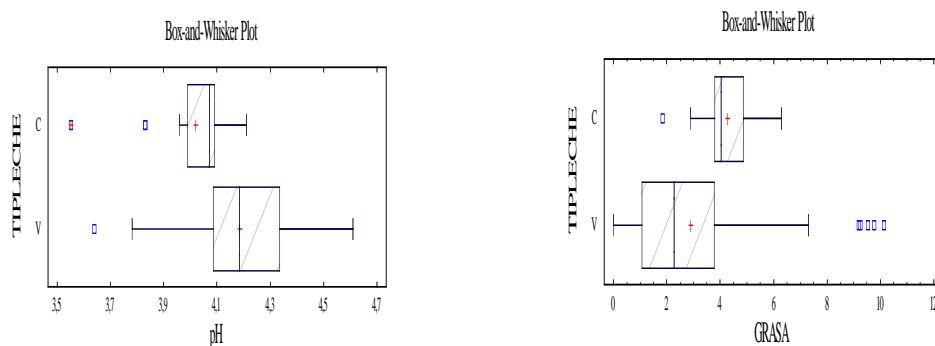


FIGURA 36. Representación de Box y Whisker para el contenido de calcio y fósforo según el origen de las leches fermentadas.

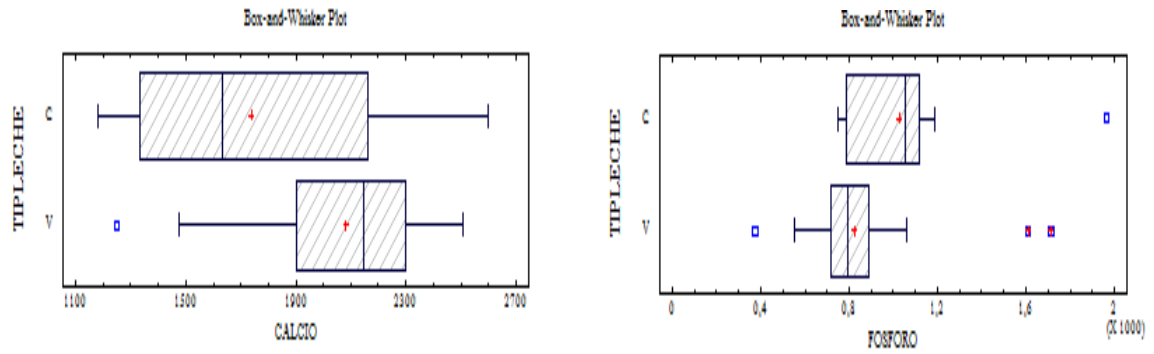


FIGURA 37. Representación de Box y Whisker para el contenido de caproico y caprílico según el origin de las leches fermentadas.

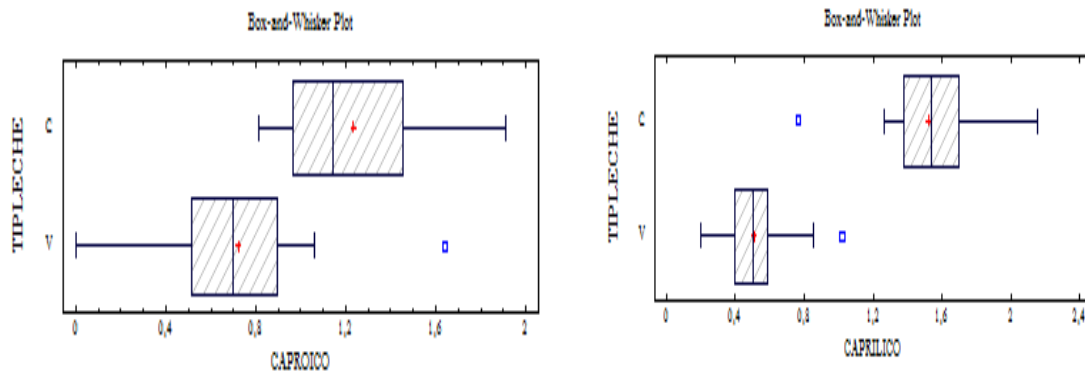


FIGURA 38. Representación de Box y Whisker para el contenido de cáprico y láurico según el origen de las leches fermentadas.

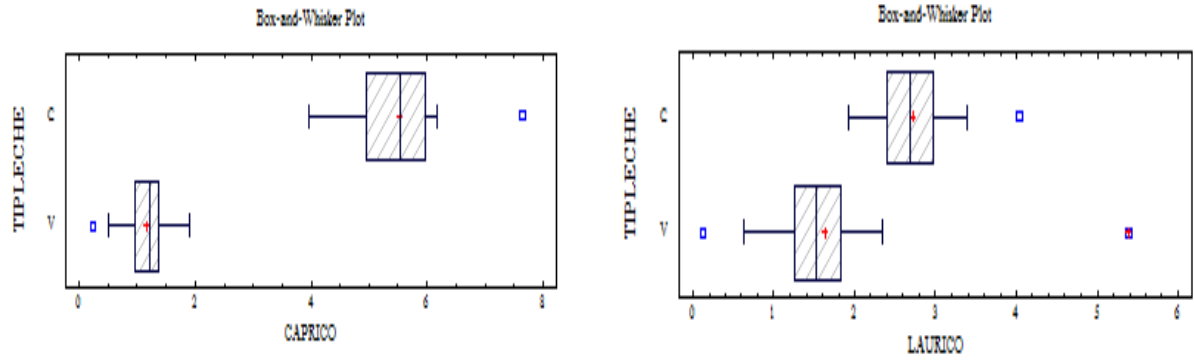


FIGURA 39. Representación de Box y Whisker para el contenido de palmítico y esteárico según el origen de las leches fermentadas.

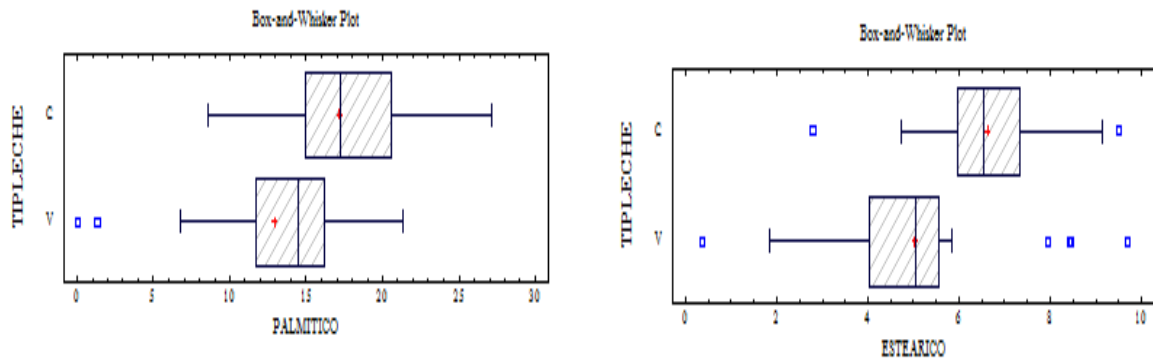
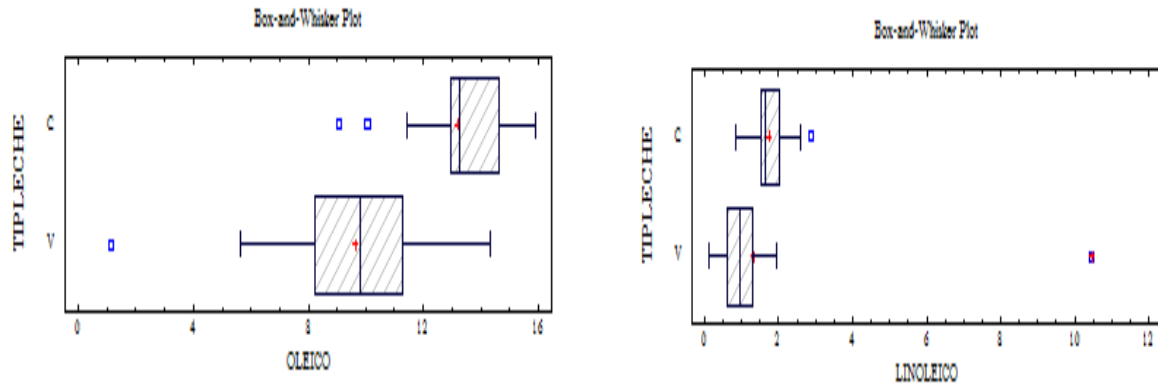


FIGURA 40. Representación de Box y Whisker para el contenido de oleico y linoléico según el origen de las leches fermentadas.



B.3. Según el tipo de cultivo iniciador

Los resultados de este estudio vienen expresados en la tabla 56.

Tras la aplicación de dichos tests, se han obtenido diferencias significativas ($p < 0,05$), según el tipo de cultivo iniciador (bifidobacterias, bacterias del kéfir, Streptococcus thermophilus y Lactobacillus bulgaricus, y otras bacterias ácido lácticas) para los parámetros de acidez, proteínas, extracto seco, butírico, caproico, palmítico, oleico, magnesio y zinc, y una tendencia a la significancia para los valores de fósforo ($p = 0,057$).

TABLA 56: Análisis de la varianza por métodos paramétrico y no paramétrico de todos los parámetros analizados en relación al tipo de cultivo iniciador (bifidobacterias, kéfir, Lb y St y otras bacterias ácido lácticas) (valores de significancia)

Variable	Test de Kolmogorov-Smirnof	Test de Barlett	Anova	Test de Kruskal-Wallis	Estudio Significativo (p<0,05)
pH	0,885	0,031	-	0,340	No
Acidez	0,073	0,108	-	0,032	Si
Proteínas	0,181	0,141	0,003	-	Si
Grasas	0,211	0,166	0,070	-	No
Extracto seco	0,002	0,000	-	0,002	Si
Cenizas	0,090	0,000	-	0,090	No
Lactosa	0,768	0,681	0,182	-	No
Galactosa	0,386	0,290	0,133	-	No
Lactosa/galactosa	0,584	0,405	0,669	-	No
D-láctico	0,068	0,003	-	0,166	No
L-láctico	0,874	0,066	0,963	-	No
Láctico total	0,922	0,182	0,247	-	No
Acetaldehído	0,892	0,932	0,226	-	No
Butírico	0,134	0,000	-	0,012	Si
Caproíco	0,794	0,310	0,019	-	Si
Caprílico	0,062	0,144	0,203	-	No
Cáprico	0,003	0,001	-	0,069	No
Láurico	0,682	0,026	-	0,185	No
Mirístico	0,497	0,198	0,293	-	No

*Tendencia a la significancia

TABLA 56. Análisis de la varianza por métodos paramétrico y no paramétrico de todos los parámetros analizados en relación al tipo de cultivo iniciador (bífidobacterias, kéfir, Lb y St y otras bacterias ácido lácticas) (valores de significancia) (cont.)

Variable	Test de Kolmogorov-Smirnof	Test de Barlett	Anova	Test de Kruskal-Wallis	Estudio Significativo (p<0,05)
Palmítico	0,411	0,688	0,005	-	Si
Esteárico	0,840	0,663	0,295	-	No
Oleico	0,966	0,781	0,035	-	Si
Linoléico	0,007	0,001	-	0,169	No
Linolénico	0,072				
Araquidónico	0,930	0,527	0,713	-	No
Calcio	0,231	0,881	0,302	-	No
Cobre	0,422	0,048	-	0,836	No
Cromo	0,008	0,006	-	0,982	No
Magnesio	0,047	0,229	-	0,009	Si
Manganeso	0,000	0,000	-	0,717	No
Fósforo	0,109	0,003	-	0,057	No*
Selenio	0,099	0,230	0,485	-	No
Zinc	0,021	0,002	-	0,003	Si

*Tendencia a la significancia

TABLA 57. Niveles medios, desviaciones estándar e intervalos de todos los parámetros estudiados, según el tipo de leche fermentada

Parámetro analizado	Cultivo iniciador	N	Media ± DS	Mínimo - Máximo
pH	▪ LB y ST	44	4,105 ± 0,219	3,55 - 4,61
	▪ Bact Kéfir	7	4,149 ± 0,117	4,04 - 4,35
	▪ Bífidobacterias	17	4,174 ± 0,103	4,01 - 4,41
	▪ Otras bact prob	7	4,212 ± 0,208	3,85 - 4,55
Acidez (g/100 g)	▪ LB y ST	44	1,004 ± 0,171	0,677 - 1,368
	▪ Bact Kéfir	7	0,856 ± 0,091	0,733 - 0,954
	▪ Bífidobacterias	17	0,955 ± 0,112	0,741 - 1,141
	▪ Otras bact prob	7	0,894 ± 0,193	0,731 - 1,426
Grasas (g/100 g)	▪ LB y ST	44	3,830 ± 2,668	0,000 - 10,148
	▪ Bact Kéfir	7	3,539 ± 1,732	0,195 - 6,280
	▪ Bífidobacterias	17	2,254 ± 1,911	0,000 - 4,540
	▪ Otras bact prob	7	1,917 ± 1,637	0,000 - 4,757
Proteínas (g/100 g)	▪ LB y ST	44	3,741 ± 0,755	2,857 - 6,809
	▪ Bact Kéfir	7	3,243 ± 0,273	2,870 - 3,722
	▪ Bífidobacterias	17	3,703 ± 0,460	3,005 - 4,301
	▪ Otras bact prob	7	2,921 ± 0,556	2,345 - 4,309
Extracto seco (g/100 g)	▪ LB y ST	44	15,009 ± 4,134	9,091 - 26,768
	▪ Bact Kéfir	7	11,909 ± 1,837	8,565 - 13,427
	▪ Bífidobacterias	17	12,140 ± 1,170	10,241 - 13,940
	▪ Otras bact prob	7	17,154 ± 3,136	12,226 - 22,707
Cenizas (g/100 g)	▪ LB y ST	44	0,811 ± 0,128	0,650 - 1,174
	▪ Bact Kéfir	7	0,742 ± 0,028	0,691 - 0,780
	▪ Bífidobacterias	17	0,842 ± 0,177	0,554 - 1,278
	▪ Otras bact prob	7	0,799 ± 0,303	0,605 - 1,602
Lactosa (g/100 g)	▪ LB y ST	16	2,423 ± 0,648	1,282 - 3,473
	▪ Bact Kéfir	5	3,068 ± 0,507	2,287 - 3,444
	▪ Bífidobacterias	2	2,110 ± 0,997	1,405 - 2,816
	▪ Otras bact prob.	1	3,082	3,082
Galactosa (g/100 g)	▪ LB y ST	16	0,908 ± 0,578	0,346 - 2,355
	▪ Bact Kéfir	5	0,184 ± 0,239	0,000 - 0,502
	▪ Bífidobacterias	2	1,198 ± 0,772	0,652 - 1,744
	▪ Otras bact prob.	1	0,882	0,882
Lactosa/galactosa	▪ LB y ST	16	3,331 ± 0,610	1,921 - 4,237
	▪ Bact Kéfir	5	3,215 ± 0,392	2,521 - 3,444
	▪ Bífidobacterias	2	3,308 ± 0,226	3,148 - 3,468
	▪ Otras bact prob.	1	3,966 ± 0,000	3,966 - 3,966
D-Láctico (g/100 g)	▪ LB y ST	16	0,184 ± 0,147	0,013 - 0,524
	▪ Bact Kéfir	5	0,100 ± 0,016	0,080 - 0,126
	▪ Bífidobacterias	2	0,080 ± 0,071	0,030 - 0,131
	▪ Otras bact prob.	1	0,371	0,371

TABLA 57. Niveles medios, desviaciones estándar e intervalos del todos los parámetros estudiados, según el tipo de leche fermentada (continuación)

Parámetro analizado	Cultivo iniciador	N	Media ± DS	Mínimo - Máximo
L-Láctico (g/100g)	▪ LB y ST	16	0,975 ± 0,250	0,344 - 1,280
	▪ Bact Kéfir	5	0,940 ± 0,076	0,841 - 1,032
	▪ Bífidobacterias	2	0,874 ± 0,085	0,814 - 0,935
	▪ Otras bact prob.	1	0,956	0,956
Láctico total (%)	▪ LB y ST	16	1,157 ± 0,194	0,772 - 1,458
	▪ Bact Kéfir	5	1,041 ± 0,073	0,966 - 1,137
	▪ Bífidobacterias	2	0,955 ± 0,157	0,844 - 1,066
	▪ Otras bact prob.	1	1,327	1,327
Acetaldehído (ppm)	▪ LB y ST	9	21,001 ± 6,351	10,199 - 31,566
	▪ Bact Kéfir	5	25,007 ± 6,871	18,243 - 34,438
	▪ Bífidobacterias	1	11,70	11,70
Ca (mg/100g)	▪ LB y ST	44	196,05 ± 38,56	117,93 - 242,93
	▪ Bact Kéfir	7	207,14 ± 32,53	150,37 - 260,10
	▪ Bífidobacterias	17	181,85 ± 42,41	125,10 - 239,77
	▪ Otras bact prob	7	212,90 ± 33,34	147,42 - 250,88
Cu (µg/100 g)	▪ LB y ST	44	0,054 ± 0,036	0,000 - 0,144
	▪ Bact Kéfir	7	0,043 ± 0,019	0,027 - 0,070
	▪ Bífidobacterias	17	0,046 ± 0,012	0,029 - 0,066
	▪ Otras bact prob	7	0,045 ± 0,034	0,012 - 0,127
Cr (µg/100 g)	▪ LB y ST	44	2,028 ± 2,846	0,000 - 13,707
	▪ Bact Kéfir	7	3,131 ± 5,062	0,000 - 10,602
	▪ Bífidobacterias	17	3,398 ± 4,060	0,000 - 8,737
	▪ Otras bact prob	7	1,989 ± 2,141	0,000 - 6,81
Mg (mg/100 g)	▪ LB y ST	44	9,93 ± 3,07	3,55 - 20,26
	▪ Bact Kéfir	7	11,85 ± 4,26	7,41 - 19,07
	▪ Bífidobacterias	17	11,49 ± 3,19	8,72 - 17,59
	▪ Otras bact prob	7	7,30 ± 1,93	4,02 - 10,13
Mn (µg/100 g)	▪ LB y ST	44	8,12 ± 16,325	0,424 - 9,593
	▪ Bact Kéfir	7	3,024 ± 2,249	0,465 - 5,474
	▪ Bífidobacterias	17	3,761 ± 1,117	1,810 - 5,331
	▪ Otras bact prob	7	10,652 ± 11,354	0,000 - 3,365
P (mg/100 g)	▪ LB y ST	44	86,91 ± 22,41	37,58 - 171,48
	▪ Bact Kéfir	7	83,62 ± 10,19	75,14 - 96,81
	▪ Bífidobacterias	17	114,46 ± 45,95	79,45 - 196,57
	▪ Otras bact prob	7	74,41 ± 15,88	56,02 - 106,11
Se (µg/100 g)	▪ LB y ST	44	4,38 ± 2,41	0,78 - 13,28
	▪ Bact Kéfir	7	3,32 ± 1,09	1,76 - 5,02
	▪ Bífidobacterias	17	3,74 ± 2,15	2,06 - 8,67
	▪ Otras bact prob	7	3,71 ± 2,34	0,95 - 8,45

TABLA 57. Niveles medios, desviaciones estándar e intervalos del todos los parámetros estudiados, según el tipo de leche fermentada (continuación)

Parámetro analizado	Cultivo iniciador	N	Media ± DS	Mínimo - Máximo
Zn (µg/100 g)	▪ LB y ST	44	461,0 ± 125,4	317,1 – 958,2
	▪ Bact Kéfir	7	429,1 ± 40,8	372,9 -473,9
	▪ Bífidobacterias	17	460,3 ± 96,1	366,6 – 617,3
	▪ Otras bact prob	7	347,6 ± 50,6	272,5 – 451,3
Butírico (g/100 g LF)	▪ LB y ST	40	1,168 ± 0,386	0,268 - 1,618
	▪ Bact Kéfir	7	0,515 ± 0,143	0,331 - 0,713
	▪ Bífidobacterias	10	2,423 ± 1,552	0,868 - 4,098
	▪ Otras bact prob.	7	1,028 ± 0,522	0,311 -1,853
Caproico (g/100 g LF)	▪ LB y ST	40	0,975 ± 0,359	0,336 - 1,723
	▪ Bact Kéfir	7	0,818 ± 0,207	0,463 - 0,961
	▪ Bífidobacterias	10	1,300 ± 0,579	0,648 - 1,910
	▪ Otras bact prob.	7	0,590 ± 0,314	0,000 - 1,058
Caprílico (g/100 g LF)	▪ LB y ST	40	0,981 ± 0,614	0,230 - 2,158
	▪ Bact Kéfir	7	1,083 ± 0,512	0,337 - 1,543
	▪ Bífidobacterias	10	0,896 ± 0,517	0,446 - 1,631
	▪ Otras bact prob.	7	0,511 ± 0,250	0,200 - 1,023
Cáprico (g/100 g LF)	▪ LB y ST	40	3,135 ± 2,408	0,500 - 7,644
	▪ Bact Kéfir	7	4,534 ± 2,083	0,909 - 5,970
	▪ Bífidobacterias	10	2,299 ± 1,606	1,115 - 4,661
	▪ Otras bact prob	7	1,073 ± 0,429	0,236 - 1,720
Láurico (g/100 g LF)	▪ LB y ST	40	2,084 ± 0,834	0,618 - 4,033
	▪ Bact Kéfir	7	2,352 ± 0,649	1,237 - 2,854
	▪ Bífidobacterias	10	1,932 ± 0,342	1,503 - 2,342
	▪ Otras bact prob	7	1,794 ± 1,567	0,127 - 5,394
			4,195 ± 1,908	0,425 - 7,094
Palmítico (g/100 g LF)	▪ LB y ST	40	16,122 ± 4,477	6,750 - 27,094
	▪ Bact Kéfir	7	16,420 ± 4,478	10,432 - 21,166
	▪ Bífidobacterias	10	16,313 ± 5,373	8,913 - 21,385
	▪ Otras bact prob	7	8,248 ± 6,553	0,009 - 14,963
Esteárico (g/100 g LF)	▪ LB y ST	40	5,832 ± 1,785	1,865 - 9,702
	▪ Bact Kéfir	7	6,748 ± 2,824	2,466 - 9,498
	▪ Bífidobacterias	10	5,304 ± 2,372	2,795 - 8,474
	Otras bact prob	7	4,508 ± 2,248	0,366 - 7,950
Oleico (g/100 g LF)	▪ LB y ST	40	11,149 ± 2,678	5,630 - 15,600
	▪ Bact Kéfir	7	13,237 ± 3,100	8,168 - 15,929
	▪ Bífidobacterias	10	12,218 ± 2,297	9,070 - 14,347
	▪ Otras bact prob	7	8,654 ± 3,367	1,127 - 12,160
Linoléico (g/100g LF)	▪ LB y ST	40	1,366± 0,701	0,200 - 2,865
	▪ Bact Kéfir	7	1,475 ± 0,257	1,024 - 1,668
	▪ Bífidobacterias	10	1,084 ± 0,320	0,869 - 1,560
	▪ Otras bact prob	7	1,855 ± 3,506	0,103 - 10,458

TABLA 58. Test de rango múltiple para el contenido de acidez según el cultivo iniciador

Multiple Range Tests for ACIDEZ by TIPOLF

Method: 95,0 percent LSD			
TIPOLF	Mean	Homogeneous Groups	
Kfir	0,85675	X	
Otros	0,8944	XX	
Bifi	0,955455	XX	
LbSt	1,00074	X	
Contrast		Difference	+/- Limits
Bifi - Kfir		0,0987045	0,148899
Bifi - LbSt		-0,0452835	0,108536
Bifi - Otros		0,0610545	0,140014
Kfir - LbSt		*-0,143988	0,123616
Kfir - Otros		-0,03765	0,152002
LbSt - Otros		0,106338	0,112755

* denotes a statistically significant difference.

En relación a la acidez, se ha observado que el kéfir y el yogur tradicional mostraron ni veles significativamente diferentes, siendo el kéfir la leche fermentada con menor contenido de ácido láctico (tabla 58).

TABLA 59. Test de rango múltiple para el contenido de proteínas según el tipo de leche

Multiple Range Tests for PROTEINA by TIPOLF

Method: 95,0 percent LSD			
TIPOLF	Mean	Homogeneous Groups	
Otros	2,9208	X	
Kfir	3,24363	XX	
Bifi	3,70309	X	
LbSt	3,74607	X	
Contrast		Difference	+/- Limits
Bifi - Kfir		0,459466	0,614821
Bifi - LbSt		-0,0429789	0,447074
Bifi - Otros		*0,782291	0,578131
Kfir - LbSt		-0,502445	0,509471
Kfir - Otros		0,322825	0,627631
LbSt - Otros		*0,82527	0,464533

* denotes a statistically significant difference.

En relación a las proteínas, se ha observado que las leches fermentadas elaboradas con otras bacterias probióticas mostraron niveles significativamente diferentes, siendo éstas las de menor contenido de proteínas (Tabla 59).

TABLA 60. Test de rango múltiple para el contenido de extracto seco según el cultivo iniciador

Multiple Range Tests for EXTOSCO by TIPOLF

Method: 95,0 percent LSD

TIPOLF	Mean	Homogeneous Groups
Kfir	11,9093	X
Bifi	12,1401	X
LbSt	15,036	X
Otros	17,1541	X

Contrast	Difference	+/- Limits
Bifi - Kfir	0,230841	3,28881
Bifi - LbSt	*-2,89586	2,39729
Bifi - Otros	*-5,01401	3,09255
Kfir - LbSt	*-3,1267	2,73035
Kfir - Otros	*-5,24485	3,35734
LbSt - Otros	-2,11815	2,49047

* denotes a statistically significant difference.

En relación al extracto seco, los k ífires y las leches fermentadas con bifidobacterias son estadísticamente menores frente al yogur tradicional y a las leches fermentadas con otras bacterias probióticas (tabla 60).

TABLA 61. Test de rango múltiple para el contenido de butírico según el cultivo iniciador

Multiple Range Tests for BUTIRICO by TIPOLF

Method: 95,0 percent LSD			
TIPOLF	Mean	Homogeneous Groups	

Kfir	0,5152	X	
Otros	1,028	XX	
LbSt	1,19245	X	
Bifi	2,42375	X	

Contrast		Difference	+/- Limits

Bifi - Kfir		*1,90855	0,821739
Bifi - LbSt		*1,2313	0,670947
Bifi - Otros		*1,39575	0,750141
Kfir - LbSt		*-0,67725	0,612488
Kfir - Otros		-0,5128	0,698344
LbSt - Otros		0,16445	0,512444

* denotes a statistically significant difference.

En relación a l butírico, se ha observado que el kéfir y las leches fermentadas con bifidobacterias mostraron niveles significativamente diferentes, siendo el kéfir la leche fermentada con menor contenido de butírico y los elaborados con bifidobacterias los que presentan las mayores concentraciones (tabla 61).

TABLA 62. Test de rango múltiple para el contenido de caproico según el cultivo iniciador

Multiple Range Tests for CAPROICO by TIPOLF

Method: 95,0 percent LSD			
TIPOLF	Mean	Homogeneous Groups	

Otros	0,59075	X	
Kfir	0,818	XX	
LbSt	0,9682	X	
Bifi	1,30025	X	

Contrast		Difference	+/- Limits

Bifi - Kfir		0,48225	0,500422
Bifi - LbSt		0,33205	0,408593
Bifi - Otros		*0,7095	0,456821
Kfir - LbSt		-0,1502	0,372993
Kfir - Otros		0,22725	0,425277
LbSt - Otros		*0,37745	0,312068

* denotes a statistically significant difference.

En relación al caproico, se ha observado que su contenido en las leches fermentadas elaboradas con otras bacterias probióticas son estadísticamente diferentes respecto a las demás leches fermentadas, siendo sus valores significativamente más bajos (tabla 62).

TABLA 63. Test de rango múltiple para el contenido de oleico según el cultivo iniciador

Multiple Range Tests for OLEICO by TIPOLF

Method: 95,0 percent LSD

TIPOLF	Mean	Homogeneous Groups
Otros	8,65412	X
LbSt	10,927	XX
Bifi	12,2187	X
Kfir	13,2372	X

Contrast	Difference	+/- Limits
Bifi - Kfir	-1,01845	3,80409
Bifi - LbSt	1,2917	3,10603
Bifi - Otros	*3,56462	3,47265
Kfir - LbSt	2,31015	2,8354
Kfir - Otros	*4,58308	3,23286
LbSt - Otros	2,27293	2,37227

* denotes a statistically significant difference.

En relación al oleico, se han observado diferencias estadísticamente significativas en las leches fermentadas elaboradas con otras bacterias probióticas, presentando las concentraciones más bajas de este ácido graso (tabla 63).

TABLA 64. Test de rango múltiple para el contenido de palmítico según el tipo de cultivo iniciador

Multiple Range Tests for PALMITICO by TIPOLF

Method: 95,0 percent LSD		
TIPOLF	Mean	Homogeneous Groups
Otros	8,24875	X
LbSt	16,0448	X
Bifi	16,3137	X
Kfir	16,4202	X
Contrast	Difference	+/- Limits
Bifi - Kfir	-0,10645	6,9912
Bifi - LbSt	0,269	5,70829
Bifi - Otros	*8,065	6,38206
Kfir - LbSt	0,37545	5,21093
Kfir - Otros	*8,17145	5,94138
LbSt - Otros	*7,796	4,35978

* denotes a statistically significant difference.

En las leches fermentadas elaboradas con otras bacterias probióticas se han observado diferencias estadísticamente significativas en el contenido de palmítico, respecto a las otras leches fermentadas analizadas, siendo su contenido significativamente más bajo (tabla 64).

TABLA 65. Test de rango múltiple para el contenido de magnesio según el tipo de cultivo iniciador

Multiple Range Tests for MAGNESIO by TIPOLF

Method: 95,0 percent LSD		
TIPOLF	Mean	Homogeneous Groups
Otros	73,0727	X
LbSt	99,8591	X
Bifi	114,98	X
Kfir	118,508	X
Contrast	Difference	+/- Limits
Bifi - Kfir	-3,52767	31,2987
Bifi - LbSt	15,1212	23,0235
Bifi - Otros	*41,9076	28,5359
Kfir - LbSt	18,6489	25,5447
Kfir - Otros	*45,4353	30,6064
LbSt - Otros	*26,7864	22,0732

* denotes a statistically significant difference.

En relación al contenido de magnesio, se ha observado que las leches fermentadas elaboradas con otras bacterias probióticas mostraron niveles significativamente diferentes, siendo estas las que presentaron el menor contenido de magnesio (tabla 65).

TABLA 66. Test de rango múltiple para el contenido de zinc según el tipo cultivo iniciador

Multiple Range Tests for ZINC by TIPOLF

Method: 95,0 percent LSD

TIPOLF	Mean	Homogeneous Groups
Otros	3,4762	X
Kfir	4,29129	XX
Bifi	4,60389	X
LbSt	4,62822	X

Contrast	Difference	+/- Limits
Bifi - Kfir	0,312603	1,08619
Bifi - LbSt	-0,0243273	0,801078
Bifi - Otros	*1,12769	0,990315
Kfir - LbSt	-0,336931	0,888371
Kfir - Otros	0,815086	1,06217
LbSt - Otros	*1,15202	0,768185

* denotes a statistically significant difference.

En relación al contenido de zinc, las leches fermentadas elaboradas con otras bacterias probióticas mostraron niveles significativamente más bajos en zinc respecto a las otras leches fermentadas analizadas (tabla 66).

C. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN

TABLA 67. Análisis de correlación (r) y niveles de significancia (p; entre paréntesis) correspondiente a los diferentes parámetros en las leches fermentadas analizadas

	Butírico	Cáprico	Caprílico	Caproico	Esteárico
Butírico	-	0,0769 (0,6973)	0,1676 (0,3940)	0,6786 (0,0001)	0,5478 (0,0025)
Cáprico	0,0769 (0,6973)	-	0,9767 (0,0000)	0,7520 (0,0000)	0,3257 (0,0908)
Caprílico	0,1676 (0,3940)	0,9767 (0,0000)	-	0,7963 (0,000)	0,3834 (0,0440)
Caproico	0,6786 (0,0001)	0,7520 (0,0000)	0,7963 (0,000)	-	0,6387 (0,0003)
Esteárico	0,5478 (0,0025)	0,3257 (0,0908)	0,3834 (0,0440)	0,6387 (0,0003)	-
Láurico	0,2371 (0,2243)	0,6436 (0,0002)	0,7768 (0,0000)	0,6231 (0,0004)	0,4074 (0,0314)
Mirístico	0,6656 (0,0001)	0,3843 (0,0435)	0,4566 (0,0146)	0,7795 (0,0000)	0,7403 (0,0000)
Palmítico	0,2807 (0,1479)	0,4573 (0,0144)	0,4719 (0,0112)	0,5531 (0,0023)	0,4790 (0,0099)
Oleico	0,4252 (0,0241)	0,6403 (0,0002)	0,6617 (0,0001)	0,7869 (0,0000)	0,6939 (0,00009)
Acidez	-0,0046 (0,9813)	0,0115 (0,9535)	-0,0129 (0,9479)	0,0091 (0,9632)	0,1594 (0,4177)
pH	-0,1336 (0,4980)	-0,4448 (0,0177)	-0,4526 (0,0156)	-0,4062 (0,0320)	-0,1136 (0,5648)
Proteínas	-0,2257 (0,2482)	-0,0123 (0,9505)	-0,1012 (0,6083)	-0,1395 (0,4790)	-0,2038 (0,2983)
Grasas	-0,0699 (0,7239)	0,1363 (0,4893)	0,0837 (0,6720)	0,0703 (0,7221)	-0,0072 (0,9709)
Extracto seco	-0,0822 (0,6775)	-0,2577 (0,1856)	-0,2440 (0,2109)	-0,2465 (0,2060)	-0,2029 (0,3004)
Cenizas	0,0616 (0,7555)	-0,0507 (0,7976)	-0,0934 (0,6365)	0,0172 (0,9306)	-0,1530 (0,4370)
Calcio	-0,1961 (0,3173)	-0,5768 (0,0013)	-0,5650 (0,0017)	-0,5186 (0,0047)	-0,1551 (0,4305)
Cobre	-0,1090 (0,5808)	0,1992 (0,3095)	0,1313 (0,5053)	0,0540 (0,7849)	-0,0948 (0,6315)
Cromo	-0,1130 (0,5669)	0,3115 (0,1066)	0,2808 (0,1478)	0,1984 (0,3116)	0,0166 (0,9331)
Fósforo	0,1205 (0,5412)	0,2420 (0,2146)	0,1909 (0,3305)	0,2460 (0,2071)	-0,1675 (0,3943)
Magnesio	-0,0434 (0,8265)	-0,0502 (0,7997)	-0,0992 (0,6154)	-0,0694 (0,7256)	-0,2783 (0,1516)
Manganeso	-0,2832 (0,1442)	-0,1742 (0,3754)	-0,1565 (0,4264)	-0,3213 (0,0955)	-0,0925 (0,6396)
Selenio	-0,1785 (0,3633)	-0,1785 (0,3633)	-0,3095 (0,1091)	-0,3233 (0,0933)	-0,0828 (0,6754)
Zinc	0,3343 (0,0821)	0,3343 (0,0821)	0,3931 (0,0385)	0,5050 (0,0061)	0,1635 (0,4057)

TABLA 67. Análisis de correlación (r) y niveles de significancia (p; entre paréntesis) correspondiente a los diferentes parámetros en las leches fermentadas analizadas (cont.)

	Láurico	Mirístico	Palmítico	Oleico	Acidez
Butírico	0,2371 (0,2243)	0,6656 (0,0001)	0,2807 (0,1479)	0,4252 (0,0241)	-0,0046 (0,9813)
Cáprico	0,6436 (0,0002)	0,3843 (0,0435)	0,4573 (0,0144)	0,6403 (0,0002)	0,0115 (0,9535)
Caprílico	0,7768 (0,0000)	0,4566 (0,0146)	0,4719 (0,0112)	0,6617 (0,0001)	-0,0129 (0,9479)
Caproíco	0,6231 (0,0004)	0,7795 (0,0000)	0,5531 (0,0023)	0,7869 (0,0000)	0,0091 (0,9632)
Esteárico	0,4074 (0,0314)	0,7403 (0,0000)	0,4790 (0,0099)	0,6939 (0,0000)	0,1594 (0,4177)
Láurico	-	0,5688 (0,0016)	0,3986 (0,0356)	0,5374 (0,0032)	-0,0942 (0,6334)
Mirístico	0,5688 (0,0016)	-	0,5284 (0,0038)	0,7954 (0,0000)	0,0055 (0,9779)
Palmítico	0,3986 (0,0356)	0,5284 (0,0038)	-	0,6005 (0,0007)	0,0855 (0,6653)
Oleico	0,5374 (0,0032)	0,7954 (0,0000)	0,6005 (0,0007)	-	0,1560 (0,4279)
Acidez	-0,0942 (0,6334)	0,0055 (0,9779)	0,0855 (0,6653)	0,1560 (0,4279)	-
pH	-0,3365 (0,0799)	-0,2124 (0,2779)	0,1094 (0,5794)	-0,3860 (0,0425)	-0,3301 (0,0862)
Proteínas	-0,2548 (0,1907)	-0,2008 (0,3055)	0,1127 (0,5681)	-0,1752 (0,3726)	0,4750 (0,0106)
Grasas	-0,0078 (0,9687)	0,0967 (0,6245)	0,1556 (0,4291)	-0,0024 (0,9902)	0,4096 (0,03049)
Extracto seco	-0,0919 (0,6417)	-0,2082 (0,2877)	-0,3768 (0,0481)	-0,2443 (0,2103)	0,3175 (0,0997)
Cenizas	-0,2624 (0,1774)	-0,1280 (0,5161)	0,1433 (0,4669)	-0,0452 (0,8194)	0,3918 (0,0391)
Calcio	-0,2907 (0,1334)	-0,1845 (0,3472)	-0,1620 (0,4101)	-0,2929 (0,1303)	0,1678 (0,3935)
Cobre	-0,0635 (0,7484)	-0,1048 (0,5956)	0,0685 (0,7292)	0,0752 (0,7035)	0,0503 (0,7993)
Cromo	0,0776 (0,6947)	0,0548 (0,7817)	0,2199 (0,2609)	0,3151 (0,1025)	-0,1077 (0,5855)
Fósforo	-0,0776 (0,0694)	-0,1534 (0,4359)	0,0307 (0,8769)	-0,0318 (0,8724)	0,4172 (0,0272)
Magnesio	-0,2927 (0,1306)	-0,2494 (0,2006)	-0,0693 (0,7260)	-0,0853 (0,6660)	0,3087 (0,1099)
Manganeso	-0,0829 (0,6751)	-0,3424 (0,0745)	-0,0455 (0,8183)	-0,1441 (0,4645)	0,2794 (0,1499)
Selenio	-0,0791 (0,6891)	-0,0620 (0,7541)	-0,0092 (0,9629)	-0,1984 (0,3116)	0,3214 (0,0954)
Zinc	0,1912 (0,3297)	0,3171 (0,1001)	0,4279 (0,0231)	0,2705 (0,1639)	0,3578 (0,0616)

TABLA 67. Análisis de correlación (r) y niveles de significancia (p; entre paréntesis) correspondiente a los diferentes parámetros en las leches fermentadas analizadas (cont.)

	pH	Proteínas	Grasas	Extracto seco	Cenizas
Butírico	-0,1336 0,4980	-0,2257 0,2482	-0,0699 0,7239	-0,0822 0,6775	0,0616 0,7555
Cáprico	-0,4448 0,0177	-0,0123 0,9505	0,1363 0,4893	-0,2577 0,1856	-0,0507 0,7976
Caprílico	-0,4526 0,0156	-0,1012 0,6083	0,0837 0,6720	-0,2440 0,2109	-0,0934 0,6365
Caproíco	-0,4062 0,0320	-0,1395 0,4790	0,0703 0,7221	-0,2465 0,2060	0,0172 0,9306
Esteárico	-0,1136 0,5648	-0,2038 0,2983	-0,0072 0,9709	-0,2029 0,3004	-0,1530 0,4370
Láurico	-0,3365 0,0799	-0,2548 0,1907	-0,0078 0,9687	-0,0919 0,6417	-0,2624 0,1774
Mirístico	-0,2124 0,2779	-0,2008 0,3055	0,0967 0,6245	-0,2082 0,2877	-0,1280 0,5161
Palmitico	0,1094 0,5794	0,1127 0,5681	0,1556 0,4291	-0,3768 0,0481	0,1433 0,4669
Oleico	-0,3860 0,0425	-0,1752 0,3726	-0,0024 0,9902	-0,2443 0,2103	-0,0452 0,8194
Acidez	-0,3301 0,0862	0,4750 0,0106	0,4096 0,0304	0,3175 0,0997	0,3918 0,0392
pH	-	0,1308 0,5071	-0,0086 0,9655	-0,0872 0,6592	0,1472 0,4549
Proteínas	0,1308 0,5071	-	0,6601 0,0001	0,3576 0,0617	0,5726 0,0015
Grasas	-0,0086 0,9655	0,6601 0,0001	-	0,4789 0,0099	0,4002 0,0348
Extracto seco	-0,0872 0,6592	0,3576 0,0617	0,4789 0,0099	-	0,3512 0,0668
Cenizas	0,1472 0,4549	0,5726 0,0015	0,4002 0,0348	0,3512 0,0668	-
Calcio	0,2081 0,2880	0,1882 0,3376	0,0581 0,7689	0,2447 0,2094	0,0424 0,8304
Cobre	0,0594 0,7639	0,2133 0,2758	0,1424 0,4698	0,1733 0,3777	0,4339 0,0210
Cromo	-0,2002 0,3070	-0,0317 0,8727	-0,0146 0,9412	0,0081 0,9672	0,0231 0,9070
Fósforo	-0,3033 0,1167	0,5212 0,0045	0,2288 0,2415	0,3175 0,0996	0,6412 0,0002
Magnesio	0,0071 0,9714	0,4493 0,0165	-0,0478 0,8090	0,0575 0,7713	0,6380 0,0003
Manganeso	0,0878 0,6570	0,1318 0,5038	0,0760 0,7006	0,4137 0,0287	0,2600 0,1815
Selenio	0,2473 0,2046	0,6188 0,0004	0,6017 0,0007	0,5865 0,0010	0,1538 0,4347
Zinc	-0,1618 0,4108	0,3367 0,0797	0,4900 0,0081	0,0927 0,6390	0,2939 0,1290

TABLA 67: Análisis de correlación (r) y niveles de significancia (p; entre paréntesis) correspondiente a los diferentes parámetros en las leches fermentadas analizadas (cont.)

	Calcio	Cobre	Cromo	Fósforo	Magnesio
Butírico	-0,1961 0,3173	-0,1090 0,5808	-0,1130 0,5669	0,1205 0,5412	-0,0434 0,8265
Cáprico	-0,5768 0,0013	0,1992 0,3095	0,3118 0,1066	0,2420 0,2146	-0,0502 0,7997
Caprílico	-0,5650 0,0017	0,1313 0,5053	0,2808 0,1478	0,1909 0,3305	-0,0992 0,6154
Caproíco	-0,5186 0,0047	0,0540 0,7849	0,1984 0,3116	0,2460 0,2071	-0,0694 0,7256
Esteárico	-0,1551 0,4305	-0,0948 0,6315	0,0166 0,9331	-0,1675 0,3943	-0,2783 0,1516
Láurico	-0,2907 0,1334	-0,0635 0,7484	0,0776 0,6947	-0,0776 0,6947	-0,02927 0,1306
Mirístico	-0,1845 0,3472	-0,1048 0,5956	0,0548 0,7817	-0,1534 0,4359	-0,2494 0,2006
Palmitico	-0,1620 0,4101	0,0685 0,7292	0,2199 0,2609	0,0307 0,8769	-0,0693 0,7260
Oleico	-0,2929 0,1303	0,0752 0,7035	0,3151 0,1025	-0,0318 0,8724	-0,0853 0,6660
Acidez	0,1678 0,3935	0,0503 0,7993	-0,1077 0,5855	0,4172 0,0272	0,3087 0,1099
pH	0,2081 0,2880	0,0594 0,7639	-0,2002 0,3070	-0,3033 0,1167	0,0071 0,9714
Proteínas	0,1882 0,3376	0,2133 0,2758	-0,0317 0,8727	0,5212 0,0045	0,4493 0,0165
Grasas	0,0581 0,7689	0,1424 0,4698	-0,0146 0,9412	0,2288 0,2415	-0,0478 0,8090
Extracto seco	0,2447 0,2094	0,1733 0,3777	0,0081 0,9672	0,3175 0,0996	0,0575 0,7713
Cenizas	0,0424 0,8304	0,4339 0,0210	0,0231 0,9070	0,6412 0,0002	0,6380 0,003
Calcio	-	-0,1575 0,4234	-0,0290 0,8835	-0,2170 0,2674	0,0347 0,8608
Cobre	-0,1575 0,4234	-	0,2392 0,2203	0,2348 0,2291	0,1509 0,4433
Cromo	-0,0290 0,8835	0,2392 0,2203	-	0,0612 0,7569	-0,1355 0,4918
Fósforo	-0,2170 0,2674	0,2348 0,2291	0,0612 0,7569	-	0,6525 0,0002
Magnesio	0,0347 0,8608	0,1509 0,4433	-0,1355 0,4918	0,6525 0,0002	-
Manganeso	0,0752 0,7038	-0,0895 0,6505	-0,1089 0,5812	0,1177 0,5509	0,1336 0,4980
Selenio	0,3779 0,0474	0,0522 0,7919	-0,1378 0,4843	0,0102 0,9591	-0,1279 0,5167
Zinc	-0,2106 0,2821	-0,1607 0,4139	0,0152 0,9388	0,4579 0,0143	0,0726 0,7133

TABLA 67: Análisis de correlación (r) y niveles de significancia (p; entre paréntesis) correspondiente a los diferentes parámetros en las leches fermentadas analizadas (cont.)

	Manganeso	Selenio	Zinc
Butírico	-0,2832 0,1442	-0,1785 0,3633	0,3343 0,0821
Cáprico	-0,1742 0,3754	-0,3014 0,1191	0,4157 0,0278
Caprílico	-0,1565 0,4264	-0,3095 0,1091	0,3931 0,0385
Caproíco	-0,3213 0,0955	-0,3233 0,0933	0,5050 0,0061
Esteárico	-0,0925 0,6396	-0,0828 0,6754	0,1635 0,4057
Láurico	-0,0829 0,6751	-0,0791 0,6891	0,1912 0,3297
Mirístico	-0,3424 0,0745	-0,0620 0,7541	0,3171 0,1001
Palmítico	-0,0455 0,8183	-0,0092 0,9629	0,4279 0,0231
Oleico	-0,1441 0,4645	-0,1984 0,3116	0,2705 0,1639
Acidez	0,2794 0,1499	0,3214 0,0954	0,3578 0,0616
pH	0,0878 0,6570	0,2473 0,2046	0,1618 0,4108
Proteínas	0,1318 0,5038	0,6188 0,0004	0,3367 0,0797
Grasas	0,0760 0,7006	0,6017 0,0007	0,4900 0,0081
Extracto seco	0,4137 0,0287	0,5865 0,0010	0,0927 0,6390
Cenizas	0,2600 0,1815	0,1538 0,4347	0,2939 0,1290
Calcio	0,0752 0,7038	0,3779 0,0474	-0,2106 0,2821
Cobre	-0,0895 0,6505	0,0522 0,7919	-0,1607 0,4139
Cromo	-0,1089 0,5812	-0,1378 0,4843	0,0152 0,9388
Fósforo	0,1177 0,5509	0,0102 0,9591	0,4579 0,0143
Magnesio	0,1336 0,4980	-0,1279 0,5167	0,0726 0,7133
Manganeso	-	0,1509 0,4434	-0,1144 0,5622
Selenio	0,1509 0,4434	-	0,0722 0,7149
Zinc	-0,1144 0,5622	0,0722 0,7149	-

D. ANALISIS MULTIVARIANTE

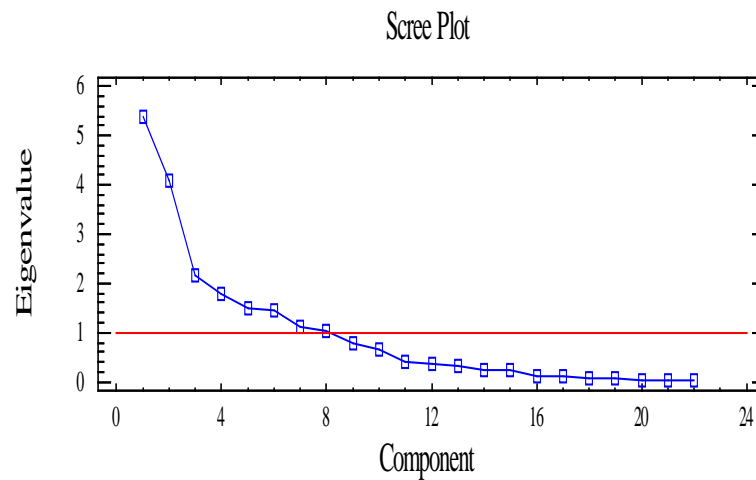
Al objeto de completar el estudio de caracterización de las leches fermentadas disponibles en el mercado de Granada, los resultados obtenidos se sometieron a un estudio estadístico del tipo ACP (Análisis de Componentes Principales) y AD (Análisis Discriminante), con el programa estadístico Statgraphics (v. 6.0); ambos estudios, encaminados a ayudar a la interpretación de datos multivariantes complejos, considerando a todas las observaciones como un único grupo e intentando dar a conocer qué variables son las que tienen más peso a fin de agrupar las observaciones en el mínimo número de grupos.

D.1. ANALISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES

El objeto de este análisis es reducir la dimensionalidad del espacio muestral con el fin de simplificar el problema, es decir, buscar combinaciones lineales de variables que expliquen la mayor proporción posible de la dispersión de los datos originales, pasando de un número (p) de variables originales a un número ($m < p$) de componentes principales, es decir que el número total de componentes principales sea menor al número total de variables originales. En este análisis solo se incluyeron aquellas variables que se determinaron en la totalidad de las muestras; por lo tanto fueron excluidas lactosa, galactosa, lactosa total, lactosa/galactosa, acetaldehído, ácido L-láctico, D-láctico y láctico total, ácido araquidónico y ácido linolénico.

Para fijar el número de componentes principales que se deben retener se utilizaron gráficos de sedimentación. El criterio consistió en retener todos aquellos componentes previos a la zona de sedimentación, es decir, aquellos que se encuentran por debajo del punto donde cambia de pendiente la línea del gráfico (Pérez C, 2002).

FIGURA 41. Gráfico de sedimentación de los componentes principales del estudio con las variables estudiadas de forma conjunta.



Previo a su realización, y mediante un análisis de correlación (Tabla 67), se eliminan aquellas variables con coeficiente de correlación superiores a 0.8, pues podrían influir de forma sobredimensionada en el análisis). En este caso solo se eliminan los ácidos grasos caprílico y cáprico ($r=0,9767$).

Una vez hecho esto, se han contemplado los siguientes casos:

- a) Considerar todas las variables estudiadas de forma conjunta.
- b) Considerar por separado los grupos de valores más significativos:
 - b.1) los parámetros fisicoquímicos,
 - b.2) los minerales
 - b.3) la composición en ácidos grasos
- c) Todas las posibles combinaciones de los grupos de valores.
 - c.1) minerales y fisicoquímicos
 - c.2) minerales y ácidos grasos
 - c.3) fisicoquímicos y ácidos grasos

Tras dichos estudios (Tabla 68), se observa como en el primero de los casos (a) se consigue explicar el 84,43% de la variabilidad mediante ocho componentes principales, un 78,15% mediante los 3 componentes principales derivados de los parámetros fisicoquímicos. Por el contrario, en los otros dos

casos restantes, b.2 y b.3 se consigue explicar el 67,567% y 67,95% respectivamente, mediante dos componentes principales en el primer caso y cuatro en el segundo.

Al estudiar todas las posibles combinaciones se consiguió en todos los casos explicar más del 70% de la variabilidad pero con un mayor número de componentes que cuando se consideraron cada uno de los grupos de determinaciones.

TABLA 68. Resumen del análisis de componentes principales

	Nº de componentes principales	% de varianzas que explican
a) Todas las variables (físicoquímicas + minerales + ácidos grasos)	8	84,43 %
b.1) Físico-químicas	3	78,157 %
b.2) Minerales	4	67,56 %
b.3) Ácidos grasos	2	67,95 %
c.1) Físicoquímicos + Minerales	6	76,417%
c.2) Físico-Químicos + Ácidos grasos	4	70,20 %
c.3) Minerales + Ácidos grasos	5	73,015%

A continuación se presentan los coeficientes de los componentes (tabla 69, tabla 70, tabla 71), centrándonos en los estudios de los casos en los que se explicó más del 75% de variabilidad (todas las variables, parámetros físico-químicos, la combinación de físicoquímicos y minerales).

TABLA 69. Análisis de componentes principales de todos los parámetros

Table of Component Weights

	Component 1	Component 2	Component 3	Component 4	Component 5	Component 6	Component 7	Component 8
ACIDEZ	-0,0586638	0,330793	-0,0811401	0,0767062	-0,266707	-0,0657806	-0,325697	-0,226023
BUTIRICO	0,272251	0,106187	0,0280448	-0,163005	-0,101507	-0,298321	-0,0582408	0,392855
CALCIO	-0,19182	-0,025148	-0,280915	-0,211668	-0,0177781	-0,0732148	-0,482509	-0,225101
CAPROICO	0,384232	0,176753	0,105923	-0,00622833	-0,0173618	0,0278206	0,101778	0,0884211
CENIZAS	-0,132308	0,36205	0,202196	0,0368059	0,224889	-0,0933758	-0,139597	0,176367
COBRE	-0,0492839	0,136796	0,188349	-0,024065	0,380441	0,412661	-0,13461	0,419628
CROMO	0,0801378	0,0269561	0,0966568	0,0390407	0,207213	0,58345	-0,129275	-0,306528
ESTEARICO	0,32091	0,0631829	-0,195988	0,0679186	0,0280988	-0,143406	-0,305925	0,121213
EXTOSECO	-0,196849	0,215052	-0,211117	0,114618	-0,262846	0,232028	-0,0315803	0,412107
FOSFORO	-0,0635275	0,360417	0,352544	0,0700346	-0,139414	-0,0127587	0,111604	0,0182789
GRASA	-0,070757	0,338308	-0,316572	-0,0397159	0,0437174	0,123188	0,288952	-0,00406819
LAURICO	0,287442	0,0286807	-0,118562	0,0793877	-0,120613	0,186136	0,106344	0,0488001
LINOLEICO	0,0620186	-0,109527	-0,0541633	0,660707	0,0979649	-0,0789882	0,100701	0,0182308
MAGNESIO	-0,141816	0,22195	0,421907	-0,044661	0,0128511	-0,253425	-0,235286	-0,0725599
MANGANESO	-0,152268	0,0531861	-0,0912239	0,632584	-0,0720348	-0,101307	-0,188682	0,0582498
MIRISTICO	0,36762	0,100389	-0,175004	-0,131227	0,0109566	-0,0676808	-0,121731	0,117012
OLEICO	0,356968	0,13012	-0,0169349	0,0758118	0,0515424	0,124339	-0,284956	-0,0855226
PALMITICO	0,250546	0,164404	-0,0922034	0,118298	0,437252	-0,101504	-0,0195738	-0,294897
pH	-0,144962	-0,0984776	-0,154854	-0,0310814	0,57622	-0,336194	0,0759203	0,166582
PROTEINA	-0,192707	0,363369	-0,0896771	-0,0502881	0,160845	-0,0245682	0,0906929	-0,173643
SELENIO	-0,174784	0,193062	-0,483002	-0,0977833	0,0472244	0,0725807	0,0257153	0,0996919
ZINC	0,130643	0,323047	-0,0355539	0,000583166	-0,0698347	-0,163602	0,423131	-0,250758

The StatAdvisor

 This table shows the equations of the principal components. For example, the first principal component has the equation

$$\begin{aligned}
 & - 0,0586638*ACIDEZ + 0,272251*BUTIRICO - 0,19182*CALCIO + \\
 & 0,384232*CAPROICO - 0,132308*CENIZAS - 0,0492839*COBRE + \\
 & 0,0801378*CROMO + 0,32091*ESTEARICO - 0,196849*EXTOSECO - \\
 & 0,0635275*FOSFORO - 0,070757*GRASA + 0,287442*LAURICO + \\
 & 0,0620186*LINOLEICO - 0,141816*MAGNESIO - 0,152268*MANGANESO + \\
 & 0,36762*MIRISTICO + 0,356968*OLEICO + 0,250546*PALMITICO - 0,144962*pH \\
 & - 0,192707*PROTEINA - 0,174784*SELENIO + 0,130643*ZINC
 \end{aligned}$$

where the values of the variables in the equation are standardized by subtracting their means and dividing by their standard deviations.

TABLA 70. Análisis de los componentes principales de los parámetros físico-químicos

Parámetro	Componente 1	Componente 2	Componente 3
Acidez	0,54335	0,305884	-0,374401
Cenizas	0,622413	0,0169312	-0,0194096
Extracto seco	-0,045179	0,666815	0,197627
Grasas	-0,290513	0,582956	0,270474
pH	0,165125	-0,308281	0,772046
Proteínas	0,451296	0,16319	0,38888

Esta tabla muestra las ecuaciones de los principales componentes. Por ejemplo, para el primer componente principal tiene la siguiente ecuación:

$$0,54335 \text{ acidez} + 0,622413 \text{ cenizas} - 0,045179 \text{ extracto seco} - 0,290513 \text{ grasas} + 0,165125 \text{ pH} + 0,451296 \text{ proteínas}$$

Donde los valores de las variables de la ecuación se encuentran estandarizados mediante la sustracción de sus medias y división por sus desviaciones estándar.

TABLA 71. Análisis de los componentes principales de los parámetros minerales y fisicoquímicos.

Table of Component Weights

	Component 1	Component 2	Component 3	Component 4	Component 5	Component 6
ACIDEZ	0,389831	-0,249675	0,181391	-0,266321	0,0205457	-0,174006
CENIZAS	0,390673	-0,3899	0,0986149	0,0345556	-0,149703	-0,136234
COBRE	0,246582	0,305404	-0,128385	0,0659666	-0,547003	0,262633
CROMO	-0,00710031	0,147473	-0,202746	0,096037	-0,610301	-0,602264
FOSFORO	0,290076	-0,16906	-0,420118	-0,229023	-0,0163221	0,158492
EXTOSECO	0,179247	0,307547	0,424091	-0,325431	-0,137051	0,22123
GRASA	0,165145	0,559703	0,0394165	-0,267042	0,125231	0,0414853
MAGNESIO	0,284361	-0,111054	-0,345831	0,174096	-0,00598674	0,497915
MANGANESO	0,167985	-0,331304	0,466656	-0,137948	-0,192762	0,026065
pH	0,116138	0,0075371	0,180447	0,623343	0,152353	-0,0311148
PROTEINA	0,454682	0,104195	-0,0839188	0,29419	0,0813448	-0,0646803
SELENIO	0,320992	0,311173	0,239549	0,262565	0,236574	-0,177608
ZINC	0,242213	0,0659495	-0,327911	-0,302079	0,384405	-0,397977

The StatAdvisor

This table shows the equations of the principal components. For example, the first principal component has the equation

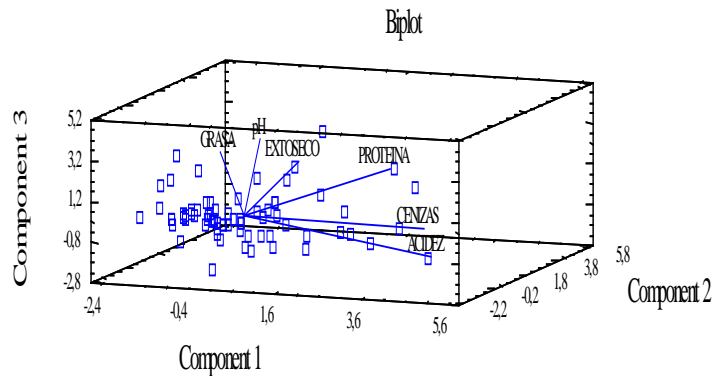
$$0,389831*ACIDEZ + 0,390673*CENIZAS + 0,246582*COBRE - 0,00710031*CROMO + 0,290076*FOSFORO + 0,179247*EXTOSECO + 0,165145*GRASA + 0,284361*MAGNESIO + 0,167985*MANGANESO + 0,116138*pH + 0,454682*PROTEINA + 0,320992*SELENIO + 0,242213*ZINC$$

where the values of the variables in the equation are standardized by subtracting their means and dividing by their standard deviations.

Del análisis de estos 3 casos, se observa que del análisis del grupo de las determinaciones fisicoquímicas se obtiene el mayor porcentaje de explicación de la varianza con el menor número de componentes.

Además, dicha gráfica (diagrama "BILOT" de l programa S tatgrafics), permite estudiar muestras y variables en el mismo sistema de referencia. Las observaciones se representan sobre el plano definido por los ejes que absorben la mayor parte de la variabilidad. Cuando los datos no están estandarizados, la longitud de los vectores se interpreta en términos de variabilidad, a demás se obtienen las contribuciones relativas de los elementos considerados a los distintos ejes (contribución positiva o negativa a los componentes principales). La distancia que separa dos observaciones se interpreta en términos de similitud: el ángulo que forman dos vectores entre sí, es inversamente proporcional a la

correlación entre ellos. Asimismo, quedan representadas las distintas muestras en el sistema de coordenadas de los componentes principales.



Dichos vectores (uno por cada variable), quedan reflejados (según su contribución a cada uno de los componentes principales), por la matriz con tantos términos como variables. Según la Figura, quedan representados en el plano definido por los ejes que absorben la mayor parte de variabilidad, los vectores correspondientes a las distintas variables (contribuciones relativas a los distintos ejes), así como la representación de las distintas muestras en dicho espacio.

Para el estudio correspondiente a los parámetros físicoquímicos, dicha matriz (ecuación lineal) aparece reflejada en la Tabla 71, en donde se observa, como es el contenido de cenizas el que presenta un mayor coeficiente (y por lo tanto mayor participación) sobre el componente 1, el extracto seco sobre el componente 2, y el pH sobre el componente 3.

D.2. ANALISIS DISCRIMINANTE

Es un procedimiento estadístico que identifica las variables que sirven para la diferenciación de grupos preestablecidos.

Para realizar esto, se intenta hacer una combinación lineal de las variables que expliquen la agrupación de las mismas. En cada caso de análisis se obtuvo un número de funciones discriminatorias que fueron evaluadas como satisfactorias cuando cumplían los siguientes criterios: significancia estadística

($p < 0,05$), correlación canónica ($> 0,90$) y porcentajes de clasificación correcta de las muestras de 100%

Se procedió a la realización de una función que diferenciara entre 1) los diferentes tipos de cultivos utilizados en la fermentación y 2) según el origen de acuerdo a los siguientes casos de análisis:

- a) Considerar todas las variables estudiadas de forma conjunta.
- b) Considerar por separado los grupos de valores más significativos:
 - b.1. los parámetros fisicoquímicos,
 - b.2. los minerales
 - b.3 la composición en ácidos grasos
- c) Todas las posibles combinaciones de los grupos de valores.
 - c.1. minerales y fisicoquímicos
 - c.2. minerales y ácidos grasos
 - c.3. fisicoquímicos y ácidos grasos

1) Según cultivo iniciador

En la tabla 72, se muestra un resumen del análisis discriminante según el tipo de cultivo iniciador en todos los casos estudiados.

TABLA 72. Resumen de los estadísticos del análisis discriminante según cultivo iniciador

Caso estudiado	Nº funciones discriminantes	Probabilidad (significancia $p < 0,05$)	Correlación canónica	% Clasificación	Satisfactorio
Todos los componentes	1	0,002*	0,991	100 %	Si
	2	0,327	0,936		
	3	0,702	0,828		
Físico-químicos	1	0,000*	0,7052	52,11 %	No
	2	0,125	0,408		
	3	0,509	0,222		
Minerales	1	0,153	0,576	54,72 %	No
	2	0,567	0,426		
	3	0,775	0,901		
Ácidos grasos	1	0,007*	0,726	72,97 %	No
	2	0,007*	0,714		
	3	0,202	0,497		
FQ + Min	1	0,184	0,766	54 %	No
	2	0,963	0,465		
	3	0,962	0,338		
AG + FQ	1	0,002*	0,910*	82,86 %	No
	2	0,4613	0,710		
	3	0,869	0,459		
Min + AG	1	0,071	0,933	96,67 %	No
	2	0,761	0,767		
	3	0,919	0,566		

Tras dichos estudios, se observa, como no se consiguen ecuaciones discriminatorias satisfactorias utilizando como elementos variables de dichas ecuaciones los análisis físico-químicos, de minerales, de ácidos grasos, de físico-químicos + minerales, minerales + ácidos grasos (significancia estadística $p < 0,05$, correlaciones canónicas inferiores a 0,9), y en ningún caso, se consigue un 100% total de clasificación tras la aplicación de dichas ecuaciones.

Por otro lado, se encuentran ecuaciones totalmente satisfactorias mediante la utilización de todos los valores obtenidos en la determinación de fisicoquímicos, minerales y ácidos grasos, consiguiendo un 100% de efectividad en la clasificación. También se encontraron ecuaciones significativas y con una correlación canónica superior a 0,9 al analizar los datos de ácidos grasos y fisicoquímicos, sin embargo el porcentaje de clasificación solo alcanzó el 82,86%. A continuación se muestran las funciones de clasificación de los casos mencionados en el párrafo anterior (tablas 73 y 74).

TABLA 73. Funciones de clasificación de las muestras según el tipo de cultivo iniciador incluyendo todos los parámetros

Discriminant Function Coefficients for TIPOLF

Standardized Coefficients

	1	2	3
ACIDEZ	-2,6093	1,42427	-1,2731
BUTIRICO	-0,521163	-5,03395	-1,01605
CALCIO	-0,304537	-0,139478	0,251583
CAPROICO	0,420888	11,8704	-0,110876
CENIZAS	0,38816	-0,25941	1,37059
COBRE	3,94588	-0,746296	0,207623
CROMO	1,59141	-1,5445	0,426534
ESTEARICO	3,07245	-1,04235	1,74421
EXTOSECO	2,51073	2,76015	-2,35977
FOSFORO	-7,31434	-1,06243	-0,138874
GRASA	-4,99991	-2,72725	1,06487
LAURICO	0,739284	-4,15274	0,41188
LINOLEICO	0,84289	-2,38317	0,862307
MAGNESIO	3,95553	-1,81649	1,31636
MANGANESO	1,20312	2,07619	-0,509498
MIRISTICO	-1,27516	1,32435	-1,51978
OLEICO	-2,9873	-5,26224	-0,120685
PALMITICO	-3,01328	1,5696	-1,00097
pH	-2,93662	0,824626	-1,57272
PROTEINA	-1,51216	-0,330131	-2,27097
SELENIO	3,63796	1,09565	2,92358
ZINC	5,20941	-1,56476	1,15263

Unstandardized Coefficients

	1	2	3
ACIDEZ	-19,3096	10,5401	-9,42135
BUTIRICO	-0,798764	-7,71531	-1,55726
CALCIO	-0,000754128	-0,000345391	0,000622998
CAPROICO	1,0727	30,2535	-0,282584
CENIZAS	3,37371	-2,25467	11,9125
COBRE	11,643	-2,20208	0,61263
CROMO	0,0534324	-0,0518576	0,0143211
ESTEARICO	1,50381	-0,51018	0,853704
EXTOSECO	0,693786	0,762709	-0,652071
FOSFORO	-0,0336161	-0,00488287	-0,000638253
GRASA	-2,46262	-1,34326	0,524486
LAURICO	0,656852	-3,6897	0,365954
LINOLEICO	0,427181	-1,2078	0,437022
MAGNESIO	0,180108	-0,0827109	0,0599383
MANGANESO	0,022907	0,03953	-0,00970066
MIRISTICO	-0,894837	0,929355	-1,0665
OLEICO	-1,03298	-1,81963	-0,0417316
PALMITICO	-0,561364	0,292411	-0,186478
pH	-13,9245	3,91011	-7,45733
PROTEINA	-2,37207	-0,517865	-3,56239
SELENIO	0,144713	0,0435832	0,116296
ZINC	3,73689	-1,12245	0,826822
CONSTANT	75,5097	-7,66301	39,8578

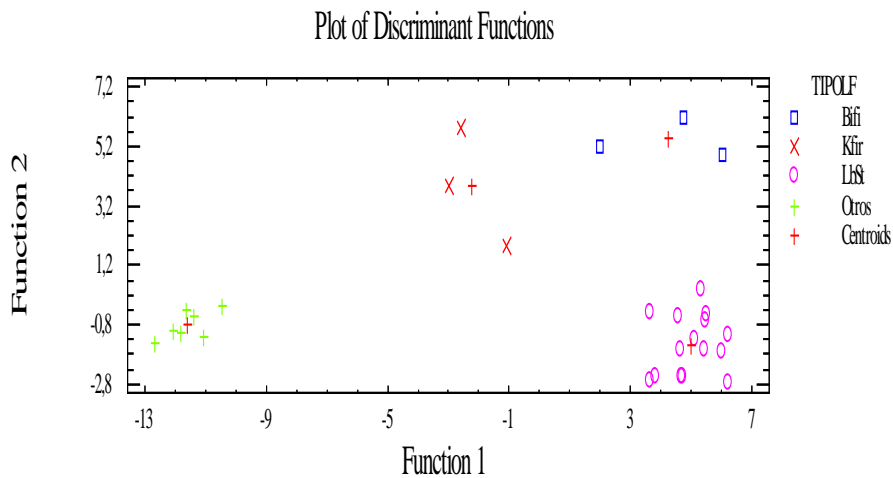
The StatAdvisor

This pane shows the coefficients of the functions used to discriminate amongst the different levels of TIPOLF. Of particular interest are the standardized coefficients. The first standardized discriminating function is

$$\begin{aligned}
 & -2,6093*ACIDEZ - 0,521163*BUTIRICO - 0,304537*CALCIO + \\
 & 0,420888*CAPROICO + 0,38816*CENIZAS + 3,94588*COBRE + 1,59141*CROMO + \\
 & 3,07245*ESTEARICO + 2,51073*EXTOSECO - 7,31434*FOSFORO - 4,99991*GRASA \\
 & + 0,739284*LAURICO + 0,84289*LINOLEICO + 3,95553*MAGNESIO + \\
 & 1,20312*MANGANESO - 1,27516*MIRISTICO - 2,9873*OLEICO - \\
 & 3,01328*PALMITICO - 2,93662*pH - 1,51216*PROTEINA + 3,63796*SELENIO + \\
 & 5,20941*ZINC
 \end{aligned}$$

From the relative magnitude of the coefficients in the above equation, you can determine how the independent variables are being used to discriminate amongst the groups.

FIGURA 42. Gráfica de funciones discriminantes para todos los compontes analizados



Las figuras 42, 43 y 44, pueden utilizarse para ayudar a determinar si las funciones separan los distintos grupos adecuadamente.

En la figura 42 puede observarse claramente diferenciados los distintos grupos estudiados cuando fueron incluidos todos los parámetros analizados; mientras que en las figuras 43 y 44 correspondientes a las funciones discriminantes para los parámetros fisicoquímicos y fisicoquímicos + ácidos grasos, no reflejan diferencias claras entre los distintos tipos de leches fermentadas analizadas.

TABLA 74. Funciones de clasificación de las muestras según el tipo de cultivo iniciador incluyendo los parámetros fisicoquímicos.

Discriminant Function Coefficients for TIPOLF

Standardized Coefficients

	1	2	3
GRASA	0,987292	-0,0322341	0,694228
CENIZAS	-0,0462552	-0,265233	-0,319185
EXTOSECO	-1,11433	0,694061	-0,011679
PROTEINA	0,770329	0,278746	-0,411959
pH	-0,403498	-0,0741636	-0,00309162
ACIDEZ	0,270678	0,571091	0,0215712

Unstandardized Coefficients

	1	2	3
GRASA	0,413709	-0,0135072	0,290905
CENIZAS	-0,279282	-1,60144	-1,9272
EXTOSECO	-0,314249	0,19573	-0,00329355
PROTEINA	1,15317	0,417277	-0,616694
pH	-2,07268	-0,380962	-0,0158809
ACIDEZ	1,68601	3,55722	0,134363
CONSTANT	6,28351	-4,84171	2,78639

The StatAdvisor

This pane shows the coefficients of the functions used to discriminate amongst the different levels of TIPOLF. Of particular interest are the standardized coefficients. The first standardized discriminating function is

$$0,987292*GRASA - 0,0462552*CENIZAS - 1,11433*EXTOSECO + 0,770329*PROTEINA - 0,403498*pH + 0,270678*ACIDEZ$$

From the relative magnitude of the coefficients in the above equation, you can determine how the independent variables are being used to discriminate amongst the groups.

FIGURA 43. Gráfica de funciones discriminantes para los parámetros físico-químicos

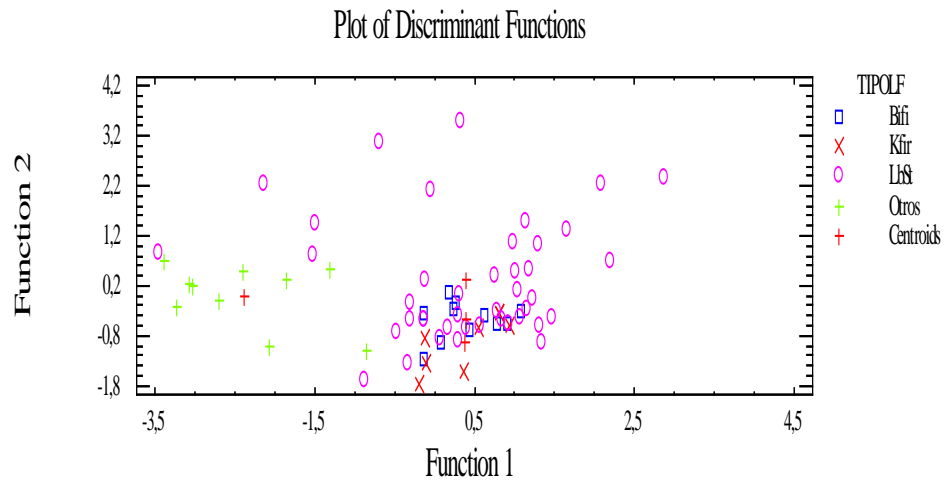


TABLA 75. Funciones de clasificación de las muestras según el tipo de cultivo iniciador incluyendo los parámetros físico-químicos y de ácidos grasos

Discriminant Function Coefficients for TIPOLF

Standardized Coefficients

	1	2	3
CAPROICO	0,423485	1,2832	0,277586
LAURICO	-0,348173	-0,556484	-0,277353
MIRISTICO	0,35012	0,791895	-0,215293
PALMITICO	0,662791	0,340748	-0,535291
ESTEARICO	-0,20836	-0,526447	-0,86548
OLEICO	-0,463254	-1,05801	1,76884
LINOLEICO	-0,091187	0,0739874	-0,135644
pH	-0,555132	0,484834	0,636806
ACIDEZ	0,382547	0,794556	0,0766628
GRASA	1,00861	-0,615464	-0,20968
PROTEINA	0,43651	-0,115427	-0,164847
EXTOSECO	-1,51126	0,694658	-0,109441
CENIZAS	0,385851	-0,35716	0,0158243

Unstandardized Coefficients

	1	2	3
CAPROICO	1,12036	3,39481	0,734375
LAURICO	-0,343936	-0,549713	-0,273978
MIRISTICO	0,250332	0,566198	-0,153933
PALMITICO	0,126953	0,0652679	-0,102531
ESTEARICO	-0,0966073	-0,24409	-0,401284
OLEICO	-0,161675	-0,369243	0,61732
LINOLEICO	-0,0522669	0,0424084	-0,0777488
pH	-2,82921	2,47094	3,24545
ACIDEZ	3,10021	6,43919	0,621286
GRASA	0,528528	-0,322514	-0,109876
PROTEINA	0,734014	-0,194096	-0,277199
EXTOSECO	-0,46482	0,213657	-0,0336611
CENIZAS	3,72362	-3,44674	0,152712
CONSTANT	7,08792	-15,0054	-14,4708

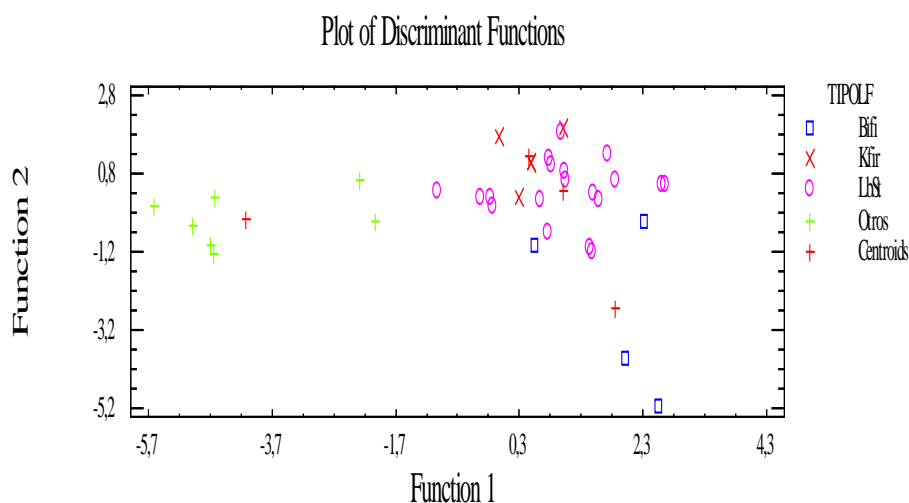
The StatAdvisor

This pane shows the coefficients of the functions used to discriminate amongst the different levels of TIPOLF. Of particular interest are the standardized coefficients. The first standardized discriminating function is

$$0,423485 * \text{CAPROICO} - 0,348173 * \text{LAURICO} + 0,35012 * \text{MIRISTICO} + 0,662791 * \text{PALMITICO} - 0,20836 * \text{ESTEARICO} - 0,463254 * \text{OLEICO} - 0,091187 * \text{LINOLEICO} - 0,555132 * \text{pH} + 0,382547 * \text{ACIDEZ} + 1,00861 * \text{GRASA} + 0,43651 * \text{PROTEINA} - 1,51126 * \text{EXTOSECO} + 0,385851 * \text{CENIZAS}$$

From the relative magnitude of the coefficients in the above equation, you can determine how the independent variables are being used to discriminate amongst the groups.

FIGURA 44. Gráfica de funciones discriminantes para los parámetros físico-químicos y de ácidos grasos



2) Según el tipo de leche (cabra/vaca)

En la tabla 76 se muestra un resumen del análisis discriminante según el tipo de leche en todos los casos estudiados.

TABLA 76. Resumen de los estadísticos del análisis discriminante según el tipo de leche

Caso estudiado	Nº func. discriminantes	Probabilidad (significancia $p < 0,05$)	Correlación canónica	% Clasificación	Satisfactorio
Todos los componentes	1	0,0004*	0,983	100 %	Si
Físico-químicos	1	0,0001	0,5863	88,73 %	No
Minerales	1	0,000	0,764	92,45 %	No
Ácidos grasos	1	0,000	0,964	100 %	Si
FQ + Min	1	0,0001	0,799	96	No
AG + FQ	1	0,0000	0,974	100	Si
Min + AG	1	0,000	0,976	100	Si

Tras dichos estudios, se observa, como no se consiguen ecuaciones discriminatorias satisfactorias utilizando como elementos variables de dichas ecuaciones los análisis fisicoquímicos, de minerales, de fisicoquímicos + minerales (significancia estadística $p < 0,05$, correlaciones canónicas inferiores a 0,9), y en ninguno de estos casos, se consigue un 100% total de clasificación tras la aplicación de dichas ecuaciones.

Por otro lado, se encuentran ecuaciones totalmente satisfactorias mediante la utilización de la totalidad de los valores obtenidos en la determinación de todos los componentes, ácidos grasos, minerales + ácidos grasos, y ácidos grasos + fisicoquímicos, consiguiendo un 100% de efectividad en la clasificación.

En las Tablas 77, 78, 79 y 80, se muestran las fórmulas de las funciones que permiten clasificar las leches fermentadas según el tipo de leche.

TABLA 77. Funciones de clasificación de las muestras según el tipo de leche incluyendo todos los parámetros

Discriminant Function Coefficients for TIPLECHE

Standardized Coefficients

	1
BUTIRICO	-2,92237
CAPROICO	6,02135
LAURICO	0,993272
MIRISTICO	-4,59716
PALMITICO	-0,920983
ESTEARICO	0,177794
OLEICO	0,942393
LINOLEICO	0,394703
pH	0,336578
ACIDEZ	0,374502
GRASA	1,62554
PROTEINA	-1,09822
EXTOSECO	-1,11507
CENIZAS	-0,666752
CALCIO	0,0159035
FOSFORO	-0,333425
MAGNESIO	1,23595
SELENIO	0,677036
ZINC	0,0389498
MANGANESO	-0,390526
COBRE	0,414614
CROMO	0,601869

Unstandardized Coefficients

	1
BUTIRICO	-3,99533
CAPROICO	18,4141
LAURICO	1,07192
MIRISTICO	-3,07479
PALMITICO	-0,150637
ESTEARICO	0,0899426
OLEICO	0,353952
LINOLEICO	0,207075
pH	1,80027
ACIDEZ	2,65684
GRASA	0,721715
PROTEINA	-1,57529
EXTOSECO	-0,299265
CENIZAS	-5,64086
CALCIO	0,0000484163
FOSFORO	-0,00151381
MAGNESIO	0,0550537
SELENIO	0,0285566
ZINC	0,0267564
MANGANESO	-0,00764193
COBRE	1,30908
CROMO	0,0220505
CONSTANT	-4,42268

The StatAdvisor

This pane shows the coefficients of the functions used to discriminate amongst the different levels of TIPLECHE. Of particular interest are the standardized coefficients. The first standardized discriminating function is

$$\begin{aligned}
 & -2,92237 \cdot \text{BUTIRICO} + 6,02135 \cdot \text{CAPROICO} + 0,993272 \cdot \text{LAURICO} - \\
 & 4,59716 \cdot \text{MIRISTICO} - 0,920983 \cdot \text{PALMITICO} + 0,177794 \cdot \text{ESTEARICO} + \\
 & 0,942393 \cdot \text{OLEICO} + 0,394703 \cdot \text{LINOLEICO} + 0,336578 \cdot \text{pH} + 0,374502 \cdot \text{ACIDEZ} + \\
 & 1,62554 \cdot \text{GRASA} - 1,09822 \cdot \text{PROTEINA} - 1,11507 \cdot \text{EXTOSECO} - 0,666752 \cdot \text{CENIZAS} \\
 & + 0,0159035 \cdot \text{CALCIO} - 0,333425 \cdot \text{FOSFORO} + 1,23595 \cdot \text{MAGNESIO} + \\
 & 0,677036 \cdot \text{SELENIO} + 0,0389498 \cdot \text{ZINC} - 0,390526 \cdot \text{MANGANESO} + \\
 & 0,414614 \cdot \text{COBRE} + 0,601869 \cdot \text{CROMO}
 \end{aligned}$$

From the relative magnitude of the coefficients in the above equation, you can determine how the independent variables are being used to discriminate amongst the groups.

TABLA 78. Funciones de clasificación de las muestras según el tipo de leche incluyendo solo los valores de ácidos grasos

Discriminant Function Coefficients for TIPLECHE

Standardized Coefficients

```
-----
                1
BUTIRICO      -2,87836
CAPROICO      3,72347
LAURICO       0,324328
MIRISTICO    -2,38933
PALMITICO    -0,112937
ESTEARICO    0,620481
OLEICO       0,848627
LINOLEICO    -0,345966
-----
```

Unstandardized Coefficients

```
-----
                1
BUTIRICO      -3,76564
CAPROICO     11,3971
LAURICO       0,394576
MIRISTICO    -1,73684
PALMITICO    -0,0200889
ESTEARICO    0,306516
OLEICO       0,334969
LINOLEICO    -0,208187
CONSTANT     -2,682
-----
```

The StatAdvisor

 This pane shows the coefficients of the functions used to discriminate amongst the different levels of TIPLECHE. Of particular interest are the standardized coefficients. The first standardized discriminating function is

$$-2,87836 \cdot \text{BUTIRICO} + 3,72347 \cdot \text{CAPROICO} + 0,324328 \cdot \text{LAURICO} - 2,38933 \cdot \text{MIRISTICO} - 0,112937 \cdot \text{PALMITICO} + 0,620481 \cdot \text{ESTEARICO} + 0,848627 \cdot \text{OLEICO} - 0,345966 \cdot \text{LINOLEICO}$$

From the relative magnitude of the coefficients in the above equation, you can determine how the independent variables are being used to discriminate amongst the groups.

TABLA 79. Funciones de clasificación de las muestras según el tipo de leche incluyendo solo los valores de ácidos grasos + físico-químicos

Discriminant Function Coefficients for TIPLECHE

Standardized Coefficients

	1
BUTIRICO	2,57277
CAPROICO	-3,54497
pH	0,0410519
ACIDEZ	0,446353
GRASA	-0,829945
PROTEINA	0,0560131
EXTOSECO	0,590362
CENIZAS	-0,0499704
LAURICO	-0,630138
MIRISTICO	3,24631
PALMITICO	0,432094
ESTEARICO	-0,684256
OLEICO	-1,57886
LINOLEICO	0,303808

Unstandardized Coefficients

	1
BUTIRICO	3,28055
CAPROICO	-10,5943
pH	0,235369
ACIDEZ	3,46831
GRASA	-0,404715
PROTEINA	0,0883298
EXTOSECO	0,17495
CENIZAS	-0,472659
LAURICO	-0,746362
MIRISTICO	2,30098
PALMITICO	0,0749352
ESTEARICO	-0,334325
OLEICO	-0,614339
LINOLEICO	0,178105
CONSTANT	-1,97441

The StatAdvisor

This pane shows the coefficients of the functions used to discriminate amongst the different levels of TIPLECHE. Of particular interest are the standardized coefficients. The first standardized discriminating function is

$$2,57277*BTIRICO - 3,54497*CAPROICO + 0,0410519*pH + 0,446353*ACIDEZ - 0,829945*GRASA + 0,0560131*PROTEINA + 0,590362*EXTOSECO - 0,0499704*CENIZAS - 0,630138*LAURICO + 3,24631*MIRISTICO + 0,432094*PALMITICO - 0,684256*ESTEARICO - 1,57886*OLEICO + 0,303808*LINOLEICO$$

From the relative magnitude of the coefficients in the above equation, you can determine how the independent variables are being used to discriminate amongst the groups.

Tabla 80. Funciones de clasificación de las muestras según el tipo de leche incluyendo solo los valores de minerales y ácidos grasos

Discriminant Function Coefficients for TIPLECHE

Standardized Coefficients

```
-----
                        1
BUTIRICO                -3,16267
CAPROICO                 5,84817
LAURICO                  0,344668
MIRISTICO                -3,70114
PALMITICO                -0,315413
ESTEARICO                 0,18087
OLEICO                   0,565814
LINOLEICO                -0,189416
CALCIO                   -0,114589
FOSFORO                  -0,943245
MAGNESIO                 0,378433
SELENIO                  0,300495
ZINC                     0,169596
MANGANESO                -0,162418
COBRE                    0,136387
CROMO                    0,125476
-----
```

Unstandardized Coefficients

```
-----
                        1
BUTIRICO                -4,46201
CAPROICO                 18,4215
LAURICO                  0,384985
MIRISTICO                -2,55715
PALMITICO                -0,0532639
ESTEARICO                 0,0925866
OLEICO                   0,216735
LINOLEICO                -0,10275
CALCIO                   -0,000355999
FOSFORO                  -0,00431477
MAGNESIO                 0,0174464
SELENIO                  0,012673
ZINC                     0,119143
MANGANESO                -0,00329698
COBRE                    0,44527
CROMO                    0,00471363
CONSTANT                 1,26285
-----
```

The StatAdvisor

This pane shows the coefficients of the functions used to discriminate amongst the different levels of TIPLECHE. Of particular interest are the standardized coefficients. The first standardized discriminating function is

$$\begin{aligned}
 & -3,16267 \cdot \text{BUTIRICO} + 5,84817 \cdot \text{CAPROICO} + 0,344668 \cdot \text{LAURICO} - \\
 & 3,70114 \cdot \text{MIRISTICO} - 0,315413 \cdot \text{PALMITICO} + 0,18087 \cdot \text{ESTEARICO} + \\
 & 0,565814 \cdot \text{OLEICO} - 0,189416 \cdot \text{LINOLEICO} - 0,114589 \cdot \text{CALCIO} - \\
 & 0,943245 \cdot \text{FOSFORO} + 0,378433 \cdot \text{MAGNESIO} + 0,300495 \cdot \text{SELENIO} + \\
 & 0,169596 \cdot \text{ZINC} - 0,162418 \cdot \text{MANGANESO} + 0,136387 \cdot \text{COBRE} + 0,125476 \cdot \text{CROMO}
 \end{aligned}$$

From the relative magnitude of the coefficients in the above equation, you can determine how the independent variables are being used to discriminate amongst the groups.

Tabla 81. Funciones de clasificación de las muestras según el tipo de leche incluyendo todos los componentes

Discriminant Function Coefficients for TIPLECHE

Standardized Coefficients

	1
BUTIRICO	-2,92237
CAPROICO	6,02135
LAURICO	0,993272
MIRISTICO	-4,59716
PALMITICO	-0,920983
ESTEARICO	0,177794
OLEICO	0,942393
LINOLEICO	0,394703
pH	0,336578
ACIDEZ	0,374502
GRASA	1,62554
PROTEINA	-1,09822
EXTOSECO	-1,11507
CENIZAS	-0,666752
CALCIO	0,0159035
FOSFORO	-0,333425
MAGNESIO	1,23595
SELENIO	0,677036
ZINC	0,0389498
MANGANESO	-0,390526
COBRE	0,414614
CROMO	0,601869

Unstandardized Coefficients

	1
BUTIRICO	-3,99533
CAPROICO	18,4141
LAURICO	1,07192
MIRISTICO	-3,07479
PALMITICO	-0,150637
ESTEARICO	0,0899426
OLEICO	0,353952
LINOLEICO	0,207075
pH	1,80027
ACIDEZ	2,65684
GRASA	0,721715
PROTEINA	-1,57529
EXTOSECO	-0,299265
CENIZAS	-5,64086
CALCIO	0,0000484163
FOSFORO	-0,00151381
MAGNESIO	0,0550537
SELENIO	0,0285566
ZINC	0,0267564
MANGANESO	-0,00764193
COBRE	1,30908
CROMO	0,0220505
CONSTANT	-4,42268

The StatAdvisor

This pane shows the coefficients of the functions used to discriminate amongst the different levels of TIPLECHE. Of particular interest are the standardized coefficients. The first standardized discriminating function is

$$\begin{aligned}
 & -2,92237 \cdot \text{BUTIRICO} + 6,02135 \cdot \text{CAPROICO} + 0,993272 \cdot \text{LAURICO} - \\
 & 4,59716 \cdot \text{MIRISTICO} - 0,920983 \cdot \text{PALMITICO} + 0,177794 \cdot \text{ESTEARICO} + \\
 & 0,942393 \cdot \text{OLEICO} + 0,394703 \cdot \text{LINOLEICO} + 0,336578 \cdot \text{pH} + 0,374502 \cdot \text{ACIDEZ} + \\
 & 1,62554 \cdot \text{GRASA} - 1,09822 \cdot \text{PROTEINA} - 1,11507 \cdot \text{EXTOSECO} - 0,666752 \cdot \text{CENIZAS} \\
 & + 0,0159035 \cdot \text{CALCIO} - 0,333425 \cdot \text{FOSFORO} + 1,23595 \cdot \text{MAGNESIO} + \\
 & 0,677036 \cdot \text{SELENIO} + 0,0389498 \cdot \text{ZINC} - 0,390526 \cdot \text{MANGANESO} + \\
 & 0,414614 \cdot \text{COBRE} + 0,601869 \cdot \text{CROMO}
 \end{aligned}$$

From the relative magnitude of the coefficients in the above equation, you can determine how the independent variables are being used to discriminate amongst the groups.

TABLA 82. Funciones de clasificación de las muestras según el tipo de leche incluyendo solo los valores de ácidos grasos y físico-químicos.

Discriminant Function Coefficients for TIPLECHE

Standardized Coefficients

	1
BUTIRICO	2,57277
CAPROICO	-3,54497
pH	0,0410519
ACIDEZ	0,446353
GRASA	-0,829945
PROTEINA	0,0560131
EXTOSECO	0,590362
CENIZAS	-0,0499704
LAURICO	-0,630138
MIRISTICO	3,24631
PALMITICO	0,432094
ESTEARICO	-0,684256
OLEICO	-1,57886
LINOLEICO	0,303808

Unstandardized Coefficients

	1
BUTIRICO	3,28055
CAPROICO	-10,5943
pH	0,235369
ACIDEZ	3,46831
GRASA	-0,404715
PROTEINA	0,0883298
EXTOSECO	0,17495
CENIZAS	-0,472659
LAURICO	-0,746362
MIRISTICO	2,30098
PALMITICO	0,0749352
ESTEARICO	-0,334325
OLEICO	-0,614339
LINOLEICO	0,178105
CONSTANT	-1,97441

The StatAdvisor

This pane shows the coefficients of the functions used to discriminate amongst the different levels of TIPLECHE. Of particular interest are the standardized coefficients. The first standardized discriminating function is

$$2,57277*BTIRICO - 3,54497*CAPROICO + 0,0410519*pH + 0,446353*ACIDEZ - 0,829945*GRASA + 0,0560131*PROTEINA + 0,590362*EXTOSECO - 0,0499704*CENIZAS - 0,630138*LAURICO + 3,24631*MIRISTICO + 0,432094*PALMITICO - 0,684256*ESTEARICO - 1,57886*OLEICO + 0,303808*LINOLEICO$$

From the relative magnitude of the coefficients in the above equation, you can determine how the independent variables are being used to discriminate amongst the groups.

Tabla 83. Análisis de la varianza por métodos paramétrico y no paramétrico de todos los parámetros analizados en relación al tipo de leche fermentada de cabra (artesanal y comercial) (valores de significancia)

Variable	Test de Kolmogorov-Smirnof	Test de Barlett	ANOVA	Test de Kruskal-Wallis	Estudio Significativo ($p < 0,05$)
pH	0,174	0,012	-	0,593	No
Acidez	0,267	0,003	-	0,135	No
Proteínas	0,969	0,464	0,334	-	No
Grasas	0,673	0,830	0,002	-	Si
Extracto seco	0,095	0,824	0,520	-	No
Cenizas	0,905	0,454	0,003	-	Si
Lactosa	0,942	-	-	-	No
Galactosa	0,879	-	-	-	No
Lactosa/galactosa	0,519	-	-	-	No
D-láctico	0,186	-	-	-	No
L-láctico	0,990	-	-	-	No
Láctico total	0,981	-	-	-	No
Acetaldehído	0,469	-	-	-	No
Calcio	0,397	0,162	0,014	-	Si
Cobre	0,627	0,867	0,760	-	No
Cromo	0,698	0,564	0,970	-	No
Magnesio	0,152	0,000	-	0,121	No

Tabla 83. Análisis de la varianza por métodos paramétrico y no paramétrico de todos los parámetros analizados en relación al tipo de leche fermentada de cabra (artesanal y comercial) (valores de significancia) (cont.)

Variable	Test de Kolmogorov-Smirnof	Test de Barlett	ANOVA	Test de Kruskal-Wallis	Estudio Significativo (p<0,05)
Manganeso	0,687	0,134	0,044	-	No
Selenio	0,702	0,319	0,701	-	No
Fósforo	0,409	0,253	0,013	-	No
Zinc	0,107	0,024	-	0,076	No
Butírico	0,638	0,190	0,272	-	No
Caproíco	0,813	0,518	0,065	-	No
Caprílico	0,761	0,657	0,251	-	No
Cáprico	0,755	0,054	0,529	-	No
Láurico	0,823	0,069	0,114	-	No
Mirístico	0,944	0,339	0,507	-	No
Palmítico	0,949	0,026	-	0,571	No
Esteárico	0,919	0,356	0,212	-	No
Oleico	0,549	0,968	0,242	-	No
Linoléico	0,800	0,758	0,002	-	Si
Linolénico	0,972	-	-	-	No
Araquidónico	0,930	-	-	-	No