

UNIVERSITAT MIGUEL HERNÁNDEZ D'ELX
ESCOLA POLITÈCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA
GRAU EN CIÈNCIA I TECNOLOGIA DELS ALIMENTS



**“Efecte de la fermentació de llet de cabra amb
diferents bactèries làctiques en les característiques de
les llet fermentades”**

TREBALL DE FI DE GRAU

Gener 2018

Autora: Almudena Martínez Perales

Tutora: Esther Sendra Nadal

Títol: Efecte de la fermentació de llet de cabra amb diferents bactèries làctiques en les característiques de les llet fermentades

Resum

Es va realitzar un estudi de l'efecte de diferents bactèries làctiques amb potencial probiòtic en la fermentació de llet de cabra de la raça Murciano-Granadina per tal de seleccionar aquells que donaren lloc a una llet fermentada amb millors propietats beneficioses. La llet es va fermentar en cadascun dels cultius assajats i els anàlisis es feren a les 48h després de la inoculació, moment en que es varen determinar l'evolució del pH durant la fermentació, els recomptes microbiològics, estabilitat del gel, la composició general de la llet i xerigot, el perfil d'àcids grassos, el de compostos volàtils, i els d'àcids orgànics i sucres. Els paràmetres que més es diferenciaren entre cultius foren els recomptes de bacteris làctics, l'estabilitat del gel, i els perfils de volàtils, mentre que el perfil d'àcids grassos no es va veure afectat pels cultius emprats. Els paràmetres estudiats ens permeteren seleccionar cultius i soques amb bona capacitat de creixement en llet de cabra.

Paraules clau: Llet de cabra, fermentació, àcids grassos totals, volàtils, bacteris làctics

Title: Effect of the fermentation of goat milk with different species of lactic acid bacteria on fermented milk quality

Abstract

Different potential probiotic lactic bacteria were evaluated for the fermentation of goat's milk (Murciano-Granadina breed) in order to select those that gave rise to fermented milk with the best beneficial properties. The milk was fermented by each one of the cultures tested and the analyses were done 48h after inoculation. Acidification during fermentation was assessed; on fermented milk the following parameters were determined: microbial counts, gel stability, overall milk composition, fatty acids profile, volatile compounds, and organic acids and sugars profiles. The parameters that were most affected by the cultures were bacterial counts, gel stability, and volatile profiles, while the fatty acid profile was not affected by the lactic acid bacteria. The parameters studied allow us to select cultures and strains with good fermentation ability in goat's milk.

Key word: Goat's milk, fermentation, totals fatty acid, volatiles, lactic acid bacteria

INDEX

1 INTRODUCCIÓ	5
1.1 El sector lacti	5
1.2 Productes lactis fermentats: probiòtics	7
1.3 Perfil de volàtils.....	8
1.4 Perfil d'àcids grassos presents en la llet de cabra	9
2. OBJECTIUS	11
3. MATERIALS I MÈTODES	12
3.1 Planificació de l'experiment i planificació del treball.....	12
3.2 Soques de bacteris lactis i cultius làctics	13
3.3 Llet de cabra i pasteurització.....	14
3.4 Fermentació de la llet: condicions i corba d'acidificació	14
3.5 Composició de llet i llet fermentada	15
3.6 Recòmptes de bacteris lactis	15
3.7 Estabilitat dels gel	15
3.7.1 Aptitud a l'extracció del xerigot	15
3.7.2 pH	16
3.7.3 Composició del xerigot	16
3.8 Perfil d'àcids orgànics i sucres	16
3.9 Perfil d'àcids grassos total	17
3.10 Perfil compostos volàtils.....	18
3.11 Anàlisi estadístic de les dades	18
4 RESULTATS I DISCUSSIONS	19
4.1 Corba d'acidificació	19
4.2 Composició de la llet i la llet fermentada	20
4.3 Microbiologia, dessuerat i pH	23
4.4 Compostos volàtils.....	25
4.5 Àcids grassos totals	36
4.6 Àcids orgànics i sucres	39
5. CONCLUSIONS	41
6. BIBLIOGRAFÍA	42

1 INTRODUCCIÓ

1.1 El sector lacti

El sector lacti és un dels sectors més importants en Espanya. Les explotacions de ramaderies del sector lacti es troben concentrades en distints territoris en funció del tipus de llet:

- Llet de vaca: Galicia, Astúries, Cantabria, Castella i Lleó, País Basc i Andalusia.
- Llet d'ovella: Castella i Lleó i Castella- La Manxa.
- Llet de cabra: Andalusia, Castella- La Manxa i Extremadura.

La quantitat de la llet de total que es produeix en Espanya es mostra a la Taula 1, on es representa que la llet líquida més venuda és la de vaca, i la menys venuda és la de cabra, tot i això, es pot considerar un producte nou ja que fa pocs anys que es troba a disposició del consumidor en supermercats, i la seua demanda va en augment. Segons les dades del Sistema de Declaracions del Sector Lacti (INFOLAC) al 2015, la producció de llet de cabra va augmentar un 23% respecte al 2014. I al 2015, la producció va augmentar un 10 % les entregues de la llet de cabra en Espanya (Figura 1).

Taula 1: Tones de llet en 2016

Tipus	Volum
Vaca	6.886.386
Ovella	495.713
Cabra	459.974
Total	8.878.073

Font: MAPAMA (2017)

El consum de llet i productes lactis ha anat disminuint des de 2010 fins 2016.(MAPAMA), però no deixa de ser un dels grups d'aliments que més es consumeixen.

Taula 2: Consum de productes lactis per llar. Font MAPAMA

Any	Tones
2010	5.245,971
2011	5.169,108
2012	5.166,172
2013	5.128,203
2014	5.018,876
2015	5.019,754
2016	4.924,307

Font: MAPAMA (2017)

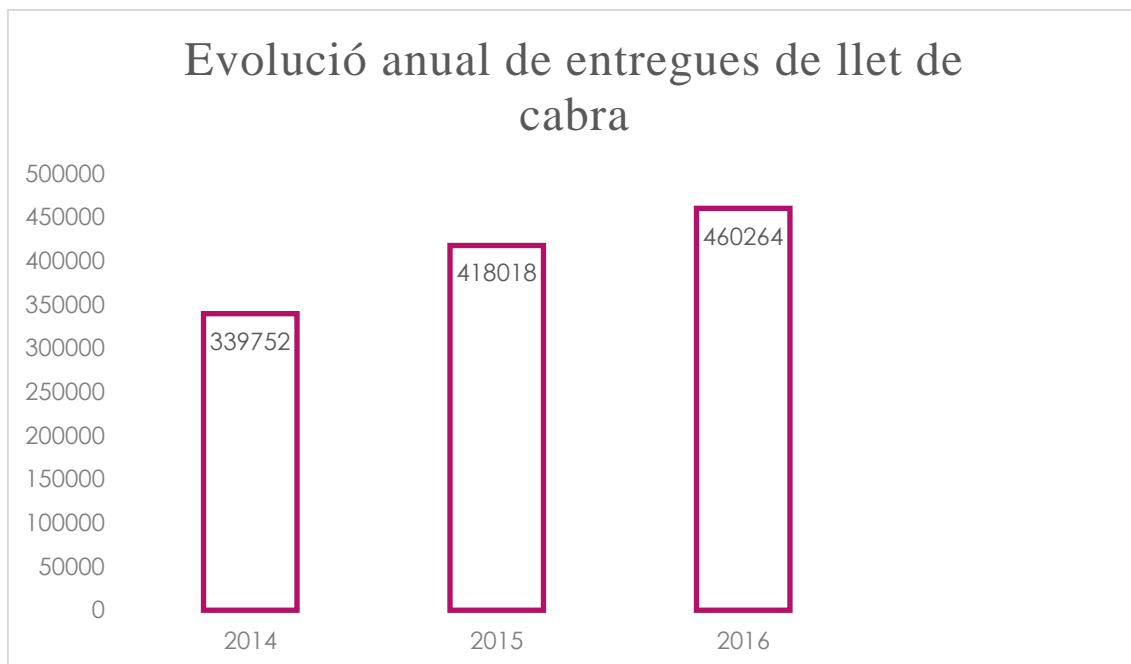


Figura 1: Evolució anual d'entregues de llet de cabra (mils de litres). Font: MAPAMA (2017)

Les dades del MAPAMA indiquen que els consumidors adquireixen, ordenat de major a menor quantitat, en primer lloc llet líquida, seguida de iogurt i llets fermentades, i formatge.

Taula 3: Enquesta làctica anual de producció i destí de totes les classes de llet en Espanya en 1000tones

Producte	2016
Llet líquida	3.405,8
Iogurt i Llets fermentades.	822,9
Formatge	461,0
Nata	107,4
Mantega	42,1

Font: MAPAMA (2017)

Tot i que la llet de cabra és la menys consumida, des del 2012 està sofrint un augment en la demanda. La llet de cabra es destina principalment a l'elaboració de formatges (MAPAMA, 2017). Les llets fermentades, formen part d'una oferta de producte alternativa a la llet líquida i al formatge, i permet augmentar l'oferta de productes que procedeixen de la llet de cabra. El creixent nombre d'al·lèrgies a la llet de vaca és un dels factors que permet augmentar la demanda de productes de llet de cabra que són, a

més, més fàcilment digeribles donada l'estructura de les proteïnes i el menor tamany dels glòbuls de greix de cabra.

La composició dels diferents tipus de llet es presenta a la Taula 4 on es mostra que la llet de cabra té uns valors quantitativament semblants a la llet de vaca. Aquests valors es veuen afectats, no sols pel tipus d'animal, sinó també per la raça, a l'estat de lactació, la zona geogràfica, etc. (Park, Juárez, Ramos & Haenlein, 2007; Salvador & Martínez, 2007; Martínez-García, Villejas-Aparicio, Fuentes-Mascorro, Perez-León & Jerez-Salas, 2014).

Taula 4: Composició de la llet de vaca i de cabra. Greix, Hidrats de carboni, proteïnes i aigua

Component (%)	Vaca	Cabra
Greix	3,6	3,9
Hidrats de carboni	5	4,5
Proteïnes	3,3	3,4
Aigua	88,1	88,2

Font: BEDCA (2017)

1.2 Productes lactis fermentats: probiòtics

Un dels problemes actuals és la quantitat de casos de persones intolerants a la lactosa, problema degut a una deficiència de lactasa a l'organisme. Les bacteries làctiques fermentadores col·laboren en la transformació de la lactosa en glucosa i galactosa, i, tot seguit, en àcid làctic i galactosa, facilitant el consum d'aquets productes per a la població. La producció de l'àcid làctic, fa baixar el pH del producte provocant la desnaturalització de les proteïnes, i, per tant, la formació del gel.

L'estabilitat del gel de les llets fermentades està relacionada en la quantitat de greix i proteïnes que conté. De forma que quan una mostra de llet tinga menys quantitat de greix i proteïna, tindrà una major pèrdua de xerigot (Morgan et al., 2003; Walstra et al. 1985 formant un gel més dèbil (Femeuf et al., 1989).

Els probiòtics són preparacions de microorganismes vius que, en qui els consumeix, provoquen un efecte beneficiós per a la salut. Entre els diferents tipus de probiòtics podem trobar el iogurt, kéfir, kumis i altres llets fermentades.

El fet de que els consumidors demanden cada vegada productes més saludables, afavoreix el creixement del sector de les llets fermentades probiòtiques, un sector que està interessat en innovar i produir nous productes (Duran, 2006b)

Lourens-Hatting i Viljeon (2011) recomanen recomptes de microorganismes entre 10^6 a 10^8 UFC/g en les llets fermentades, però no existeix cap acord entre la comunitat científica en quan a la concentració d'aquests per a que generen efectes probiòtics. La soca utilitzada és qui determina la viabilitat del probiòtic al producte i es veu afectada pel mètode de producció emprat, la composició de l'aliment, condicions de cultiu, pH final, temperatura d'emmagatzematge. Els microorganismes associats també milloren la viabilitat dels probiòtics al producte, de forma que els cultius mixtes es beneficien, un exemple és la capacitat de *Streptococcus thermophilus* per disminuir la quantitat d'oxigen que afecta de forma negativa al creixement de lactobacils i permet el seu millor creixement i supervivència, és per això que els cultius mixtes solen tindre millor viabilitat que els cultius aïllats. En canvi, el creixement dels probiòtics es pot vore alentit si es barreja amb algunes bacteries àcid-làctiques capaces d'alliberar inhibidors (bacteriocines). Els microorganismes potencialment probiòtics seleccionats per a l'estudi es basaren en la informació del catàleg de la Col·lecció Espanyola de Cultius Tipus (CECT) d'on es seleccionaren soques autòctones de productes lactis, i en altres estudis previs (Cano Lamadrid, 2017).

1.3 Perfil de volàtils

Un dels factors més importants a l'hora d'escollir un aliment o producte es la qualitat organolèptica d'aquest. La suma de les característiques percebudes pel gust i l'olfacte formen l'aroma (Còdex alimentarius). El que distingeix la llet fermentada i el iogurt d'altres productes és l'àcid làctic i altres diferents compostos aromàtics, on s'inclouen els components característics i específics de les llets fermentades (Inhof et al., 1994; Tamime and Deeth, 1980 Ott et al 1997).

Al iogurt s'han identificat més de 90 compostos volàtils diferents, (Marshall, 1982, Ott et al 1997) on s'inclouen alcohols, cetones, aldehids, àcids, hidrocarburs i sulfurs.

La cromatografia de gasos acoplada a espectrometria de masses (GC-MS) és la millor tècnica per separar i analitzar els aromes que es troben a la llet fermentada. És interessant determinar el perfil de volàtils degut a que un aroma equilibrat és una de les condicions necessàries per a aconseguir el estàndard de qualitat., i cal conèixer el potencial aromàtic d'un cultiu per a seleccionar les soques que proporcionen components aromàtics més favorables i característics de les llets fermentades. Tamime i

Robinson (1985) determinaren com a compostos volàtils que generen un gran impacte desitjable sobre les llets fermentades: acetaldehid, etanol, acetona, diacetil i 2-butanona.

Les diferències en el perfil aromàtic per cada tipus de soca, són degudes a les distintes rutes metabòliques que segueixen. Aquestes vies metabòliques són lleugerament diferents per a cada microorganisme, per tant poden aportar aromes específics de cada soca o més freqüentment continguts diferents dels compostos aromàtic típics de les llets fermentades, el que ens pot permetre diferenciar els diferents tipus de llets fermentades.

La determinació del perfil de volàtils i la seua quantificació és problemàtica degut a la tendència d'aquets a degradar-se, la formació de compostos volàtils secundaris per l'acció d'enzims i la recuperació incompleta d'aquestos durant l'extracció (Mariaca and Bosset, 1997; Mc Gorrin, 2001). En el present estudi s'emprarà una tècnica de micro-extracció en fase sòlida.

1.4 Perfil d'àcids grassos presents en la llet de cabra

La composició de la llet es troba al voltant dels valors que s'han mostrat anteriorment, tot i així, la composició de la llet pot variar en funció a moltes variables, entre les quals està la raça, l'època de l'any, la zona, les temperatures habituals en la zona, per tant, els valors de greixos poden variar entre 3,7 i 5,6% (Falagán & Mateos, 1996; Acero, López, Garrido, García & Consuegra, 2000; Chacón, 2005; Mataix, García, Mañas, Martínez & Llopis, 2009; Moreiras, Carbajal, Cabrera & Cuadrado, 2013; BEDCA, 2017).

Els compostos lipídics de la llet es troben, majorment, en forma de glòbuls de greix (Parker et al., 2007), en forma, principalment, de triglicèrids (95%) (Chacón, 2005; Park et al., 2007). Aquests glòbuls de greix presents en la llet de cabra són més menuts als presents a la llet de vaca, facilitant la digestió, i la majoria d'aquets són de cadena mitja (Chacón, 2005; Park et al. 2007, Silanikove, Leitner, Merin & Prosser, 2010).

El perfil d'àcids grassos de la llet de la llet de cabra (BEDCA 2017) es mostren a la Taula 5 non s'expressen en grams per 100 ml de llet.

Taula 5: Perfil d'àcids grassos de la llet de cabra. BEDCA

Lípids totals	3,70
SFA	2,5
MUFA	0,9
PUFA	0,1

SFA àcids grassos saturats; MUFA: àcids grassos monoinsaturats; PUFA: àcids grassos poliinsaturats.
Font: BEDCA 2017

L'àcid linoleic conjugat (CLA) es troba al perfil lipídic de la llet de cabra, varis estudis, entre els que trobem (Gädig et al., 2001; Pariza et al. 2001) han demostrat que el CLA aporta un efecte beneficiós a la salut humana, disminuint la resistència a la insulina. La suma dels isòmers posicionals de l'àcid linoleic que continguen un doble enllaç conjugat formen part del CLA (Trigueros & Sendra. 2015).

El CLA és pot obtindre per producció ruminal, per producció química o a causa de les bacteries làctiques. Trigueros et al. (2014) és un dels estudis que demostra l'activitat de certes soques de microorganismes probiòtics per a la transformació d'àcid linoleic a CLA mitjançant l'enzim àcid linoleic isomerasa. És, per tant, de gran interès conèixer quin efecte tenen els diferents cultius iniciadors sobre la concentració total de CLA, ja que un cultiu que potencie la seua formació aportarà efectes beneficiosos.

Els recomptes microbians, l'estabilitat del gel, els indicadors de la fermentació com són pH, perfil d'àcids orgànics i sucres, perfil de volàtils i contingut en CLA són paràmetres de gran rellevància per a establir la idoneïtat de cultius iniciadors i soques de bacteries làctiques per a desenvolupar llets fermentades de qualitat. El present estudi pretén seleccionar soques per al desenvolupament de llets de cabra fermentades en base a estos paràmetres.

2. OBJECTIUS

Objectiu general:

Seleccionar cultius lactis per a l'elaboració de llet fermentada de cabra amb potencial probiòtic.

Objectius específics:

Escollides, en base a la bibliografia, 10 soques/cultius amb potencial probiòtic determinar la seua aptitud a la fermentació de llet de cabra en base a:

- El temps de fermentació
- Recomptes de bacteris lactis en la llet fermentada
- Estabilitat del gel obtingut
- Perfil d'àcids grassos totals, incloent el contingut en àcid linoleic conjugat
- Perfil de compostos volàtils
- Àcids orgànics i sucres en llets fermentades

Aquells cultius que donen lloc a majors: recomptes, estabilitat del gel, contingut en CLA, contingut en compostos volàtils desitjables i un perfil d'àcids i sucres adequat es consideraran adients per a obtenir llets fermentades de cabra amb propietats potencialment beneficioses.

3. MATERIALS I MÈTODES

3.1 Planificació de l'experiment i planificació del treball

Amb la finalitat de seleccionar cultius i soques per a l'adequada fermentació de la llet de cabra, es va decidir treballar amb llet de tanc de la granja de menuts remugants de l'Escola Politècnica Superior de Orihuela. Es va prendre llet de tanc recollida de 4 dies consecutius (amb una separació de 48-72 h entre mostrejos), es va pasteuritzar i s'assajaren 9 soques de bacteris lactis potencialment probiòtics obtinguts de la Col·lecció Espanyola de Cultius Tipus (CECT), inicialment foren 10 però un d'ells no va sobreviure i es va substituir per un cultiu mixt comercial representatiu (apte per mantega i formatge).

Els criteris a avaluar escollits en aquest estudi foren:

- Composició general de la llet
- Capacitat d'acidificació: corba d'acidificació
- Recomptes de bacteris lactis a les 48 h post fermentació
- Composició general de la llet fermentada
- Estabilitat del coàgul: extracció del xerigot, pH del xerigot i composició del xerigot
- Perfil d'àcids orgànics i sucres en la llet fermentada
- Perfil d'àcids grassos totals
- Perfil de composts volàtils

Els paràmetres triats permetran determinar quines soques/cultius aconseguir un major recompte microbià, quins donen lloc a gels més estables, amb menors pèrdues de nutrients al xerigot, amb un perfil d'àcids orgànics i el perfil aromàtic d'interès i amb un perfil d'àcids grassos totals favorable (possible potenciació de la formació d'àcid linoleic conjugat CLA). La caracterització d'aquestes qualitats de les llets fermentades ens permetrà definir futures aplicacions en la transformació de llet de cabra.

3.2 Soques de bacteris lactis i cultius làctics

Baix el criteri del potencial es varen seleccionar 9 microorganismes purs i 1 mixt.

Taula 6: *Cultius obtinguts del Centre Espanyol de Cultius Tipò (CECT) i temperatures de fermentació recomanada per CECT i fabricant*

Soca	Microorganisme	T (°C)
CECT 277	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> .	30
CECT 475	<i>Lactobacillus casei</i>	37
CECT 541	<i>Lactobacillus helveticus</i>	37
CECT 925	<i>Lactobacillus reuteri</i>	30
CECT 4005	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	37
CECT 4042	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	30
CECT 5785	<i>Lactobacillus plantarum</i>	30
CECT 5786	<i>Lactobacillus curvatus</i>	30
CECT 5964	<i>Lactobacillus sakei</i> subsp. <i>carneus</i>	37
MA400	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>	30

La recuperació va consistir en una primera fase d'activació dels microorganismes purs que estaven emmagatzemats a -20°C, i una segona passada d'activació. La reactivació es va realitzar seguint les indicacions de la CECT, fent servir MRS brou esterilitzat a 121°C durant 15 minuts per als lactobacils i M17 brou per al lactococ.

Els microorganismes seleccionats creixen en medi aerobi, a excepció de *L. helveticus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Lc. lactis* subsp. *lactis* el desenvolupament dels quals es veu afavorit per un medi anaerobi, per tant, al tub d'activació dels microorganismes es va cobrir la superfície de contacte en l'aire amb una capa de vaselina estèril.

Passades 24 hores, es van recuperar els cultius. La presència de terbolesa al medi indicava el creixement de la soca.

La segona passada va consistir en transferir 0,4 ml dels cultius anteriors a altres dos tubs amb 5 ml de medi de cultiu fresc (preparat i esterilitzat just abans de la inoculació) i s'incubà a les temperatures òptimes de creixement de cadascun dels microorganismes durant 24 hores.

El cultius mixtes es reactivaren introduint les soques deshidratades a un pot estèril amb 20 ml d'aigua de peptona durant 30 minuts.

3.3 Llet de cabra i pasteurització

Es varen realitzar quatre produccions independents, prenent mostres de llet del tanc en dies consecutius. Cada dia s'agafaven 3 litres de llet en botelles de cristall d'un litre i es pasteuritzaven.

Es va preescalfar el pasteuritzador a una temperatura de 80°C, s'introduïren les botelles de llet al pasteuritzador i, amb l'ajuda d'un termòmetre, es mesurava la temperatura de la llet de cabra. La llet es mantenia durant 30 minuts a 80°C, i una vegada passat aquest temps es va baixar la temperatura fins a 20°C cobrint les botelles amb gel i s'emmagatzemà al frigorífic.

3.4 Fermentació de la llet: condicions i corba d'acidificació

Es va temperar la llet a un bany d'aigua a 45°C i, a continuació, es va homogeneïtzar i agitar i se'n va guardar una mostra en un recipient de 60 ml amb tapa de rosca, per a determinar la composició química i pH de la llet abans de la fermentació.

Tot seguit es va distribuir la llet de cada dia de producció en 30 flascons de plàstic estèrils de 100 ml cadascun, i a cada flascó es va inocular 1 ml de cultiu microbiològic reactivat, obtenint 3 flascons inoculats per cada microorganisme (27 amb bacteries làctiques reactivades i d'altres 3 per al cultiu mixte). D'aquesta manera es van obtenir tres rèpliques de cada cultiu en cada producció.

Per a determinar el temps de fermentació de cadascun dels microorganismes, es va mesurar el pH inicial de la llet abans de la inoculació, seguidament es van incorporar els cultius i immediatament es va dur a incubació seguint les temperatures idònies de cadascun dels cultius. A partir de les primeres 4 hores d'incubació, es va mesurar el pH cada 2 hores fins que la llet fermentada va obtenir un pH de 4,8, amb l'objectiu de conèixer el temps necessari per a cada microorganisme d'aconseguir el pH desitjat i poder dibuixar la corba d'acidificació. Finalment, les mostres s'emmagatzemaren a 4°C fins a les 48 hores en que s'analitzaren microbiològicament, estabilitat del gel i composició de llet i xerigot. Per a la resta de determinacions les mostres es varen mantenir congelades per sota de -20°C fins a l'anàlisi.

3.5 Composició de llet i llet fermentada

La determinació dels principals components de la llet es va realitzar mitjançant un equip d'anàlisis basat en espectroscòpia de l'infraroig pròxim (NIR *Near Infrared Spectroscopy*), MilkoScan™ FT 120 (FOSS A/S). Aquest equip compleix amb els estàndards de la *International Dairy Federation-AOAC*. Els principals components determinats foren: greix (%), proteïna bruta, proteïna vertadera, caseïna, proteïnes del xerigot, lactosa, matèria seca, extracte sec magre i minerals. L'equip emprat compta amb calibracions per a llet de cabra, llet fermentada i xerigot.

3.6 Recomptes de bacteris lactis

La sembra es va realitzar a les 48 hores de refrigeració de cadascuna de les llets fermentades, amb l'objectiu de comprovar la supervivència dels microorganismes. Es va treballar a la campana de flux laminar (TESLAR. AH-100) prèviament higienitzada.

Cada flascó es va agitar i es va pesar un gram de la mostra a un tub d'assaig amb 9 ml d'aigua de peptona estèril (dilució 10^{-1}), s'agità fent servir el vòrtex (IKA® MS 1 Minishaker) durant 10 segons. Tot seguit es passà 0,1 ml d'aquest tub a un altre amb 9,9 ml d'aigua de peptona estèril (dilució 10^{-3}), d'on es va prendre 0,1 ml de nou (dilució 10^{-5}) i una última vegada (dilució 10^{-7}). Seguidament, es va prendre 1 ml de cada tub d'assaig (dilució -3, -5 i -7) i es va inocular a la placa petri corresponent.

Immediatament s'incorporaren 20 ml del medi estèril corresponent, i, una vegada van gelificar, als cultius anaerobis, se li afegiren 10 ml de medi més per obtenir una doble capa. Els cultius purs del tipus *Lactococcus*, es desenvolupen de manera favorable al medi M17, per altra banda, els cultius de tipus *Lactobacillus* ho fan al medi de cultiu MRS, per al cultiu mixt MA400, es van fer servir els ambdó tipus de medisonada la major variabilitat de soques que conté.

Les plaques es dugueren a incubació a les temperatures idònies per al creixement dels microorganismes durant el temps recomanat, passat el qual es varen contar les plaques.

3.7 Estabilitat dels gel

3.7.1 Aptitud a l'extracció del xerigot

Seguint el mètode Morgan et al. (2003) es van pesar 20 grams de llet fermentada a tubs de centrífuga de 50 mL. Les condicions a les quals es sotmeteren les mostres van ser de

2800 g a 20°C durant 30 minuts. Es va extraure i pesar el sobrenedant i es va calcular l'aptitud a l'extracció del xerigot com la relació:

$$\% \text{ dessuerat} = \left(\frac{\text{grams de xerigot}}{\text{grams de llet}} \right) * 100$$

3.7.2 pH

Es mesura el pH del xerigot extret.

3.7.3 Composició del xerigot

La determinació dels principals components del xerigot es va realitzar mitjançant un equip d'anàlisi basat en espectroscòpia de l'infraroig pròxim (NIR *Near Infrared Spectroscopy*), *MilkoScan*TM FT 120 (FOSS A/S). Aquest equip compleix amb els estàndards de la *International Dairy Federation-AOAC*. Els principals components determinats foren: greix (%), proteïnes i lactosa.

3.8 Perfil d'àcids orgànics i sucres

Per a les següents determinacions les mostres havien estat enmagatzemades en congelació. El procés de descongelar es va realitzar mitjançant la seva immersió en un bany amb aigua a 40°C. Per a evitar la separació dels components de la llet durant el procés de descongelació, es va realitzar una homogeneïtzació mitjançant una agitació suau del flascó que contenia la llet. Un cop que les mostres estaven totalment descongelades i homogeneïtzades, es van deixar temperar fins aconseguir la temperatura ambient.

Seguint el procediment de Trigueros et al (2011), es van pesar 5 grams de llet en tubs de centrífuga i es van mantenir en gel. Quan es van pesar totes les mostres, s'afegiren 10 mL d'aigua tipo I (ultrapura) Mili-Q a cadascun dels tubs. Es va homogeneïtzar utilitzant l'equip ultraturrax durant 20 segons a 13500rpm. Tot seguit es va centrifugar en unes condicions de 15000 rpm, durant 20 minuts, a 4°C.

Després de la centrífuga, es va prendre 1 mL de la fase líquida, fent passar la mostra per un filtre de 0,45 µm, es va introduir en un vial de HPLC. Finalment, es van congelar els vials. Es varen analitzar per HPLC en una columna Supelcogel H610 fent servir com a

fase mòbil una solució al 0,1% de àcid ortofosfòric a fluxe de 1ml/min, a temperatura ambient, l'aparell té detectors UV (ultraviolat en una longitud d'ona de 210 nm) per a la quantificació d'àcids orgànics, i RID (índex de refracció) per a la quantificació de sucres. Les identificacions es varen fer comparant amb el temps de retenció de substàncies patró i la quantificació per rectes de calibració de patrons purs.

3.9 Perfil d'àcids grassos total

Es va determinar el perfil d'àcids grassos en llet de cabra mitjançant el mètode descrit per por Romeu-Nadal, Morera-Pons, Castellote & López-Sabater (2004) amb algunes modificacions, fent algunes modificacions. Es va prendre 3 ml de la mostra de llet (pesats amb exactitud de 0,1 mg), es va mesclar amb 120 µL de patró intern C9:0 (20mg/mL), 360 µL de patró intern C17:0 (20mg/mL) y 5 ml de diclorometà en metanol (2:1) en un tub de centrifuga y es va homogeneïtzar durant 1 minut. A continuació, es va centrifugar durant 8 minuts a 3500 rpm a 4 °C.

Després de la centrífuga, es va observar la formació de dos fases. La fase aquosa superior es va eliminar amb cura i es fa afegir, de nou, 3 ml de diclorometà en metanol (2:1). S'agitaren les mostres durant un minut i es varen centrifugar durant 6 minuts a 3500 rpm a 4°C. Finalment, es va obtenir un precipitat i una fase orgànica inferior que es recupera (grassa extreta en diclorometà).

La determinació dels àcids grassos requereix la preparació d'esters metílics dels àcids grassos (FAME) i el seu posterior anàlisi mitjançant la cromatografia de gasos. Per això, es va utilitzar el mètode descrit per Trigueros & Sendra (2015) amb algunes modificacions. Es van prendre 0,25 g de la fase orgànica i es van saponificar amb 1 mL de dissolució metanòlica de NaOH (0,5 M) a un bany termostatat a 50 °C durant 10 minuts.

Una vegada ha transcorregut eixe temps, es va baixar la temperatura amb gel fins aconseguir una temperatura ambient, es va afegir 1 ml de trifluorur de bor (14%) en metanol i es va deixar a temperatura ambient (25°C) durant 30 minuts.

Tot seguit, es va addicionar 1 ml d'aigua destil·lada i 600 µL d'hexà, i es va homogeneïtzar durant 1 minut en un vòrtex. A continuació, es va ocasionar la formació de 2 fases i es va recuperar la fase orgànica superior que es va secar amb sodi sulfat anhidre. Posteriorment es va transvasar a vials de cromatografia per a la separació dels

èsters metàlics en un cromatógraf GC-FID de 5890 Agilent i columna DB23 J&W de 30 metres segons Trigueros i Sendra (2015).

3.10 Perfil compostos volàtils

La llet es va dur fins als 40°C en dos fases: en primer lloc, dins la nevera fins que es va descongelar, i després, en un bany d'aigua fins als 40°C.

Es va seguir el procediment de Tunick et al (2013) per a la microextracció en fase sòlida. Es van fer servir vials de 40 mL de vidre SIGMA-ALDRICH (23188) amb tancament hermètic als quals se'ls afegien 5 grams de sal (clorur de sodi), 20 mL de la mostra de llet i 5 µL d'una dissolució de 2-metil-3-heptanona (100 ppm de concentració) que s'utilitza com a patró intern. La mostra es va calfar a una temperatura de 40°C y se va sotmetre a agitació continua en l'exposició de la fibra per un temps de 50 minuts.

La fibra que es va fer servir era de 2 cm, 50/30-µm de espessor DVB/Carboxen/PDMS Stableflex/SS SPME (SUPELCO) es va exposar a l'espai de cap del vial durant 50 minuts. Quan va passar aquest temps, la fibra es va injectar al cromatògraf (Shimadzu CG - 17^a/ GCMS - QP5050) on es va deixar desorbir durant 3 minuts a l'injector a 250°C. L'equip estava equipat amb una columna RXi-1301 Sil MS de 30-m, 0,25-mm i.d., 1-µm d'espessor equipat amb un detector espectròmetre de masses per a identificar els compostos volàtils. El gas portador utilitzat fou heli i la temperatura del programa fou la següent: 40°C mantinguts durant dos minuts amb una rampa de 10°C/min, fins aconseguir 200°C que es van mantenir durant 10 minuts. Tot seguit es va executar un programa de neteja a 300°C. Els pics dels cromatogrames s'identificaren per comparació amb substàncies de referència en alguns casos i per la comparació amb els espectres de la llibreria Wiley.

3.11. Anàlisi estadístic de les dades

Les dades de l'estudi es varen procesar amb el programa IMB SPSS 24. Les dades obteses de les 4 produccions independents, amb les seues rèpliques es varen processar amb Excel (MSOffice 2013) per a calcular mitjanes i desviacions estàndadr, i es varen analitzar mijançant ANOVA amb un factor amb el SPSS.

4 RESULTATS I DISCUSSIONS

4.1 Corba d'acidificació

Es va realitzar una corba d'acidificació amb l'objectiu de trobar un temps de fermentació per a les diferents soques. Es va començar a mesurar el pH a partir de les 4 hores. En aquest moment el pH encara era alt, i es va continuar amb l'estudi. A les 7 hores de fermentació, el cultiu mixt MA-400 fou la primera mostra en aconseguir el pH adequat (4,8). Aquest pH és el punt en el que les proteïnes precipiten formant el quall a les llets fermentades. L'últim microorganisme en aconseguir el pH desitjat va ser *L. reuteri* tardant 27,5 hores. *L. casei*, *L. paracasei* i *L. sakei* van aconseguir el pH a les 24 hores i la resta de microorganismes, una volta passades 10 hores. Aquests valors són similars a l'estudi de Morgan et al. (2003), que durant les primeres 5 hores no es van observar canvis. Estudis han demostrat que la capacitat tamponant dels minerals de la llet durant les primeres hores afavoreix el creixement de bacteris d'àcid làctic en la llet de cabra (Masle i Morgan, 2001). És generalment admés que una capacitat d'acidificació relativament curta, entre 5-8 hores, afavoreix que els cultius inoculats siguin la microbiota predominant, evitant o reduint així el possible creixement de microorganismes contaminants.

Aquelles soques que requereixen llargs períodes de temps de fermentació són males competidores per als nutrients i són potencialment menys estables (menor creixement i supervivència). Es pot observar que l'únic cultiu mixt assajat té la millor capacitat fermentadora, de fet s'empra com a cultiu de referència per a determinar la capacitat acidificant en llet de cabra (Morgan et al. 2003; Muelas et al. 2017), i que *L. reuteri*, donat el seu llarg temps de fermentació seria el pitjor fermentador de llet de cabra.

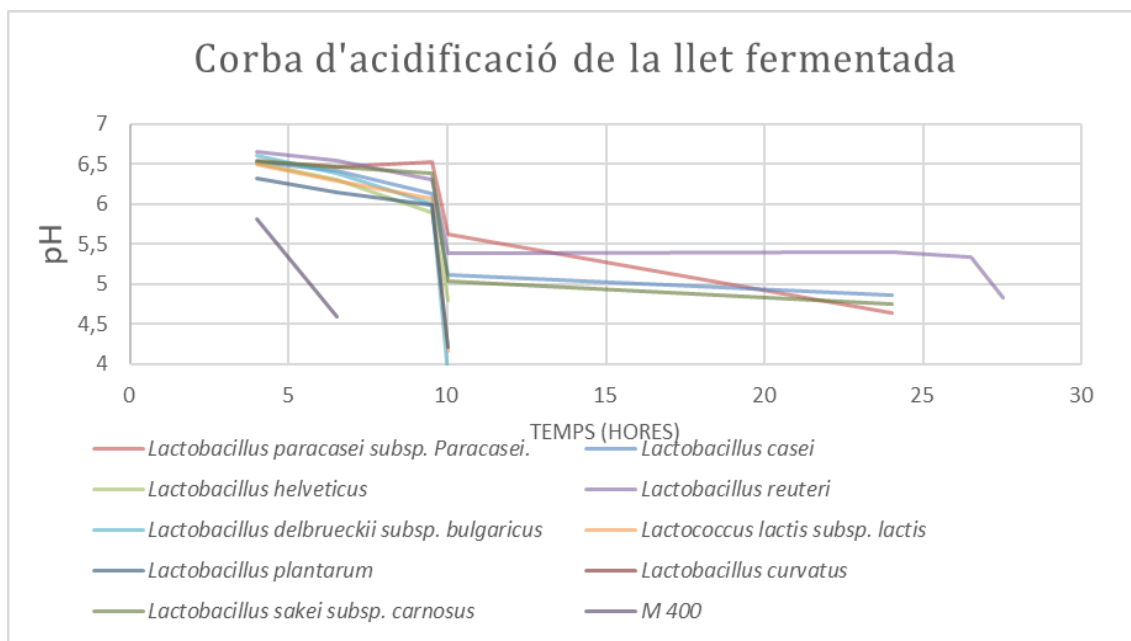


Figura 2: Corbes d'acidificació de les llets fermentades

L. paracasei subsp. *paracasei*: 30 °C; *L. casei* 37 °C; *L. helveticus*: 37 °C; *L. reuteri*: 30 °C; *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*: 37 °C; *Lc. lactis* subsp. *Lactis*: 30 °C; *L. plantarum*: 30 °C; *L. curvatus*: 30 °C; *L. sakei* subsp. *carneus*: 37 °C.

4.2 Composició de la llet i la llet fermentada

Es va analitzar la composició de la llet a dia 0 (Taula 7) abans d'inocular els microorganismes, de la llet fermentada (Taula 8) i del xerigot extret (Taula 9) fent servir espectroscòpia del infra-roig proper (NIR). Les dades que apareixen a la Taula 7 de composició de llet a dia 0, són similars als valors obtinguts per Abo-Donia et al. (2017) i Muelas et al. (2017) en llet de cabra. La diferència entre la quantitat de greix entre les mostres de llet i llet fermentada, tot i que per algunes mostres sembla més elevat, es deu a la variabilitat ocasionada per treballar amb llet no homogeneïtzada, i si tenim en compte que no hi ha diferències en el contingut de sòlids totals, estes diferències esdevenen irrelevantes. Tampoc es troba diferència en la quantitat de proteïnes totals a la llet a dia 0 respecte a la llet fermentada. Este és el comportament esperat donat que són normals canvis deguts al metabolisme però que no afecten a la composició general. En quant als sòlids totals de la llet (15,00g/100ml), no es veuen afectats quan la llet es sotmet al procés de fermentació, obtenint uns valors entre 12,45 i 14,68 g/100 ml. Cal tenir en compte que llet i llet fermentada s'analitzen per NIR fent servir diferent calibracions, fet que pot donar lloc a xicotetes diferències de quantificació. En quan a la composició del xerigot, i com era d'esperar, és òbviament molt diferent a la llet. La determinació de l'extracció del xerigot és una mesura de l'estabilitat del gel format

durant la fermentació, a menor volum relatiu de xerigot alliberat i menor contingut en greix, proteïnes i sòlids totals del xerigot, més estable és el gel. Al comparar les dades de la llet fermentada (Taula 8) i les del xerigot (Taula 9), tant el greix com la quantitat de proteïna total disminueixen. Els valors al greix de la llet fermentada es troben entre 4,84 i 3,75g/100 ml, mentre que els de la proteïna entre 3,16 i 3,71g/100 ml. En canvi, al xerigot es troben en valors d'entre 0,11 i 0,29g/100ml per al greix i 0,28 a 0,75g/100 ml en les proteïnes totals. La quantitat de sòlids totals que hi ha al xerigot, es troba en uns valors d'entre 3.40 i 3.91g/100 mL.

Si comparem els cultius iniciadors assajats, la llet fermentada pel cultiu mixt MA-400, és la que presenta una menor pèrdua de proteïna en xerigot, juntament amb *L. curvatus* i *L. paracasei*. Una menor pèrdua de greix, proteïna i sòlids solubles al xerigot indica una major qualitat del cultiu fermentador. Cal destacar que MA-400 és l'únic cultiu mixt assajat, i que és ben conegut que les llets fermentades per cultius mixtes són més estables que aquelles obtingudes de cultius purs. En el cas de les altres llets fermentades, les pèrdues de proteïna són majors, les de greix són més variables i en general no hi ha diferències rellevants en les pèrdues de sòlids totals de manera que gairebé tots els gels obtinguts tenen semblant estabilitat atesa la composició del xerigot

Taula 7: mitjana i desviació estàndard de la composició de la llet a dia 0

Mostra	Greix (g/100ml)	Proteïna total (g/100ml)	Lactosa (g/100ml)	Sòlids totals (g/100ml)
Llet a dia 0	4,70±0,16	3,63±0,06	4,90±0,03	15,00±0,22

Taula 8: Mitjana i desviació estàndard de la composició de la llet fermentada

<i>Microorganisme</i>	<i>Soca</i>	<i>greix</i> (g/100mL)	<i>Proteïna total</i> (g/100mL)	<i>Sòlids totals</i> (g/100mL)
<i>L. casei</i>	CECT 475	4.84±0.06	3.31±0.13	14.68±0.34
<i>L. curvatus</i>	CECT 5786	3.87±0.35	3.53±0.14	12.82±0.23
<i>L. bulgaricus</i>	CECT 4005	4.23±0.22	3.64±0.09	13.39±0.12
<i>L. helveticus</i>	CECT 541	4.25±0.42	3.16±0.42	12.97±0.25
<i>L. paracasei</i>	CECT 277	3.54±0.21	3.51±0.18	12.58±0.55
<i>L. plantarum</i>	CECT 5785	3.76±0.19	3.28±0.25	12.53±0.30
<i>L. reuteri</i>	CECT 925	3.53±0.56	3.30±0.63	12.45±0.44
<i>L. sakei</i>	CECT 5964	3.74±0.52	3.68±0.43	12.80±0.55
<i>Lc. lactis</i>	CECT 4042	4.33±0.47	3.71±0.20	13.22±0.43
MA-400	MA-400	4.08±0.50	3.50±0.43	13.20±0.31
GS ¹		Ns	ns	ns

¹Grau de significació *** P<0.001; *<0.05; ns no significant

L. casei: *Lactobacillus casei*; *L. curvatus*: *Lactobacillus curvatus*; *L. bulgaricus*: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; *L. helveticus*: *Lactobacillus helveticus*; *L. paracasei*: *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*; *L. plantarum*: *Lactobacillus plantarum*; *L. reuteri*: *Lactobacillus reuteri*; *L. sakei*: *L. sakei* subsp. *carneus*; *Lc. lactis*

Taula 9: Mitjana i desviació estàndard de la composició del xerigot de la llet fermentada

<i>Microorganisme</i>	<i>Soca</i>	<i>Greix</i> (g/100mL)	<i>Proteïnes</i> totals(g/ 100mL)	<i>Lactosa</i> (g/100ml)	<i>Sòlids</i> totals (g/100ml)
<i>L. casei</i>	CECT 475	0.27±0.09	0.75±0.18 ^b	2.65±0.26	3.91±0.31
<i>L. curvatus</i>	CECT 5786	0.29±0.06	0.28±0.05 ^a	2.30±0.04	3.51±0.03
<i>L. bulgaricus</i>	CECT 4005	0.17±0.05	0.33±0.05 ^b	2.32±0.07	3.51±0.16
<i>L. helveticus</i>	CECT 541	0.23±0.08	0.31±0.01 ^b	2.26±0.04	3.42±0.03
<i>L. paracasei</i>	CECT 277	0.15±0.02	0.28±0.03 ^a	2.29±0.04	3.40±0.07
<i>L. plantarum</i>	CECT 5785	0.20±0.03	0.32±0.01 ^b	2.49±0.22	3.71±0.25
<i>L. reuteri</i>	CECT 925	0.17±0.09	0.36±0.03 ^b	2.42±0.06	3.58±0.16
<i>L. sakei</i>	CECT 5964	0.20±0.06	0.39±0.02 ^b	2.32±0.10	3.51±0.05
<i>Lc. lactis</i>	CECT 4042	0.11±0.03	0.50±0.25 ^b	2.45±0.15	3.54±0.13
MA-400	MA-400	0.27±0.07	0.25±0.02 ^a	2.35±0.06	3.62±0.15
GS ¹		Ns	Ns	Ns	Ns

1Grau de significació *** P<0.001; *<0.05; ns no significant

L. casei: *Lactobacillus casei*; *L. curvatus*: *Lactobacillus curvatus*; *L. bulgaricus*: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; *L. helveticus*: *Lactobacillus helveticus*; *L. paracasei*: *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*; *L. plantarum*: *Lactobacillus plantarum*; *L. reuteri*: *Lactobacillus reuteri*; *L. sakei*: *L. sakei* subsp. *carneus*; *Lc. lactis*

4.3 Microbiologia, extracció del xerigot i pH

A la Taula 10 es mostren les dades dels recomptes microbiològics, dessuerat i el pH de les diferents llets fermentades. Aquestes dades les presentem agrupades com a principals indicadors de la capacitat fermentadora dels cultius assajats i l'estabilitat dels gels obtinguts.

La majoria dels cultius iniciadors estudiats són cultius potencialment probiòtics (Cano Lamadrid et al., 2017). Els valors de recomptes microbiològics expressats en unitats logarítmiques es troben en valors compresos entre 7,19 i 9,59, sent el més baix el *L.*

delbrueckii subsp. *bulgaricus* i els valors més alts les soques pures *L. paracasei* subsp. *paracasei*, *Lc. lactis* subsp. *lactis* i el cultiu mixt MA400.

La capacitat de retenció del xerigot varia principalment en funció de la quantitat de greix i proteïnes que conté la llet, de forma, que si la quantitat d'aquests compostos disminueixen, augmenta la capacitat de retenció del xerigot (Walstra et al. 1985), pel que provoca un gel menys dèbil (Remeuf et al., 1989), i a més es veu afectada pel procés d'acidificació. Tenint en compte la capacitat d'extracció del xerigot, expressada en percentatge, es va observar com la llet fermentada pels microorganismes *L. reuteri* es la que va obtenir un percentatge de dessuerat major 69,33%, i la llet fermentada per *Lc. lactis*, amb un valor de 51,61%, fou la llet fermentada que retenia més quantitat de xerigot, 69% de dessuerat, seguida per *L. helveticus* amb un 52,69%. Tot i que els percentatge de dessuerat individual es movien entre valors de 51,61 i 69,33%, sols es van trobar diferències significatives per *L. reuteri* que provocava un gel molt inestable. Aquesta determinació, per la seua naturalesa, és d'una gran variabilitat (cada valor és la mitjana de determinacions duplicades en 4 produccions independents).

La majoria de les distintes llets fermentades mostraven uns valor de pH entre 4,2 i 4,7, exceptuant les llets fermentades pels microorganismes *L. plantarum* i *L. reuteri* que oferien uns valors més alts, aplegant a 4,93 i 5,13, indicant clarament la seua menor capacitat d'acidificació en comparació als altres cultius assajats estos resultats coincideixen amb els obtinguts per Cano-Lamadrid et al. (2017) en llet de vaca. Per altra banda, els valors de pH més baixos foren registrats per *Lc. Lactis*.

Taula 10. Mitjanes i desviació estàndard del recomptes bacterians (Log10 UFC/g(unitats formadores de colònies per gram)), percentatge de dessuerat (%) i del pH.

Mmoo	Soca	Recomptes ufc/g)	(log10 Dessuerat (%)	pH
<i>L. casei</i>	CECT 475	8,46±0,34 ^b	59,18±17,72 ^a	4,78±0,38 ^{a,b}
<i>L. curvatus</i>	CECT 5786	9,23±0,34 ^b	54,18±16,09 ^a	4,52±0,54 ^a
<i>L. bulgaricus</i>	CECT 4005	7,19±0,21 ^a	53,45±15,79 ^a	4,34±0,26 ^a
<i>L. helveticus</i>	CECT 541	9,10±0,36 ^b	52,69±15,36 ^a	4,37±0,33 ^a
<i>L. paracasei</i>	CECT 277	9,58±0,57 ^c	62,27±15,05 ^a	4,50±0,38 ^a
<i>L. plantarum</i>	CECT 5785	8,74±0,20 ^b	63,28±12,39 ^a	4,93±0,53 ^b
<i>L. reuteri</i>	CECT 925	9,10±0,66 ^b	69,33±15,47 ^b	5,13±0,37 ^b
<i>L. sakei</i>	CECT 5964	9,11±0,48 ^b	57,13±17,80 ^b	4,24±0,25 ^a
<i>Lc. Lactis</i>	CECT 4042	9,59±0,37 ^c	51,61±16,05 ^b	4,20±0,25 ^a
MA-400	MA-400	9,42±0,32 ^c	58,85±16,61 ^b	4,55±0,25 ^a
GS		**	***	**

1Grau de significació *** P<0.001; *<0.05; ns no significant

Mmoo: microorganismes; *L. casei*: *Lactobacillus casei*; *L. curvatus*: *Lactobacillus curvatus*; *L. bulgaricus*: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; *L. helveticus*: *Lactobacillus helveticus*; *L. paracasei*: *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*; *L. plantarum*: *Lactobacillus plantarum*; *L. reuteri*: *Lactobacillus reuteri*; *L. sakei*: *L. sakei* subsp. *carneus*; *Lc. lactis*

4.4 Compostos volàtils

El perfil de compostos volàtils d'una llet fermentada ens dona informació objectiva sobre el seu aroma potencial, i a més ens serveix d'indicadors del metabolisme dels microorganismes presents en ella.

Segons Tamime i Robinson (1985) els compostos que tenen un major impacte a l'aroma desitjable de la llet fermentada, són: acetaldehid, etanol, acetona, diacetil i 2-butanona. Aquelles llets fermentades amb major contingut d'aquests compostos és d'esperar que siguin les que tenen millor perfil aromàtic.

Tot seguit, es presenten els perfils dels compostos volàtils de la llet de cabra fermentada per les soques: *L. paracasei* subsp. *paracasei.*, *L. casei*, *L. helveticus*, *L. reuteri*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lc. lactis* subsp. *Lactis*, *L. plantarum*, *L. curvatus*, *L. sakei* subsp. *carneus*, i el cultiu mixt que conté els bacteris lactis *Lc. Lactis* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris*, *L. lactis* subsp. *lactis biovar diacetylactis*, *streptococcus thermophilus* (MA400).

El perfil de volàtils que es mostra en la Taula 11 és un perfil típic en llet de cabra, allí es mostren els compostos detectats en les mostres del present estudi, ordenats per temps d'elució de la columna de cromatografia.

Taula 11: Temps de retenció dels compostos volàtils trobats

Compost	Temps de retenció (min)	Descriptor aromàtic*
Etanol (cas) etil alcohol	3.012	dolç
2-propanona (cas) acetona	3.446	Dolç, afruitat
Dimetil sulfur	3.539	Intens,
2,3-butanediona (cas) diacetil	5.584	Mantega
2-butanona (cas) metil etil cetona	5.772	Dolç, afruitat
Àcid acètic (cas) àcid etílic	7.388	Vinagre
2-pentanone (cas) metil propil cetona	8.976	Afruitat
2-butanona, 3,3-dimetil- (cas) 3,3-dimetil-2-butanona	9.322	Afruitat
2-butanona, 3-hydroxy- (cas) acetoina	10.959	Mantega
Iso amil alcohol	11.498	Dolç, afruitat
Octà	13.219	Afruitat
Àcid isobutíric	13.963	Dolç
Pentan-3-ol	14.070	Afruitat
Àcid butíric (cas) n- Àcid butíric	15.005	A formatge, pungent
2-butanol	15.277	
Àcid isovalèric	15.385	Fruita podrida
Àcid propiònic	17.791	Vinagre

2-heptanona	18.250	
Heptanal	18.311	Afruitat
α -pinene	18.700	
Heptà (cas) n-heptà	18.942	
Àcid caproic	22.166	Ranci
Undecà, 4,7-dimetil- (cas)	24.016	
Nonanal (cas) n-nonanal	26.087	
Àcid octanoic (cas) àcid caprílic	27.903	Cera, cabra
Tridecà (cas) n-tridecà	31.974	
	34.093	

*Min=minuts, *Font: H. CHENG (2010)*

Els resultats dels compostos volàtils s'han agrupat en funció de la família química a la qual pertanyen per a facilitar la seua presentació i discussió:

Alcohols

A la Taula 12 es mostren les mitjanes i la desviació estàndard de la concentració (nanolitres per litre) d'alcohols volàtils de les llets fermentades estudiades. L'etanol forma part dels compostos volàtils que generen un gran impacte en el flavor desitjat (Tamime and Robinson, 1985). Els valors d'etanol en les diferents llets fermentades es troben en dos grups diferenciats, els menors valors es troben entre 1,43 i 7,28 nl/l, per part dels microorganismes, *L. helveticus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *L. reuteri*, la resta de cultius, aporten uns valors més alts compresos entre 24,58 i 133,65 nl/l, on el cultiu mixt MA 400 destaca per ser el més elevat seguit de *L. paracasei* i *L. plantarum*. Els valors elevats són desitjables. Tot i així, els valors d'etanol en les llets de cabra fermentades són més baixos que els trobats a la literatura científica per a llets fermentades de vaca (Georgala et al., 1995; Rysstad and Abrahamsen, 1987). Dels altres alcohols majoritaris, tot i que presents en poca quantitat, destacar que *L. helveticus*

seguit per *L. bulgaricus* contenen quantitats rellevants mentre que la resta presenten continguts molt baixos.

L'alcohol iso amílic tan sols es presenta en les llets fermentades per *L. casei*, *L. lactis*, *L. plantarum* i *L. sakei* en valors que es troben entre 0,276 i 0,889 nL/l.

Taula 12: Mitjanes i desviació estàndard de la concentració d'alcohols volàtils de les llets fermentades en nano-litres per litre

mmoo	Etanol (nL/L)	Pentan-3-ol (nL/L)	2-Butanol (nL/L)
<i>L. bulgaricus</i> CECT 4005	3,81±2,95	13,93±1,21	13,32±1,31
<i>L. casei</i> CECT 475	24,58±15,42	2,22±1,70	13,15±18,6
<i>L. curvatus</i> CECT 5786	56,68±67,25	0,50±0,47	0,47±0,63
<i>L. helveticus</i> CECT 541	1,43±0,31	30,80±14,58	29,76±16,4
<i>L. lactis</i> CECT 4042	40,23±0,63	4,15±0,30	3,60±0,22
MA400 MA-400	133,65±64	2,21±0,58	0,59±0,84
<i>L. paracasei</i> CECT 277	114,77±58,79	0,46±0,53	0,74±0,40
<i>L. plantarum</i> CECT 5785	96,84±27	5,68±0,12	6,98±2,53
<i>L. reuteri</i> CECT 925	31,05±20,53	4,08±2,89	2,79±3,71
<i>L. sakei</i> CECT 5964	7,28±3,12	0,96±0,09	6,40±9,05

Nano-litres per litre = nL/L mmoo: microoganisme; *L. casei*: *Lactobacillus casei*; *L. curvatus*: *Lactobacillus curvatus*; *L. bulgaricus*: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; *L. helveticus*: *Lactobacillus helveticus*; *L. paracasei*: *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*; *L. plantarum*: *Lactobacillus plantarum*; *L. reuteri*: *Lactobacillus reuteri*; *L. sakei*: *L. sakei* subsp. *carneus*; *Lc. lactis*.

Cetones

A la Taula 13 es mostra la concentració de les diferents cetones que es presenten a la llet de cabra fermentada (nano-litres per litre), en funció dels microorganismes estudiats.

A l'estudi realitzat les cetones presenten valors elevats. La quantitat d'acetoïna assoleix uns valors màxims de 684,59 nl/l per part de *L. sakei*. En quant a la 2-propanona es mou entre valors de 35,84 i 72,15 nl/l, destacant els valors més elevats per MA-400 i *Lc.lactis*. 2,3-butadodiona tenia uns valors entre 13,56 i 82,44 nl/l i la resta en concentracions més menudes. Els principals compostos volàtils capaços d'aportar el sabor desitjable són 2,3-butanodiona, acetona, acetoïna, i 2-butanona (Badingsand Neeter, 1980; Kneifel et al., 1992; Marshall, 1984; Marshall, 1993; Pourahmad and Assadi, 2005; Tamime and Deeth, 1980; Tamime and Robinson, 1985; Ulberth, 1991; Ulberth and Kneifel, 1992).

La concentració de 2,3-butanodiona és important a la llet fermentada, quantitats menudes d'aquest component pot contribuir a un agradable i delicat flavor i aroma a iogurt (Rasic and Kurman, 1978). Hi ha diferents punts de vista sobre el paper del diacetil en la formació del sabor de iogurt. Alguns investigadors consideren que és un component de sabor dominant només quan els continguts d'acetaldehid són baixos (Groux, 1973; Rysstad i Abrahamsen, 1987), mentre que uns altres els atribueixen el paper principal en la formació del sabor (Imhof et al., 1994; Kneifel et al., 1992). En el present estudi no s'ha pogut quantificar l'acetaldehid, donat que amb el seu baix pes molecular no és detectable en les condicions cromatogràfiques emprades, és per este motiu que no podem comentar els seu contingut en les llets analitzades.

La substància més comú als productes làctics és l'acetoïna, dades que es reflexen a la Taula 13.

Taula 13: Mitjanes i desviació estàndard de la concentració de cetones volàtils de les llets fermentades en nano-litres per litre

mmoo i soca	2- propanona (nl/L)	2,3- Butanediona (nl/L)	2- Butanona (nl/L)	2- Pentanona (nl/L)	3,3- Dimetil-2- Butanona (nl/L)	Acetoïna (nl/L)	2- Heptanona (nl/L)	2-Metil-3- Heptanona (nl/L)
<i>L. bulgaricus</i> CECT 4005	41,41±34,15	25,79±11,26	3,58±2,20	3,34±2,25	76,66±2,10	157,86±41,02	15,63±9,59	8,36±5,39
<i>L. casei</i> CECT 475	39,99±28,99	37,70±6,52	4,71±3,06	9,19±8,63	0	107,97±61,39	8,28±2,68	4,53±5,26
<i>L. curvatus</i> CECT 5786	35,96±41,77	13,58±10,34	1,98±2,44	1,74±1,97	0,16±0,02	68,12±58,40	7,43±7,86	14,01±12,92
<i>L. helveticus</i> CECT 541	39,29±10,84	80,59±2,58	2,72±1,24	4,63±0,38	165,42±1,89	184,60±24,31	27,42±3,53	22,55±3,34
<i>Lc. lactis</i> CECT 4042	68,83±0,31	57,16±0,50	5,41±1,78	6,70±2,10	4,36±0,24	112,78±7,83	20,21±1,51	23,74±11,38
MA400 MA-400	72,15±30,09	17,18±5,69	2,58±0,28	6,36±3,14	3,76±0,00	138,48±84,85	25,64±11,73	24,25±11,55
<i>L paracasei</i> CECT 277	46,51±7,71	72,56±25,94	2,93±0,51	5,63±3,98	1,48±0,01	90,35±24,01	14,52±5,93	35,96±13,72
<i>L. plantarum</i> CECT 5785	35,84±6,79	82,44±5,06	2,12±1,50	3,95±0,26	0,14±0,02	608,04±105,63	22,91±1,38	24,24±5,94
<i>L. reuteri</i> CECT 925	61,42±50,03	52,10±10,94	5,06±0,58	2,66±1,88	10,68±0,13	338,66±13,68	13,94±1,29	16,10±9,91
<i>L. sakei</i> CECT 5964	59,07±31,39	67,81±19,38	2,81±0,45	5,81±1,45	2,11±0,30	684,59±200,94	26,06±6,52	77,01±71,71

Nano-litres per litre = nl/L mmoo: microoganisme; *L. casei*: *Lactobacillus casei*; *L. curv*: *Lactobacillus curvatus*; *L. bulg*: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; *L. helveticus*: *Lactobacillus helvet*; *L parac*: *Lactobacillus paracasei* subsp *paracasei*; *L. plant*: *Lactobacillus*

plantarum; *L. reuteri*: *Lactobacillus reuteri*; *L. sakei*: *Lactobacillus sakei* subsp. *carneus*; *Lactococcus lactis*; *Lc. lactis*: *Lactococcus lactis* subsp *lactis*.

Aldehids

A la Taula 14 es mostra la concentració mitjana (nano-litres per litre) en d'aldehids volàtils que es troben a la llet fermentada. Els valors trobats a aquest estudi son valors molt menuts, destacant la presència en la llet fermentada per *L. sakei* subsp. *sakei* als dos compostos, 4,81 i 4,38 nl/l a l'heptanal i nonanal respectivament. En quant al nonanal, cal destacar també, ordenats de major a menor concentració per part de *L. reuteri*, MA-400 i *L. plantarum*, n els valor es troben entre 2,40 i 2,99..

Taula 14: Mitjanes i desviació estàndard de la concentració d'aldehids volàtils de les llets fermentades en nano-litres per litre

Microorganismes	Soca	Heptanal (nl)	Nonanal (nl)
<i>L. bulgaricus</i>	CECT 4005	0,07±0,09	0,81±1,15
<i>L. casei</i>	CECT 475	0±0,00	0,20±0,28
<i>L. curvatus</i>	CECT 5786	0,75±0,52	1,44±0,66
<i>L. helveticus</i>	CECT 541	0,30±0,11	1,05±0,18
<i>Lc. lactis</i>	CECT 4042	0,00±0,00	1,11±0,37
MA400	MA-400	2,08±1,69	2,84±2,27
<i>L paracasei</i>	CECT 277	0,02±0,03	1,14±0,77
<i>L. plantarum</i>	CECT 5785	1,06±1,29	2,41±2,65
<i>L. reuteri</i>	CECT 925	0,83±0,51	2,99±3,42
<i>L. sakei</i>	CECT 5964	6,81±1,44	4,38±0,60

Nano-litres per litre = nl/L; mmoo: microorganismes; *L. casei*: *Lactobacillus casei*; *L. curvatus*: *Lactobacillus curvatus*; *L. bulgaricus*: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; *L. helveticus*: *Lactobacillus helveticus*; *L paracasei*: *Lactobacillus paracasei* subsp *paracasei*; *L. plantarum*: *Lactobacillus plantarum*; *L. reuteri*: *Lactobacillus reuteri*; *L. sakei*: *Lactobacillus sakei* subsp. *carneus*; *Lactococcus lactis*; *Lc. lactis*: *Lactococcus lactis* subsp *lactis*

Àcids

A la Taula 15 es mostra la concentració (nano-litres per litre) d'àcids detectats a les diferents tipus de llet de cabra fermentades. L'àcid acètic, amb uns valors de concentració que es mouen entre 27,27 nl/l i 183,08 nl/l, és l'àcid majoritari en aquest estudi, coincidint amb altres estudis com els de Alonso i Fraga (2001); Beshkova et al., (1998); Tamime and Robinson, (1999), exceptuant l'àcid làctic. En el present estudi, *L. sakei* dona lloc a elevades concentracions d'àcid acètic, que es correlaciona amb un indesitjable olor a vinagre, cal tindre en compte que este cultiu ocasiona concentracions d'acètic 6 vegades superiors al cultiu de MA-400 que ens serveix de referència en ser un cultiu comercial. Esta elevada producció d'acètic es indesitjable i per tant descartaria a *L. sakei* per a l'obtenció de llets fermentades.

L'àcid caprílic o hexanoic, es detecta en un rang de 19,93 i 81,89 nl. Es tracta d'un component aromàtic important i que es detecta en diferents productes lactis, coincidint, aquest estudi amb el de Tong Dan et al., (2007). Els cultius fermentadors que els generen de forma diferenciada són *L. casei* i *L. helveticus*.

Els àcids de cadena llarga, com pot ser l'àcid octanoic, pot contribuir a un sabor "sabonós" (Guler, 2007; Molimar and Spinnler, 1996) i s'ha detectat en quantitats reduïdes.

En aquest cas, l'àcid isobutíric soles s'ha detectat a la mostra de *L. casei* amb un valor de 22,33 nl, i l'àcid propiònic, al mateix microorganisme, amb un valor de 5,67 nl.

Taula 15: Mitjanes i desviació estàndard de la concentració d'àcids volàtils de les llets fermentades en nano-litres per litre

Mmoo	Soca	Àcid acètic (nl)	Àcid Butíric (nl)	Àcid isovalèric (nl)	Àcid caproic (nl)	Àcid octanoic (nl)
<i>L. bulgaricus</i>	CECT 4005	27,27±3,71	1,15±1,15	0,55±0,14	17,37±5,00	1,33±0,60
<i>l. casei</i>	CECT 475	149,03±8,15	26,82±28,33	368,86±421,27	81,89±95,41	5,30±7,50
<i>L. curvatus</i>	CECT 5786	46,98±46,44	0,30±0,42	0,14±0,10	1,88±4,25	0,70±0,15
<i>L. helveticus</i>	CECT 541	52,26±15,99	1,32±0,81	10,49±14,83	65,46±4,04	4,55±2,37
<i>Lc. lactis</i>	CECT 4042	69,40±1,70	2,06±0,59	0,06±0,09	18,11±7,17	1,88±1,38
MA400	MA-400	117,76±63,60	9,07±4,02	0,00±0,00	15,93±0,94	2,78±0,90
<i>L paracasei</i>	CECT 277	141,20±51,09	4,51±4,49	0,77±0,96	14,76±8,35	2,98±1,33
<i>L. plantarum</i>	CECT 5785	113,70±8,40	3,21±4,41	22,91±14,75	26,06±11,73	5,73±1,35
<i>L. reuteri</i>	CECT 925	183,08±12,97	5,09±1,69	12,68±8,77	21,29±21,03	3,11±4,40
<i>L. sakei</i>	CECT 5964	658,66±105,70	7,00±3,97	16,57±1,23	19,11±10,25	3,53±4,99

Nano-litres per litre = nl/L; mmoo: microorganismes; *L. casei*: *Lactobacillus casei*; *L. curvatus*: *Lactobacillus curvatus*; *L. bulgaricus*: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; *L. helveticus*: *Lactobacillus helveticus*; *L paracasei*: *Lactobacillus paracasei* subsp *paracasei*; *L. plantarum*: *Lactobacillus plantarum*; *L. reuteri*: *Lactobacillus reuteri*; *L. sakei*: *Lactobacillus sakei* subsp. *carnosus*; *Lactococcus lactis*; *Lc. lactis*: *Lactococcus lactis* subsp *lactis*

Hidrocarburs

A la Taula 16 es mostra la concentració d'hidrocarburs aromàtics (nano-litres per litre) de les diferents mostres. Els principals hidrocarburs que es troben a les llets fermentades estudiades, són l'octà, i el 4,7-dimetilundecà, que es troben en concentracions entre 6,27 i 179,38 nl i 6,68 i 30,73 nl respectivament. Els valors més elevats d'octà i α -pinene es detecten a la llet fermentada per *L. helveticus* i *L. sakei*. Hi ha una gran variabilitat en les concentracions observades que dificulta treure'n conclusions.

Taula 16: Mitjanes i desviació estàndard de la concentració d'hidrocarburs volàtils de les llets fermentades en nano-litres per litre

mmoo	SOCA	Octà (nl)	α -Pinene (nl)	Heptà (nl)	4,7-dimetilundecà (nl)	Tridecà (nl)
<i>L. bulgaricus</i>	CECT 4005	60,35±77,58	1,53±1,28	0,38±0,39	22,84±23,46	8,72±7,18
<i>L. casei</i>	CECT 475	6,27±7,46	0±0	0±0	12,85±9,33	0,65±0,92
<i>L. curvatus</i>	CECT 5786	22,02±31,14	0,42±0,22	0,19±0,27	6,68±7,95	2,40±0,92
<i>L. helveticus</i>	CECT 541	179,38±169,09	2,24±0,97	0±0	30,73±16,64	4,20±5,78
<i>Lc. lactis</i>	CECT 4042	46,84±51,71	1,58±0,18	0,62±0,08	18,34±15,44	2,50±1,21
MA400	MA-400	99,87±61,52	1,58±0,18	1,02±1,44	26,07±7,46	2,39±1,48
<i>L. paracasei</i>	CECT 277	14,27±2,03	0,92±0,97	0,63±0,82	10,32±9,80	4,25±3,55
<i>L. plantarum</i>	CECT 5785	76,32±89,99	1,47±1,44	1,16±1,44	8,55±9,14	7,83±2,44
<i>L. reuteri</i>	CECT 925	59,13±1,13	0,42±0,44	0,25±0,35	23,36±4,99	6,48±4,50
<i>L. sakei</i>	CECT 5964	174,91±67,09	2,37±0,80	0±0	36,80±8,38	4,29±1,67

Nano-litres per litre = nl/L; mmoo: microorganismes; *L. casei*: *Lactobacillus casei*; *L. curvatus*: *Lactobacillus curvatus*; *L. bulgaricus*: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; *L. helveticus*: *Lactobacillus helveticus*; *L. paracasei*: *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*; *L. plantarum*: *Lactobacillus plantarum*; *L. reuteri*: *Lactobacillus reuteri*; *L. sakei*: *Lactobacillus sakei* subsp. *carnosus*; *Lactococcus lactis*; *Lc. lactis*: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*

Sulfurs

A la Taula 17 es mostra la concentració de DMS (nano-litres per litre) en funció dels microorganismes estudiats.

La concentració de DMS es mou entorn el valor 0 i 7,52 nL. S'evidencia que hi ha una major concentració en la llet fermentada per *L. casei* (C475). Aquest compost es troba de forma natural en la llet crua i, a més a més, pot ser format per la desnaturalització per calor de les proteïnes làctiques (Vazquez-Landaverde, 2005), cal recordar que la llet es sotmetia a pasteurització abans de la fermentació.

Taula 17: Mitjanes i desviació estàndard de la concentració de sulfurs de les llets fermentades en nano-litres per litre

Microorganisme	Soca	DMS (nl)
<i>L. bulgaricus</i>	CECT 4005	6,12±3,18
<i>Lc. casei</i>	CECT 475	7,52±5,98
<i>L. curvatus</i>	CECT 5786	0±0
<i>L. helveticus</i>	CECT 541	0±0
<i>L. lactis</i>	CECT 4042	0±0
MA400	MA-400	3,74±5,29
<i>L. paracasei</i>	CECT 277	1,21±1,71
<i>L. plantarum</i>	CECT 5785	3,19±1,71
<i>L. reuteri</i>	CECT 925	2,91±0,49
<i>L. sakei</i>	CECT 5964	4,50±0,56

Nano-litres per litre = nl/L; mmoo: microorganismes; *L. casei*: *Lactobacillus casei*; *L. curvatus*: *Lactobacillus curvatus*; *L. bulgaricus*: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; *L. helveticus*: *Lactobacillus helveticus*; *L. paracasei*: *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*; *L. plantarum*: *Lactobacillus plantarum*; *L. reuteri*: *Lactobacillus reuteri*; *L. sakei*: *Lactobacillus sakei* subsp. *carnosus*; *Lactococcus lactis*; *Lc. lactis*: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*

En el futur caldría correlacionar els resultats del perfil de volàtils en l'anàlisi sensorial, en el present estudi no va ser possible realitzar esta determinació donada la gran quantitat de variables i mostres per a processar en un curt període de temps. Es va prendre de la decisió de treballar amb variables objectives, però l'experiència en la manipulació de les mostres confirma els olors estranys o desviats ocasionats especialment per *L. sakei* i *L. reuteri*.

4.5 Àcids grassos totals

S'estudiaren els àcids grassos totals de la llet i les diferents llets fermentades i es presenten agrupats en funció del grau d'insaturació: àcids grassos saturats (SFA), àcids grassos mono-insaturats (MUFA), els àcids grassos poli-insaturats (PUFA), l'àcid gras insaturat 18:1 i l'àcid linoleic conjugat (CLA). Tot i que s'obtingueren resultats per a cadascun dels àcids de forma individual, en no trobar diferències significatives es decidí agrupar-los per a simplificar la presentació i divisió.

A la Taula 18 es mostren les dades dels àcids grassos saturats obtingudes de llet no sotmesa a fermentació i de les distintes llet fermentades per cadascun dels microorganismes seleccionats. En aquest cas, els valors són similars en tots els tipus de llet i no es detectaren diferències significatives degudes al microorganisme coincidint amb Trigueros et al (2014), tot i que al seu estudi es va detectar que la fermentació afavoria el contingut en CLA.

Taula 18: Mitjanes i desviació estàndard de la concentració de sulfurs de les llets fermentades

mmoo	SFA	MUFA	PUFA	SUMA 18:1	CLA
Llet	64,23±1,05	30,12±1,20	5,65±0,18	29,32±1,22	1,31±0,08
<i>L. plantarum</i> CECT 5785	64,47±0,88	29,68±0,97	5,84±0,18	28,88±0,97	1,37±0,07
<i>Lc. casei</i> CECT 475	64,46±0,96	29,75±1,06	5,79±0,18	28,97±1,03	1,34±0,11
<i>L. helveticus</i> CECT 541	64,19±0,69	29,94±0,72	5,74±0,09	29,15±0,69	1,33±0,04
<i>L. bulgaricus</i> CECT 4005	64,37±0,84	29,66±0,99	5,80±0,18	28,93±0,99	1,36±0,07
<i>L paracasei</i> CECT 277	64,66±0,81	26,53±5,22	8,80±6,01	28,82±0,87	1,35±0,06
MA40 MA-400	65,32±0,24	29,64±1,33	4,95±1,64	28,86±1,29	1,35±0,11
<i>L. lactis</i> CECT 4042	64,06±0,90	30,15±0,89	5,79±0,15	29,36±0,87	1,38±0,09
<i>L. curvatus</i> CECT 5786	64,49±0,91	29,73±0,97	5,78±0,17	28,93±0,89	1,36±0,07
<i>L. sakei</i> CECT 5964	64,40±1,09	29,75±1,11	5,84±0,20	28,98±1,10	1,37±0,05
<i>L. reuteri</i> CECT 925	64,84±0,61	29,39±0,73	5,77±0,13	28,75±0,66	1,38±0,06

Nano-litres per litre = nl/L; mmoo: microorganismes; *L. casei*: *Lactobacillus casei*; *L. curvatus*: *Lactobacillus curvatus*; *L. bulgaricus*: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; *L. helveticus*: *Lactobacillus helveticus*; *L. paracasei*: *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*; *L. plantarum*: *Lactobacillus plantarum*; *L. reuteri*: *Lactobacillus reuteri*; *L. sakei*: *Lactobacillus sakei* subsp. *carneus*; *Lactococcus lactis*; *Lc. lactis*: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*

SFA: C6:0 + C8:0 + C10:0 + C12:0 + C13:0 + C14:0 + C15:0 + C16:0 + C18:0 + C19:0 + C20:0 + C21:0

MUFA: C14:1 + C15:1 + C16:1 + C17:1 + C18:1 Cis + C18:1 Trans, C20:1 + C22:1

PUFA: C16:2 + C18:2n6c + C18:2n6t + GLA + ALA + CLA 9c11t + CLA 10c12t + C20:4 + C20:5 + C22:6

CLA TOTAL: CLA 9c11t + CLA 10c12t

La llet de cabra conté grans proporcions dels anomenats “àcids grassos de cabra” caproic (C6:0), caprílic (C8:0) i càpric (C10:0) comparant-los amb la llet de la resta de ruminants (Chilliard et al., 2003). Aquests àcids grassos característics en la llet de cabra est troben inclosos al grup de SFA, sent el grup majoritari. Els àcids grassos saturats (SFA) observats a l'estudi realitzat, es mouen en valors similars, entre 64,06 i 65,32.

L'àcid linoleic conjugat (CLA) és considerat saludable per a la salut dels consumidors (Kromhout et al., 2010). La quantitat de CLA en les mostres de llet fermentades per les diferents soques no varia notablement, els valors es mouen entre 1,31 i 1,37. Les dades per a establir una quantitat de CLA que aporte beneficis als humans són insuficients

(Siurana and Calsamiglia, 2016). Investigacions anteriors suggereixen que fer servir bacteris làctics, entre les quals es troben les estudiades, poden fer incrementar el contingut de CLA al iogurt (Sieber et al., 2004; Lin, 2003; Xu et al., 2005). La revisió que va aportar Sieber et al (2004) també informa que és possible que no en tots els casos les soques de lactobacils poden convertir l'àcid linoleic en CLA, especialment quan es tracta de l'elaboració de productes lactis com el iogurt i el formatge. Gorissen et al. (2012) tampoc no van trobar increment en la concentració de CLA quan la llet va ser fermentada en diferents soques de bifidobactèries i cultius de iogurt. La formació de CLA per eixes soques es pot veure potenciada per la adició de precursors com ara oli de girasol hidrolitzat (Trigueros et al., 2014).



4.6 Àcids orgànics i sucres

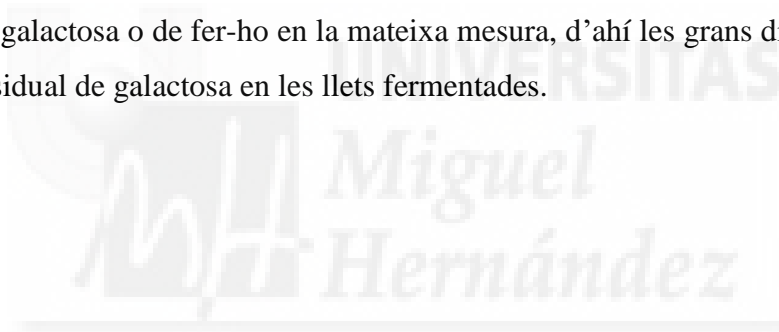
A l'estudi es van analitzar l'àcid làctic, la lactosa, la glucosa i la galactosa, valors que es presenten a la (Taula 19). Els àcids orgànics són indicadors importants de l'activitat metabòlica bacteriana en llets fermentades i també contribueixen al sabor del producte juntament amb altres compostos volàtils i semi-volàtils com el diacetil i l'acetaldehid (Adhikari, Grün, Mustapha, & Fernando, 2002). La determinació quantitativa d'àcids orgànics és important per controlar el creixement i l'activitat bacteriana, però també perquè són importants com a conservants naturals i per a les característiques sensorials del producte (Serra et al., 2009).

Taula 19 Percentatge de lactosa, glucosa i àcid l'actic de la llet fermentada

<i>Microorganisme i soca</i>	<i>Lactosa (g/100 g)</i>	<i>Galactosa (g/100g)</i>	<i>Glucosa (g/100g)</i>	<i>Àcid làctic (g/100g)</i>
<i>L. casei</i> CECT 475	3.35 ^b ±0.05	0.38 ^a ±0.05	ND	0.40 ^a ±0.12
<i>L. curvatus</i> CECT 5786	3.09 ^a ±0.09	0.82 ^b ±0.17	0.66 ^b ±0.13	0.65 ^b ±0.06
<i>L. bulgaricus</i> CECT 4005	2.76 ^a ±0.06	2.09 ^c ±0.10	0.79 ^b ±0.04	0.60 ^b ±0.05
<i>L. helveticus</i> CECT 541	3.22 ^b ±0.13	1.82 ^c ±0.12	0.67 ^b ±0.05	0.62 ^b ±0.07
<i>L. paracasei</i> CECT 277	2.89 ^a ±0.08	ND	ND	0.64 ^b ±0.08
<i>L. plantarum</i> CECT 5785	3.31 ^b ±0.01	1.46 ^c ±0.06	0.24 ^a ±0.06	0.48 ^a ±0.01
<i>L. reuteri</i> CECT 925	3.20 ^a ±0.02	1.00 ^b ±0.07	0.38 ^a ±0.03	0.47 ^a ±0.07
<i>L. sakei</i> CECT 5964	2.94 ^a ±0.15	ND	ND	0.86 ^c ±0.06
<i>Lc. lactis subsp. lactis</i> CECT 4042	2.86 ^a ±0.01	2.08 ^c ±0.21	ND	0.72 ^c ±0.05
MA-400 MA-400	3.03 ^a ±0.10	0.13 ^a ±0.03	ND	0.56 ^a ±0.07
GS ¹	*	***	***	***

¹GRAU DE SIGNIFICACIÓ *** $P < 0.001$; * $P < 0.05$; ns not significant. ND: no detectada Nano-litres per litre = nl/L; mmoo: microorganismes; *L. casei*: *Lactobacillus casei*; *L. curvatus*: *Lactobacillus curvatus*; *L. bulgaricus*: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; *L. helveticus*: *Lactobacillus helveticus*; *L. paracasei*: *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*; *L. plantarum*: *Lactobacillus plantarum*; *L. reuteri*: *Lactobacillus reuteri*; *L. sakei*: *Lactobacillus sakei* subsp. *carnosus*; *Lactococcus lactis*; *Lc. lactis*: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*

L'àcid orgànic més abundant a les llets fermentades és l'àcid làctic. Els valors es troben entre 0,40 i 0,64 g/100g, on *L. casei* és la soca que menys àcid làctic produeix, seguit de *L. plantarum* i *L. reuteri*, de forma conseqüent amb el seu major pH ja comentat en anterioritat. *L. paracasei* és el major productor de làctic, exceptuant, els valors més elevats els proporcionen *L. sakei* i *Lc. lactis* amb 0,72 i 0,86g/100g respectivament. Aquestes dades s'assemblen a les de l'estudi de Costa et al (2016) on la mitjana de l'àcid làctic al iogurt de cabra estudiat era de 0,475 g/100g. En tots els sucres estudiats, la lactosa és el majoritari. Els valors finals de lactosa es mouen entre 2,76 mg/100g per al *L. bulgaricus* i 3,35 per al *L. casei*. Els valors són similars als d'altres estudis (Costa et al (2016). Durant la fermentació, la quantitat de lactosa disminueix, per l'acció dels microorganismes, que és hidrolitzada en galactosa i glucosa. Aquests valors són baixos, no detectant-se en alguna de les mostres. Els valors de la glucosa es comprenen entre 0,24 i 0,72 g/100g i la galactosa entre 0,13 i 2,09 g/100g, sent, en els dos casos, *L. helveticus* el que més quantitat produeix. No tots el microorganismes són capaços de fermentar la galactosa o de fer-ho en la mateixa mesura, d'ahí les grans diferències en el contingut residual de galactosa en les llets fermentades.



5. CONCLUSIONS

A la vista dels resultats obtinguts es pot concloure que:

La capacitat d'acidificació del cultiu mixt MA-400 és la millor front a les soques pures estudiades, mentre que *L. reuteri* és la soca que requereix temps més llargs de fermentació i per tant major rics de desviació de la fermentació i contaminació dels cultius. El pH final de les llets fermentades es situa al voltant de 4,6 tret de les fermentades per *L. reuteri* i *L. plantarum* que proporcionen majors pH degut a la seua menor formació d'àcid làctic.

Els major recomptes de bacteris làctics es donen pel cultiu mixte MA-400, junt amb *L. paracasei* i *Lc. lactis*. *L. bulgaricus* és la soca amb menor creixement en llet fermentada de cabra.

L'estabilitat del gel es veu afavorida per l'ús del cultiu mixte MA-400 que minimitza les pèrdues de proteïna al xerigot. Les llets fermentades per *Lc. lactis* i *L. helveticus* tenen les menors pèrdues de xerigot i per tant major estabilitat del gel. Per altra banda, *L. reuteri* dona lloc als gels més inestables (una major pèrdua de xerigot).

Els microorganismes MA-400, *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. helveticus* i *Lc. Lactis* donen lloc a les llets fermentades amb major contingut de compostos aromàtics desitjables (l'etanol, 2-3 butanodiona i 2-propanona) i per tant, teòricament, als millors perfils aromàtics.

Els cultius emprats no modifiquen el perfil general d'àcids grassos de la llet de cabra ni el seu contingut en CLA.

Amb les dades estudiades, cal destacar que el cultiu mixt MA-400, *L. paracasei*, *Lc lactis*, i *L. helveticus* són els microorganismes que han aportat unes característiques més desitjables a les llets fermentades i per tant són les millors opcions d'ús en llet de cabra. Per altra banda, *L. reuteri* i *L. sakei* són les soques que donen lloc a llets fermentades de pitjor qualitat (recomptes, estabilitat i perfil aromàtic).

6. BIBLIOGRAFÍA

Abo-Donia F.M. Effects of tannins on the fatty acid profiles of rumen fluids and milk from lactating goats fed a total mixed ration containing rapeseed oil. *Livestock science* 204 (2017) pp. 16-24

Acero, M.P., López, M. B., Garrido, M.D., García, R.M. & Consuegra, A.J. (2000). Estudio de la calidad y aptitud tecnológica de la leche de cabra en la provincia de Almería. *Mamitis y calidad de leche*. Murcia: Diego Marín. 251-259.

Adhikari K. Changes in the profile of organic acids in plain set and stirred yogurts during manufacture and refrigerated storage. *Journal of food quality*. (2002)

Alonso, L., and Fraga, M. J. Simple and rapid analysis for quantitation of the most important volatile flavor compounds in yogurt by headspace gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. Sci.* 39 (2001). 297–300.

Badings, H. T., and Neeter, R. Recent advances in the study of aroma compounds of milk and dairy products. *Neth. Milk Dairy J.* 34(1980) pp. 9–30.

BEDCA (2017). Base de datos. Disponible en: <http://www.bedca.net/bdpub/index.php>

Beshkova, D., Simova, E., Frengova, G., and Simov, Z. Production of flavour compounds by yogurt starter cultures. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 20 (1998). 180–186.

Cano-Lamadrid. Anthocyanins decay in pomegranate enriched fermented milks as a function of bacterial strain and processing conditions. *Food science and technology* 80 (2017) pp. 193-199

Chacón, A. (2005). Aspectos nutricionales de la leche de cabra (*Capra hircus*) y sus variaciones en el proceso agroindustrial. *Agronomía Mesoamericana*, 16(2), 239-252.

CHENG H. Volatile flavor compounds in yogurt: a review. *Food Science and Nutrition* 50;10 (2010) pp. 939-950

Chiliard Y.A. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *J Dairy Sci.* 86 (2003) pp. 1751-1770

Codex Alimentarius, 2008. DIRECTRICES PARA EL USO DE AROMATIZANTES. CAC/GL 66-2008.

- Costa M. S Simultaneous analysis of carbohydrates and organic acids by HPLC-DAD-RI for monitoring goat's milk yogurts fermentation. *Talanta* 152 (2016) pp162/170
- Dayangaç A. and Erdem B. The metabolic relationships between probiotics and fatty acids. *Acta physica polonica* 132 (2017) pp. 816-818
- Falagán, A. & Mateos, E. (1996). Capítulo VIII: La producción de leche de cabra. En C. Buxadé. *Zootecnia: Bases de producción animal*. Tomo IX (pp. 133-143). Madrid, España. Mundiprensa.
- Gädrig, S. Conjugated linoleic acid (CLA): physiological effects and production. *European Journal of lipid science and technology* 103 (2001) pp 56-61
- Georgala, A. I. K. Flavour production in ewe's milk and ewe's milk yoghurt, by single strains and combinations of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, isolated from traditional Greek yoghurt. *Lait* 75 (1995) pp. 271–283.
- Gorissen L. Conjugated linoleic and linolenic acid productions kinetics by bifidobacterial differ among strains. *International journal of food microbiology*. Vol 155 N° 3 (2012) pp. 234-240
- Guler, Z. Changes in salted yoghurt during storage. *Int. J. Food Sci. Technol.* 42 (2007). 235–245
- Imhoff P.T. An experimental study of complete dissolution of a nonaqueous phase liquid in saturated porous media. *Water Resources Research* Vol 30 N°2 (1994) pp. 307-320
- Inglingstad R.A, Feeding a concéntrate rich in rapeseed oil improves fatty acid composition and flaor in Norwegian goat milk. *Journal Dairy Science*, vol. 100 N° (2017) pp7088-7105.
- Inglingstad R.A. Grazing season and forage type influence goat milk composition and rennet coagulation properties. *Journal of Dairy Science* Vol. 97 N°6 (2014) pp. 3800-3814
- INLAC, 2017. Organización interprofesional láctea. EL SECTOR LÁCTEO EN ESPAÑA. Datos de producción, industria y consumo 2008-2015.

Kholif A.E., Effect of feeding diets with processed Moringa oleifera meal as protein source in lactating Anglo-Nubian goats. *Animal Feed Science and Technology* 2017 (2016) pp. 45-55

Kholif A.E. of supplementing diets of anglo-nubian goats with soybean and flaxseed oils on lactation performance. *Journal of agricultural and food chemistry*. 64 (2016) pp. 6163-6170

Kholif A.E. Moringa oleifera leaf meal as a protein source in lactating goat's diets: feed intake, digestibility, ruminal fermentation, milk yield and composition, and its fatty acids profile. *Small ruminants research*. 129 (2015) pp. 129-137

Kneifel, W., Ulberth, F., Erhard, F., and Jaros, D. Aroma profiles and sensory properties of yogurt and yogurt-related products. I. Screening of commercially available starter cultures. *Milchwissenschaft* 47 (1992). 362–365.

Kromhout n–3 Fatty Acids and Cardiovascular Events after Myocardial Infarction. *The new england journal of medicine* (2010)

Lin T Y Influence of lactic cultures, linoleic acid and fructo-oligosaccharides on conjugated linoleic acid concentration in non-fat set yogurt. *Australian Journal of Dairy Technology* 58 (2003) 11–14.

MAPAMA. (2017). El sector del ovino y caprino de leche en cifras: Principales indicadores económicos, septiembre 2017.

http://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/indicadoreseconomicosdelsectorovinoycaprinodeleche-sept2017_tcm7-439813.pdf

MAPAMA (2017) Situación de mercado. Sector ovino y caprino de leche. Octubre 2017

http://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/situaciondemercado-sectorialovinoyleche_tcm7-468437.PDF

Mariaca, R. G., and Bosset, J. O. Instrumental analysis of volatile (flavour) compounds in milk and dairy products. *Lait* 77 (1997) pp. 13–40.

Marshal, V.M. Flavour compounds in fermented milks. *Perfunner & Flavorist* 7 (1982) pp. 27-34

- Marshall, V. M. Flavour development in fermented milks. In: *Advances in the Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk*. (1984) pp. 153–186. Davies, F. L. and Law, B. A., Eds., Elsevier Applied Science Publishers, London, UK.
- Marshall, V. M.. Starter cultures for milk fermentation and their characteristics. *J. Soc. Dairy Technol.* 46 (1993) 49–56.
- Martin-Diana A.B. Development of a fermented goat's milk containing probiotic bacteria. *International dairy journal* 13 (2003) pp. 827-833
- Mataix, J., García, L., Mañas, M., Martínez, E. & Llopis, J. (2009). *Tabla de composición de alimentos*. 5º Ed. Granada, España. Universidad de Granada
- McGorin, R. J. *Advances in dairy flavor chemistry*. In: *Food Flavors and Chemistry: Advances of the New Millennium*. (2001). pp. 67–84. Spanier, A.M., Shahidi, F., Parliment, T. H., and Ho, C.-T., Eds., Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK
- Molimard, P., and Spinnler, H. E. Compound involved in the flavor of surface mold-ripened cheeses: origins and properties. *J. Dairy Sci.* 79 (1996).169–184.
- Moreiras, O. Carbajal, A. Cabrera, L. & Cuadrado, C. (2013). *Tabla de composición de alimentos*. 16 Ed. Madrid, España: Piramide
- Morgan F. Characteristics of goat milk collected from small and médium enterprises in Greece, Portugal and France. *Small ruminant research* 47 (2003) pp. 39-49
- Muelas R. Milk technological properties as affected by including artichoke by-products silages in the diet of dairy goats. *Foods* 2017, 6, 112
- Ott A. Determination and origin of the aroma impact compounds of yogurt flavor. *J. Agric. Food Chemi* 52 (1997) pp. 415-420
- Pariza, M.W. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progress in lipid research.* 40 (2001) 283-298.
- Park, Y., Juárez, M., Ramos, M. & Haenlein, G. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68(1-2), (2007). Pp. 88-113.
- Pescuma M,. Whey fermentation by thermophilic lactic acid bacteria: Evolution of carbohydrates and protein content. *Food Microbiology* 25(2008) pp. 442-451

Pinheiro R. Growth, organic acids profile and sugar metabolism of *Bifidocacterium lactis* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*: The inulin effect. *Food Research International* 48 (2012) pp. 12-27

Remeur, F. Etude des relations entre les caractéristiques physico—chimiques des laits de chèvre et leur aptitude à la coagulation par la présure. *Lait*. 69 (1989) 499-518

Rincón A.A. Effect of the inclusión of banana silage in the diet goats on physicochemical and sensory characteristics of cheeses fat different ripening times. *Small ruminant research* 149 (2017) pp. 52-61

Romeu-Nadal, M., Morera-Pons, S., Castellote, A. & López-Sabater, M.. Comparison of two methods for the extraction of fat from human milk. *Analytica Chimica Acta*, 513(2), (2004) pp.457-461.

Romero M. Can by-products replace conventional ingredients in concéntrate of dairy goat diet. *Journal of Dairy Science* Vol 100 N° 6 (2017) pp. 4500-4512

Romero M. Nutrient utilization, ruminal fermentation, microbial abundances, and milk yield and composition in dairy goats fed diets including tomato and cucumber waste fruits. *Journal of Dairy Science*. 95 N° 9 (2012) pp. 6015-6026

Rysstad, G., and Abrahamsen, R. K. Formation of volatile aroma compounds and carbon dioxide in yoghurt starter grown in cow's and goats' milk. *J. Dairy Res.* 54 (1987) pp. 257–266.

Serra ; Flavour profiles and survival of starter cultures of yoghurt produced from high-pressure homogenized milk. *International dairy journal*. Vol. 19 N° 2 (2009) pp. 100-106

Sieber R, Collomb M, Aeschlimann A, Jelen P and Eyer H. Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products a review. *International Dairy Journal* 14 (2004) 1–15.

Silanikove, N., Leitner, G., Merin, U. & Prosser, C. Recent advances in exploiting goat's milk: Quality, safety and production aspects. *Small Ruminant Research*, 89(2-3), (2010) pp.110-124.

- Siurana and Calsamiglia, A metaanalysis of feeding strategies to increase the linoleic acid in dairy cattle milk and the impact on daily human consumption. *Animal feed science and thecnology*. 217 (2016) 13-26
- Tamime, A. and Deeth, H. Yogurt: Technology and Biochemistry. *J. Food Protect.* 43: (1980) pp. 939-977.
- Tamime, A. Y., and Robinson, R. K.. *Yogurt: Science and Technology*. Pergamon Press, Oxford, UK (1985)
- Tamime, A. Y., and Robinson, R. K. *Yoghurt Science and Technology* (2nd Ed.). CRC Press, Boca Raton, FL. (1999).
- Trigueros L. Antioxidant Activity and protein- Polyphenol interactions in pomegranate (*Punica granatum L.*) yogurt. *Agricultural and food chemistry* 62 (2014) pp. 6417-6425
- Trigueros L. Conjugated linoleic acid content in fermented goat milk as affected by the sstarter culture and the presence of free linoleic acid. *International Journal of Dairy technoloty*. Vol 67 (2014)
- Trigueros, L. & Sendra, E. Fatty acid and conjugated linoleic acid (CLA) content in fermented milks as assessed by direct methylation. *LWT - Food Science and Technology*, 60(1), (2015) pp. 315-319.
- Trigueros L. Production of low-fat yogurt with quince (*Cydonia oblonga Mill.*) scalding wáter. *LWT-Food Science and Technology*. 44 (2011) pp. 1388-1395
- Trigueros L. Use of date (*Phoenix dactylifera L.*) blanching wáter for reconstituting milk poder: Yogurt manufacture. *Food and Bioproducts processing* 90 (2012) pp. 506-514
- Tong Dan. Profiles of volatile flavor compounds in milk fermented with different proportional combinations of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. *Molecules* 22 (2017) 1633
- Tunick, M. H., Iandola, S. K., Van Hekken D. L.,. Comparison of SPME Methods for Determining Volatile Compounds in Milk, Cheese, and Whey Powder. *Foods*, 2 (2013) pp. 534-543.

Ulberth, F. Headspace gas chromatographic estimation of some yogurt volatiles. *J. Assoc Off. Anal. Chem.* 74 (1991) pp. 630–643.

Ulberth, F., and Kneifel, W. Aroma profiles and sensory properties of yogurt and yogurt-related products. II. Classification of starter cultures by means of cluster analysis. *Milchwissenschaft* 47 (1992). 432–434.

Vazquez- Landaverde. Quantitative determination of thermally derived oof-flavor compounds in milk using solid-phase microextraction and gas chromatography.

Vicente F. Capacity of milk composition to identify the feeding system used to feed dairy cows. *Journal of Dairy Research* 84 (2017) pp. 254-263

Walstra P. The syneresis of curd. I. General considerations and literatura review. *Neth. Milk dairy J.* 39 (1985) pp. 209-246

Xu S, Boylston T D and Glatz B A Conjugated linoleic acid content and organoleptic attributes of fermented milk products produced with probiotic bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 3(2005) 9064–9072.

