

**INFLUENCIA DE DIFERENTES CEPAS PROBIÓTICAS Y EL TIEMPO DE
FERMENTACIÓN EN EL CONTENIDO DE ACIDO LINOLÉICO CONJUGADO Y EL
PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DURANTE EL ALMACENAMIENTO DEL KUMIS
ELABORADO CON DOS SUSTRATOS DIFERENTES**

JULIAN ADOLFO OSORIO GARCIA

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
MAESTRIA EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
MEDELLIN
2010**

**INFLUENCIA DE DIFERENTES CEPAS PROBIÓTICAS Y EL TIEMPO DE
FERMENTACIÓN EN EL CONTENIDO DE ACIDO LINOLÉICO CONJUGADO Y EL
PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DURANTE EL ALMACENAMIENTO DEL KUMIS
ELABORADO CON DOS SUSTRATOS DIFERENTES**

JULIAN ADOLFO OSORIO GARCIA

Tesis para optar al título de Magíster en Ciencia y Tecnología de Alimentos

**Director
Carlos Fernando Novoa Castro
Profesor Asociado
Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos – ICTA
Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
MAESTRIA EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
MEDELLIN
2010**

Tabla de contenido

RESUMEN	8
ABSTRACT	9
INTRODUCCIÓN	10
1.1 OBJETIVOS	12
OBJETIVO GENERAL.....	12
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	12
1.2. MARCO DE REFERENCIA.....	13
1.2.1. El Sector lácteo Colombiano en el contexto mundial:	13
1.2.2. Alimentos Funcionales:.....	16
1.2.3. Derivados lácteos funcionales:.....	18
1.2.4 Grasa láctea:.....	19
1.2.5 Acido linoleico conjugado (ALC)	23
1.2.5.1 ALC en diferentes alimentos:.....	27
1.2.5.2 Consumos estimados de ALC y consumos recomendados:	28
1.2.5.3 ALC en bebidas lácteas fermentadas:	30
1.2.6. Kumis:.....	36
1.3.1 Diseño experimental:.....	37
1.3.2 Análisis Sensorial:	38
1.3.3 Elaboración de las muestras de Kumis:	39
1.3.4 Variables estudiadas:	40
1.3.4.1 Sustratos:	40
1.3.4.2 Microorganismos:	41
1.3.4.3 Tiempos de fermentación:	43
1.3.4.4 Almacenamiento: Se llevó a cabo a temperatura controlada de 4°C	43
1.3.5 Metodologías analíticas:	43
1.3.5.1 Extracción de la materia grasa:.....	43
1.3.5.3 Cuantificación de ésteres metílicos de ácidos grasos:	44
1.3.5.4 Determinación del pH:.....	44
1.3.5.5 Medidas reológicas:.....	44

1.4 Resultados.....	47
1.4.2 Kumis.....	48
1.4.2.1 pH.....	48
1.4.2.2 Índice de consistencia k e índice de flujo n.....	50
1.4.3 Ácidos Grasos.....	53
1.4.3.1. Concentraciones de ALC.....	53
1.4.3.2. Concentraciones de ácido linoleico.....	58
1.4.3.3. Aspectos generales del perfil de ácidos grasos.....	62
1.4.4. Análisis sensorial.....	63
1.4.4.1 Prueba triangular.....	63
1.4.4.2. Prueba descriptiva.....	64
1.4.4.3. Prueba de consumidores.....	65
1.4.4 Artículos.....	68
1.4.5. Participación en eventos.....	69
1.4.6. Trabajos relacionados en edición para publicación:.....	70
2. Conclusiones.....	71
3. Recomendaciones.....	73
4. Bibliografía.....	74
Anexo 1. Perfiles de ácidos grasos de los sustratos de partida para las fermentaciones.....	86
Anexo 2. Perfiles de ácidos grasos de las muestras de kumis elaboradas.....	88
Anexo 3. Parámetros fisicoquímicos determinados pH, índice de consistencia K en Pascales por segundo (Pa/s) y el índice de flujo n.....	104
Anexo 4. Formatos de evaluación sensorial y preparación de los panelistas entrenados.....	113
Anexo 5. Salidas del soft Ware SAS para los análisis estadísticos.....	119

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Valores medios de los contenidos de ácidos grasos mayoritarios de la grasa láctea.....	21
Tabla 2. Composición grasa láctea.....	23
Tabla 3. Propiedades funcionales reportadas del ALC.....	26
Tabla 4. Contenido de ALC en diferentes alimentos (Fritsche, 1998).....	27
Tabla 5. Consumo promedio de ALC en diferentes países.....	28
Tabla 6. Consumo promedio de ALC en Colombia.....	30
Tabla 7. Composición de la leche en polvo, reportada por el fabricante	39
Tabla 8. Formulaciones para la preparación de los sustratos	40
Tabla 9. Pruebas fisicoquímicas para la caracterización del los sustratos.....	41
Tabla 10. Microorganismos utilizados en la fermentación.....	42
Tabla 11. Características microbiológicas de los cultivos usados.....	42
Tabla 12. Características del sistema sensor SVII.....	45
Tabla 13. Valores de los parámetros de control para las leches reconstituidas	47
Tabla 14. <i>Concentración de ácido linoleico y ALC en los sustratos de partida</i>	47
Tabla 15. Variación de la concentración de ALC en los diferentes ensayos de kumis sin adición de aceite, durante su almacenamiento a 4°C.....	57
Tabla 16. Variación de la concentración de ALC en los diferentes ensayos de kumis con adición de aceite, durante su almacenamiento a 4°C. [ALC] en (mg AG/g grasa) ...	58
Tabla 17. Resultados de las pruebas discriminatorias triangulares.	64
Tabla 18. Resultados estadísticos para las pruebas descriptivas.	64

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ruta metabólica para la producción de ALC en el rumen y la glándula mamaria a partir de ácido linoleico (C18:2 cis 9 cis 12)	24
Figura 2. Ruta metabólica para la producción de ALC en el rumen y la glándula mamaria a partir de ácido α -linoleico	24
Figura 3. Ruta metabólica propuesta para la biohidrogenación con <i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> (Kepler 1966)	25
Figura 4 Ruta metabólica propuesta para la bio isomerización de ALC por <i>L. Acidophilus</i> .(tomado de Ogawa 2005.....	35
Figura 5 Esquema del procedimiento para la elaboración de los kumis.	39
Figura 6 pH promedio para los diferentes cultivo n=72. Promedios con letras diferentes representan diferencias significativas, prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).....	48
Figura 7 pH promedio por tiempos de fermentación	49
Figura 8 pH promedio por tiempos de almacenamiento	50
Figura 9. Cambios de pH de las muestras estudiadas durante el almacenamiento a 4°C. 51	
Figura 10. Cambios en el índice de consistencia de las muestras estudiadas durante el almacenamiento a 4°C.	52
Figura 11. Variación de la concentración de ALC en los diferentes ensayos de kumis durante su almacenamiento a 4°C.	54
Figura 12 Concentración promedio de CLA para los diferentes cultivos	55
Figura 13. Concentración promedio de ALC para los diferentes tiempos de fermentación.....	55
Figura 14. Concentración promedio de ALC para los diferentes tiempos de almacenamiento ..	56
Figura 15. Variación de la concentración de ácido linoleico en los diferentes ensayos de kumis durante su almacenamiento 4°C.	59
Figura 16. Concentración promedio de ALC para los diferentes tiempos de almacenamiento ...	60
Figura 17. Concentración promedio de ALC para los diferentes tiempos de almacenamiento .	61
Figura 18. Concentración promedio de ALC para los diferentes tiempos de almacenamiento .	61

Figura 19. Resultados de la calificación realizada por consumidores para los diferentes tipos de kumis. 66

Figura 20. Resultados de la aceptación de consumidores para los diferentes tipos de kumis. 67

RESUMEN

El ácido linoleico conjugado (ALC) es un grupo de ácidos grasos esenciales de gran interés en los últimos años, debido a los numerosos efectos benéficos sobre la salud humana. El ALC se encuentra principalmente en la leche y derivados lácteos, y se ha planteado que podría incrementarse durante la fermentación láctea por esto se planteó desarrollar una bebida láctea fermentada con alto contenido de este ácido graso.

Este estudio fue realizado en el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA) de la universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, en él se presentan los resultados producidos por dos sustratos lácteos, cuatro cultivos (CHOOZITTM MA11®), (*Lactobacillus acidophilus*); (*Lactobacillus rhamnosus*) (*Bifidobacterium lactis*), tres tiempos de fermentación y cuatro tiempos de almacenamiento, en las concentración de ALC y el perfil de ácidos grasos en kumis, para correlacionarlo con la variables pH y las propiedades de flujo.

La concentración de ALC en el sustrato sin adición de ácido Linoleico (AL), presentó incrementos significativos ($P \leq 0,05$) entre la mezcla de partida (12,74 mg ALC/g grasa) y las mezclas fermentadas con Choozit + *L.acidophilus* fermentando 20 horas (20,09 mg/g) seguidas de las fermentaciones realizadas con Choozit + *B. lactis* por 18 y 24 horas (17,81 y 18,06 mg/g respectiva mente) y las fermentaciones de 20 horas con Choozit (17,94 mg/g). Durante el almacenamiento en las muestras elaboradas sin AL se reduce el contenido de ALC entre en 35 y un 3,5% y el las muestras con adición de AL se presentan incrementos entre el 16 y el 11%. Los valores de pH presentaron diferencias significativas, estos oscilaron entre 3.95 y 4.16. Los valores de índice de consistencia (k) y de flujo (n) no presentaron diferencias significativas y estos oscilaron entre $6,1 \pm 1,57$ Pa/s (k) con $0,26 \pm 0,05$ (n) $3,8 \pm 0,17$ Pa/s (k) con $0,32 \pm 0,006$ (n). Durante la fermentación se lograron incrementos del 58% en la concentración de ALC en el sustrato sin adición de AL y del 40 % en el otro sustrato.

Palabras clave: Acido Linoleico conjugado (CLA), Pro bióticos, proceso, Kumis.

ABSTRACT

Conjugated linoleic acid (CLA) is a group of essential fatty acids of interest in recent years by the numerous beneficial effects on human health. CLA is found primarily in milk and dairy products and has been proposed that could increase during milk fermentation. For this is proposed development CLA-rich fermented milk.

This study was conducted at the Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA) of the Universidad Nacional de Colombia. Presents the results produced by two milk substrates, four cultures (CHOOZITM MA11 ®) (*Lactobacillus acidophilus*) (*Lactobacillus rhamnosus*) (*Bifidobacterium lactis*), three fermentation times and four storage times in the CLA concentration and fatty acid profile in Kumis, to correlate with the variables pH and flow properties.

CLA concentration in the substrate without the addition of linoleic acid (LA), showed significant increases ($P \leq 0.05$) between the starting mixture (12,74 mg CLA / g fat) and mixtures fermented with *L. acidophilus* ferment 20 hours whit Choozit (20,09 mg / g), followed by fermentations carried out with Choozit + *B. lactis* for 18 and 24 hours (17,81 and 18,06 mg / g respectively) and 20 hours fermentation whit Choozit (17,94 mg / g). CLA contents are reduced between 35% and 3,5% in the samples without LA during storage and increas between 16 and 11% in samples with LA addition. The pH values showed significant differences, these ranged between 3,95 and 4,16. The values of consistency index (k) and flow index (n) did not differ significantly and these ranged from $6,1 \pm 1,57$ Pa / s (k) with $0,26 \pm 0,05$ (n) $3,8 \pm 0,17$ Pa / s (k) with $0,32 \pm 0,006$ (n). During fermentation were achieved increases 58% CLA concentration in substrate without LA and 40% in the other substrate

Key Word: Conjugated Linoleic Acid (CLA), Pro bióticos, process, Kumis.

INTRODUCCIÓN

Uno de los desafíos actuales de la industria alimentaria consiste en la producción de alimentos que contribuyan a promover la salud humana y a reducir el riesgo de enfermedades, dado el interés creciente de los consumidores de buscar salud y bienestar en los alimentos que toman.

La leche ha sido reconocida desde hace mucho tiempo como un alimento con excelentes propiedades nutricionales y el consumo de bebidas lácteas fermentadas ha sido siempre asociado a beneficios en la salud humana, por su capacidad de regulación de la flora intestinal.

Nicolisi, Hayek, Kelly y Blankson han evaluado las propiedades terapéuticas del ácido linoléico conjugado (ALC), realizando múltiples reportes científicos sobre los efectos benéficos en la salud humana de este ácido graso esencial, que se encuentra en cantidades apreciables en los alimentos derivados de animales rumiantes, especialmente en las fracciones lipídicas de la leche y la carne.

Es por esto que se seleccionaron diferentes bacterias probióticas y se variaron las condiciones de operación buscando elaborar kumis con un alto contenido de ALC, lo que podría contribuir al desarrollo de nuevos productos con características funcionales, agregando valor a la cadena láctea nacional, al facilitar la participación en el mercado de alimentos funcionales, el cual presenta una proyección de crecimiento acelerada y constituye actualmente una de las actividades productivas y comerciales de mayor impacto a nivel mundial.

En respuesta a las condiciones del contexto global el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR) en convenio con la Universidad Nacional de Colombia adelanta el programa “Desarrollo de estrategias para dar valor agregado a la leche y sus derivados” el cual busca “ la Identificación de nichos (cuencas), desarrollo de sistemas de alimentación y procesos industriales para obtener leches y derivados

lácteos naturalmente enriquecidos con compuestos bioactivos que permitan el desarrollo de productos para nuevos mercados.” Dentro de este programa el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos ICTA de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá adelanta el proyecto “Desarrollo de bebidas lácteas funcionales (yogur y kumis) con énfasis en ácido linoleico conjugado (ALC).” Que además cuenta con el apoyo de DANISCO de Colombia S.A. y productos de la sabana ALQUERIA.

En esta tesis se presentan los resultados de aplicar un diseño experimental completamente al azar con estructura factorial para evaluar los efectos producidos por dos sustratos lácteos, cuatro cultivos, tres tiempos de fermentación y cuatro tiempos de almacenamiento en las concentración de ALC en kumis, para correlacionarlo con las variables pH, la acidez titulable y las propiedades de flujo, caracterizando así los diferentes ensayos realizados. Todos los análisis estadísticos se realizaron con un nivel de significancia del 5%. Además se realizó la evaluación sensorial del producto que presentó los mayores contenidos de ALC. Para ello se utilizó una prueba discriminativa triangular con panelistas entrenados. Posteriormente las muestras se sometieron a una prueba descriptiva de puntajes. A los dos tratamientos que obtuvieron mejor *ranking* se les aplicó una prueba de consumidores.

1.1 OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la influencia de las condiciones de proceso y la incorporación de diferentes bacterias probióticas en la composición de ácidos grasos en kumis, con el fin de seleccionar las condiciones óptimas para la elaboración de bebidas lácteas funcionales con mayor contenido de ALC que la leche.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar la influencia de tres cultivos probióticos, (*Lactobacillus acidophilus*), (*Lactobacillus rhamnosus*)(*Bifidobacterium lactis*), tres tiempos de incubación (18, 20 y 24 horas) y dos composiciones de sustrato, en el perfil de los ácidos grasos en kumis, con énfasis especial en ácido linoleico conjugado (ALC).
2. Analizar los cambios en la composición de los ácidos grasos de las muestras de kumis, durante el almacenamiento refrigerado por tres semanas a 4°C.
3. Determinar el pH, las propiedades de flujo y los parámetros sensoriales que complementen la caracterización de las diferentes muestras de kumis.

1.2. MARCO DE REFERENCIA

1.2.1. El Sector lácteo Colombiano en el contexto mundial:

La Cadena de lácteos tiene dos eslabones principales, que son la producción de leche cruda y el eslabón industrial, que cuenta con productos lácteos o derivados como, leches condensadas, en polvo, maternizadas, instantáneas, leches ácidas fermentadas, crema acidificada, leches saborizadas, dulces de leche, mantequilla y quesos.

Según PROEXPORT, los productos lácteos representaron el 13% de la producción agroindustrial en el 2003 y vienen creciendo rápido, siendo los alimentos procesados mas importes en Colombia, con ingresos brutos de US\$1100 millones, generando el 2,7% del empleo total de la industria manufacturera, lo cual le ha otorgado un rol destacado en la actividad económica nacional. Esta situación estimuló al gobierno a escoger el sector como uno de los campos a desarrollar bajo el plan de apuesta exportadora.

La ganadería bovina es considerada la actividad económica con mayor presencia en las zonas rurales, ocupando el 39,4% del territorio nacional y contribuyendo con el 27% del PIB Agropecuario. Las diferentes actividades reportadas por la cadena láctea generan el 13,6% del PIB agropecuario, con un impacto importante en la tasa de empleo en comparación con otras cadenas. Entre dos y tres veces más empleo por cada 100 animales que la ganadería de carne debido principalmente a las actividades asociadas al ordeño. (FEDEGAN, 2006)

Dadas las características topográficas particulares de nuestro territorio, la ganadería lechera se distribuye en todos los pisos térmicos y regiones geográficas del país. Los sistemas de producción lechera nacional se han clasificado en especializados, representando el 11% del rebaño lechero, aproximadamente 0,7 millones de cabezas y el doble propósito con 5,3 millones de cabezas que representan el 89% restante. (Holmann, et al. 2006.). Dentro de esta clasificación, el sistema especializado se

localiza en el trópico de altura en zonas particulares del Altiplano Cundiboyacense, Altiplano Nariñense y al Altiplano norte y nordeste de Antioquia; en el caso del doble propósito tenemos una distribución mucho mas amplia a lo largo y ancho del país.

La lechería especializada se caracteriza por el uso de razas *Bos taurus*, predominio de razas puras o con alto porcentaje de genes de razas europeas; un uso intensivo de los factores de producción (tierra, capital y mano de obra), uso de fertilización en la mayoría de las ocasiones de tipo nitrogenado, riego, rotación de praderas, elevada utilización de suplementos alimenticios y más de un ordeño al día sin ternero. Por otro lado, los sistemas de doble propósito son característicos de zonas tropicales bajas, localizados con mayor frecuencia en áreas marginales con pobre dotación de recursos y de infraestructura física en donde el ternero juega un rol importante al momento del ordeño (Holmann et al, 2006).

Según los cálculos del Observatorio de Agrocadenas, la producción promedio de leche por vaca en es de 1003 L/año, mucho menor al promedio reportado por países vecinos como Perú (1985 L/vaca/año), Ecuador (1950 L/vaca/año), Bolivia (1558) e incluso Venezuela (1031 L/vaca/año), indicando la menor capacidad productiva de los animales que son explotados para este fin en el país. Sin embargo, los datos reportados por Holmann et al. (2006) no coinciden con estas cifras dando como resultado un promedio cercano a los 2680 litros vaca año

A pesar de estas bajas producciones, en el año 2006 se reportan 6.192 millones de litros de leche representando un incremento del 2,8% con relación al año anterior, con lo que se mantiene la tendencia de crecimiento en la producción en los últimos 15 años. (Observatorio de Agrocadenas de Colombia, 2006a). Este producción nos ubica como uno de los países con más alto consumo de leche por habitante año en América Latina con 128 litros al 2005 de los 170 litros anuales recomendados por la Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, 2005).

El 12 de enero del año 2007, el Ministerio de Agricultura y Desarrollo considerando que en los últimos años en el país, no había sido posible establecer una política de mediano y largo plazo para la determinación de precios para el sector lácteo, expide la

Resolución 000012 de 2007, que interviene en la fijación de precios al productor a través de un sistema de pago de la leche cruda. Esta resolución divide el país en regiones lecheras dentro de las cuales existen diferentes características para la liquidación del precio del litro de leche cruda y establece características mínimas de calidad composicional para cada una de estas regiones. La resolución del Ministerio a su vez, proyecta mejoras en la calidad de la leche cruda para cada una de las regiones en el tiempo, lo cual pone de manifiesto la necesidad de incorporar al sector estrategias que permitan su mejoramiento.

De manera tradicional, la calidad de la leche ha sido definida como la sumatoria de aspectos higiénicos, sanitarios y composicionales. Esta se ha valorado según los contenidos de proteína, grasa y sólidos totales. En términos generales, nuestras leches son de menor calidad higiénica y/o composicional si nos comparamos con otros sistemas en el mundo (FEDEGAN 2006). La calidad composicional de la leche producida bajo los sistemas de doble propósito es de menor valor higiénico pero de mayor concentración de sólidos. De otra parte, la leche producida en sistemas especializados es más higiénica pero de menor concentración de sólidos. En este sistema se requiere una mayor cantidad de leche para producir un kilogramo de sólidos. Mejorar las características composicionales de la leche en los sistemas especializados debe ser, por lo tanto, una meta para competir a nivel internacional y nacional.

El concepto de calidad ha variado en los últimos años debido a la preocupación de los consumidores por obtener alimentos que aporten beneficios adicionales a la salud humana (nutracéuticos). Algunos de estos previenen enfermedades de alta incidencia en la población como las cardiovasculares, el cáncer, la obesidad, la osteoporosis y los defectos neurales. Por lo tanto, los consumidores han empezado a exigir productos específicos que tengan particularidades saludables además de nutricionales (Collomb et al. 2006; Dewhurst et al. 2006, Blas Beorlegui, 2004).

Se han encontrado más de 400 ácidos grasos en la leche, de los cuales algunos poseen actividad biológica importante en la prevención y la disminución de la incidencia de algunas enfermedades (Ledoux, 2005). Colombia podría posicionar leches en

mercados especializados con una ventaja comparativa en relación a otros países productores por sus sistemas de pastoreo. En los cuales se ha demostrado que existen mayores concentraciones de ácidos grasos bioactivos en la leche. Adicionalmente, es posible identificar nichos con mayores potenciales que otros para la producción de leches ricas en estos compuestos permitiendo desarrollar productos para estos mercados. El desarrollo e innovación podría incluir marcas con denominación de origen que resalten los altos contenidos de compuestos bioactivos específicos favorables para la salud humana.

Adicionalmente se ha demostrado que no solamente el uso de pasturas frescas aumenta los contenidos de estos compuestos sino que el manejo de la alimentación (tipo de pastura, edad, tipo y manejo de la suplementación) puede modificar sensiblemente sus concentraciones (Jenkins et al 2006). El país puede desarrollar sistemas de manejo de pasturas y de suplementos alimenticios en las diferentes cuencas productoras que permitan incrementar las concentraciones de estos compuestos. Esto implica la valoración de los recursos forrajeros, los suplementos alimenticios así como el análisis de factores nutricionales, metabólicos y moleculares que determinan la concentración de estos compuestos en la leche.

1.2.2. Alimentos Funcionales:

Pese a que en Colombia aún no existe un mercado especializado, esta nueva tendencia del consumidor ha generado un cambio en la dinámica de la industria alimentaria colombiana, estimulando la creación de nuevos productos y tecnologías.

El mercado de los alimentos funcionales, es un negocio muy atractivo no solo por los efectos sobre la salud, sino por los márgenes de rentabilidad que maneja, alrededor del 60% (Revista Dinero, 2007). Datos reportados por el IICA indican que este mercado y el de productos nutracéuticos, en el cual Japón, Canadá, Estados Unidos y algunos países de Europa ya han tomado la delantera, presenta una proyección de crecimiento increíblemente acelerada (US\$500 billones para el año 2010) y es actualmente una de las actividades productivas y comerciales de mayor impacto a nivel mundial, dado que las previsiones de crecimiento anual se encuentran entre el 15 y el 30%.

En Colombia este espacio de mercado presentó un crecimiento cercano al 30% en los últimos dos años, despertando el interés de las grandes empresas, las cuales han incrementado el presupuesto destinado a la investigación, con el fin de generar nuevos desarrollos que den respuesta a estas tendencias de alimentación, atendiendo un segmento de mercado cada vez más importante.

Quizás los alimentos funcionales más conocidos en Colombia son los dietéticos y los restauradores de energía. Sin embargo, la presencia de estos en nuestro país va más allá unos pocos productos. Por ejemplo, masa para pancakes adicionada con vitaminas; chocolate cero colesterol endulzado con Nutrasweet® y granola cero colesterol adicionada con vitaminas; chocolate de mesa con 16 cereales y sin grasa y bebidas achocolatadas cero colesterol con cereales; leches extracalcio y yogures con probióticos; avena deslactosada con fibra natural; leche con Omega 3 y leche con vitaminas.

La industria láctea ha sido pionera en la oferta de estos alimentos, con aproximadamente un 33% de su portafolio de productos. Sin embargo, la búsqueda continúa y sigue siendo una de las prioridades del sector. Actualmente en Colombia hay una gran dinámica en torno a los alimentos lácteos funcionales, con la llegada de la multinacional francesa Danone y el lanzamiento de los yogures NutriDay y Activia, este último el más vendido en el mundo, en asocio con la firma local Alquería.

Es importante anotar que el acceso de los alimentos funcionales al mercado colombiano está condicionado por los avances en materia de legislación. Una estrategia ha sido buscar cambios en la regulación que permitan comunicar los beneficios en la salud. Es importante que la normatividad en materia de rotulado permita hacer publicidad para explicar la conveniencia de estos alimentos y lograr que la población pueda comprender fácilmente los beneficios de salud que puede obtener a través de la alimentación, ya que si los fabricantes no pueden comunicar esos beneficios, será muy difícil que el consumidor acceda a ellos.

El país es uno de los que está alcanzando los niveles de consumo de leche *per capita* recomendados por la FAO, la producción de bebidas fermentadas presentó una tasa

de crecimiento del 3,6% entre los años 1993 a 2002 y en nuestro país las muertes por cáncer o enfermedades cardiovasculares representan el 14,7 y el 28%, respectivamente. Esto hace que el estudio de los factores que pueden incidir en la producción de derivados lácteos con alto valor agregado por sus efectos positivos en la salud humana, es imperante.

1.2.3. Derivados lácteos funcionales:

Uno de los desafíos actuales de la industria alimentaria consiste en la producción de alimentos que contribuyan a promover la salud y a reducir el riesgo de enfermedades, dado el interés creciente de los consumidores de buscar salud y bienestar en los alimentos que toman.

La leche ha sido reconocida desde hace mucho tiempo como un alimento con excelentes propiedades nutricionales y el consumo de bebidas lácteas fermentadas ha sido siempre asociado a beneficios en la salud humana, dada su capacidad de regulación de la flora intestinal.

Los avances de la ciencia en los últimos años han demostrado que la leche es un excelente medio para el transporte de moléculas bioactivas. En consecuencia, la industria láctea se ha volcado hacia el desarrollo de alimentos funcionales, lo cual le ha permitido no solamente desarrollar nuevas tecnologías y productos, sino también responder a las nuevas tendencias de consumo y explorar nuevos nichos de mercado. Según Peng et col. (2006), la leche se ha constituido en una promesa para el desarrollo de alimentos funcionales. Prueba de ello es la gran variedad de lácteos que han sido lanzados en los mercados nacionales e internacionales en los últimos años, como yogur, leches, mantequillas y quesos fortificados con vitaminas, minerales y ácidos grasos esenciales (omega-3).

La industria láctea ha tomado gran participación en el mercado de alimentos funcionales, dado que la leche es un excelente medio para el transporte de moléculas de actividad biológica importante. En los últimos años se ha despertado un gran interés en los componentes lácteos bioactivos, prueba de esto son los grandes avances

logrados en la separación y utilización de las proteínas del lactosuero. Más recientemente, los constituyentes de la grasa llaman la atención, gracias a los estudios que demuestran los efectos benéficos de los ácidos grasos insaturados en la salud humana. Particular interés ha despertado el ácido linoleico conjugado (ALC), el cual es considerado como una de las moléculas más potentes de la naturaleza, por sus propiedades antidiabetogénicas, antiadipogénicas, antiaterogénicas y su capacidad para potencializar el sistema inmune y mejorar la mineralización ósea (Raff et col., 2008; Khanal, 2004; Roche et col., 2001).

1.2.4 Grasa láctea:

Es de elevado valor nutricional, presenta diversas aptitudes tecnológicas, además de su relevancia en el flavor. Pero su contenido de ácidos grasos saturados y colesterol ha hecho que sea comparada con las grasas de origen animal, desmotivando su consumo. Se han identificado importantes efectos biológicos en diferentes compuestos lipídicos con potenciales tecnológicos para el desarrollo de productos funcionales.

Los lípidos de la leche se encuentran en forma de glóbulos con un núcleo de triglicéridos y una membrana de fosfolípidos con glicoproteínas.

La composición de la grasa láctea ha sido objeto de diferentes investigaciones en las cuales el énfasis se ha centrado en la composición de ácidos grasos el cual puede sufrir grandes variaciones debidas a la nutrición del ganado.

La grasa láctea es tan variada que se pueden llegar a encontrar 400 ácidos grasos diferentes, especialmente se encuentran ácidos grasos entre 4 y 26 átomos de carbono en la tabla 1 se presenta la composición promedio del contenido de ácidos grasos mayoritarios en la leche.

El contenido total de ácidos grasos saturados es del 65% aproximadamente lo que genera renuencia en su consumo. Aun así es importante resaltar que la concentración de los ácidos grasos saturados C12, 14 y 16 es la que puede considerarse desfavorables, si se presenta un consumo excesivo. Los ácidos grasos de cadena

corta y media (C 4,6,8,10) que constituyen entre el 8 y 12 % del total de ácido grasos no tienen efectos sobre el colesterol en sangre. (Parodi 2004). De este grupo de ácidos grasos se destacan las propiedades antitumorales reportadas para el ácido butírico (Maier 2000, Coradini 1997) y su capacidad sinérgica en el tratamiento de la hipercolesterolemia (Menzel 2002).

Tabla 1. Valores medios de los contenidos de ácidos grasos mayoritarios de la grasa láctea

Ácido graso	Valor promedio
Butírico (C 4:0)	3,9
Caproico (C 6:0)	2,5
Caprílico (C 8:0)	1,5
Cáprico (C 10:0)	3,2
Decenoico (C 10:1)	0,2
Láurico (C 12:0)	3,6
Tridecanoico (C 13:0)	0,2
Mirístico (C 14:0)	11,1
Iso Pentadecanoico (iC 15:0)	0,4
Anteiso Pentadecanoico (ai C 15:0)	0,4
Miristoleico (C 14:1)	0,8
Pentadecanoico (C 15:0)	1,2
Iso Palmítico (iC 16:0)	0,4
Palmítico (C 16:0)	27,9
Iso Heptadecanoico (iC 17:0)	0,5
Anteiso Heptadecanoico (aiC 17:0)	0,5
Palmitololeico (C 16:1)	1,5
Heptadecanoico (C 17:0)	0,6
Heptadecenoico (C 17:1)	0,4
Esteárico (C 18:0)	12,2
Oleico* (C 18:1)	17,2
Trans Octadecenoico (C 18:1)	3,9
Linoleico* (C 18:2)	1,4
Eicosanoico (C 20:0)	0,4
Linolénico* (C 18:3)	1,0
Linoleico Conjugado* CLA (C 18:2)	1,1

(% P/P del total de ácidos grasos) McGibbon y Taylor (2006) *Todos los isómeros.

Las cadenas C6,8 y 10 tienen propiedades antibacteriales y antivíricas destacándose la monocaprina, monoglicerido del ácido cáprico con actividad contra el HIV (Thormar 1994). Además estas cadenas carbonadas cortas y medias reducen el punto de fusión de los triglicéridos. El ácido esteárico representa aproximadamente el 12% de los ácidos grasos, que al igual que el ácido oleico (15 -23%) es efectivo para reducir el colesterol plasmático. Además la presencia de ácidos grasos como el linoleico y el α -linolénico que tiene reconocido efecto en la salud cardiovascular aportan a las potencialidades biológicas de la grasa láctea.

Con relación a la configuración de los triglicéridos en la grasa láctea se reporta que los ácidos grasos saturados se sitúan en la posición sn-2 (Principalmente Palmítico), los ácidos grasos de cadena corta se ubican generalmente en la posición sn-3 y el esteárico y el oleico en las posiciones sn-1 y sn-3 (Jensen 2002).

De cada 100 g de grasa láctea se tienen entre 260 y 270 mg de colesterol y muchos consumidores y nutricionistas reclaman productos libres de colesterol y algunas legislaciones obligan a declarar el contenido de colesterol en la información nutricional de los alimentos.

Los fosfolípidos constituyen entre 0,5 y 1% de los lípidos totales, entre estos se destacan la fosfatidilcolina (35%), fosfatidiletanolamina (30%), esfingomielina (25%), fosfatidilinositol (5%), fosfatidilserina (3%) (Christie 1995 y Jensen 2002). Los fosfolípidos tienen carácter antioxidante (Frede 1990 y Saito 1997). En la tabla 2 se presenta la composición de la grasa láctea.

Tabla 2. Composición grasa láctea.

Componente	Concentración % (P/P)
Triacilgliceroles	98,3
Diacilgliceroles	0,3
Monoacilgliceroles	0,03
Acidos grasos libres	0,1
Colesterol	0,3
Fosfolipidos	0,8
Lecitina	0,26
Fenil etanolamina	0,28
Fenil serina	0,03
Fenil inositida	0,04
Plasmalógenos	0,02
Esfingomielina	0,16
Cerebrósidos	0,1
Gangliósidos	0,01
Esteroles	0,032
Colesterol	0,30
Esteres de colesterol	0,02
Carotenoides + Vitamina A	0,02

Fuente: Walstra et al 2001.

1.2.5 *Acido linoleico conjugado (ALC)*

El ácido linoleico conjugado (ALC) es un término genérico utilizado para describir los isómeros del ácido linoleico, el cual es un ácido graso esencial, encontrado en cantidades apreciables en los alimentos derivados de animales rumiantes, (al ALC se le identifica como "ácido ruménico"(Mahfouz MM 1980)) especialmente en las fracciones lipídicas de la leche y la carne (Garcia-Lopez et col., 1994). La mayoría de los derivados lácteos contienen diversos isómeros del ALC (entre los cuales 85 a 95% consisten en el isómero C18:2c9t11) en cantidades que pueden oscilar entre 6 y 16 mg/g de grasa total (Parodi, 1977). El ALC se encuentra normalmente en tejidos o secreciones (leche) de rumiantes y es formado por la isomerización del ácido linoleico, por acción de la bacteria del rumen *Butyrivibrio fibrisolvens*. El ALC puede ser sintetizado, tanto en rumiantes como en no rumiantes, por la desaturación del ácido vaccénico (18:1, 11t) en el tracto intestinal o en el hígado de estos animales.(Sanhueza 2002) El ALC encontrado en la grasa láctea es principalmente un producto de la síntesis en la glándula mamaria por la acción de la enzima $\Delta 9$ -desaturasa sobre al ácido vaccénico

(trans-11 C18:1) producido en el rumen como resultado de la biohidrogenación incompleta de los ácidos grasos linoleico y α -linoléico. Este ácido es también un intermediario de la biohidrogenación incompleta del ácido linoleico, parte se escapa del rumen y provee el remanente de ALC encontrado en la grasa láctea (Ledoux, M 2005, Pabón M.2008)

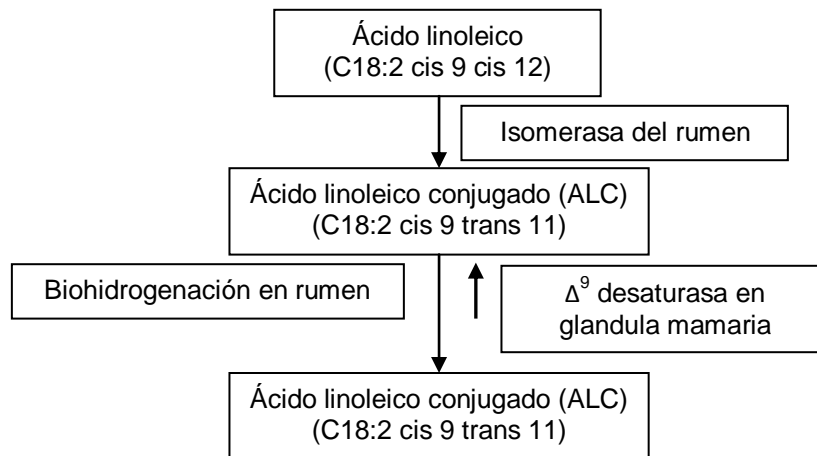


Figura 1. Ruta metabólica para la producción de ALC en el rumen y la glándula mamaria a partir de ácido linoleico (C18:2 cis 9 cis 12)

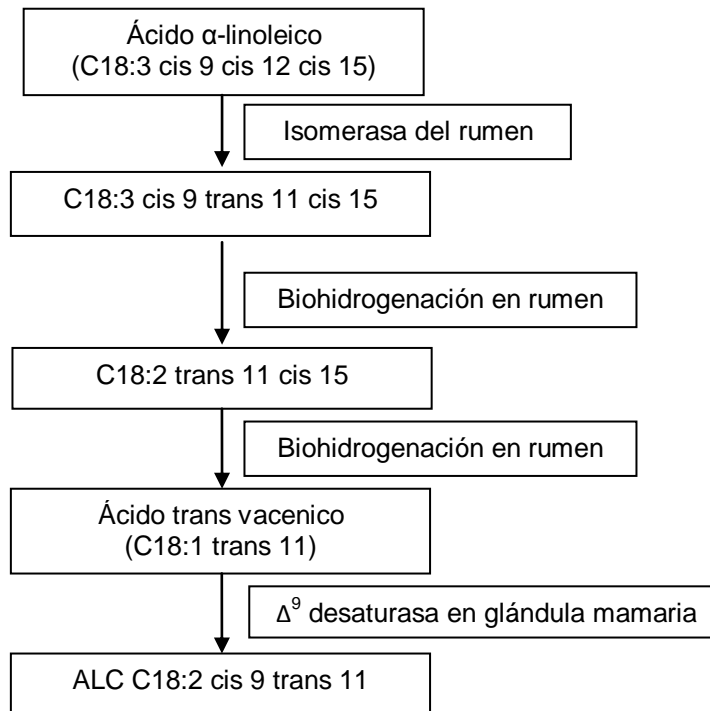


Figura 2. Ruta metabólica para la producción de ALC en el rumen y la glándula mamaria a partir de ácido α -linoleico

En la figura 1. se presenta una posible ruta metabólica para la producción de ALC en el rumen y la glándula mamaria a partir de ácido linoleico (Griinari 2000) y en la figura 2.a partir ácido α -linoleico (Wilde 1966)

Kepler reporta una posible ruta metabólica para la biohidrogenación en el rumen del ácido linoleico por el *Butyrivibrio fibrisolvens* la cual es presentada en la figura 3.

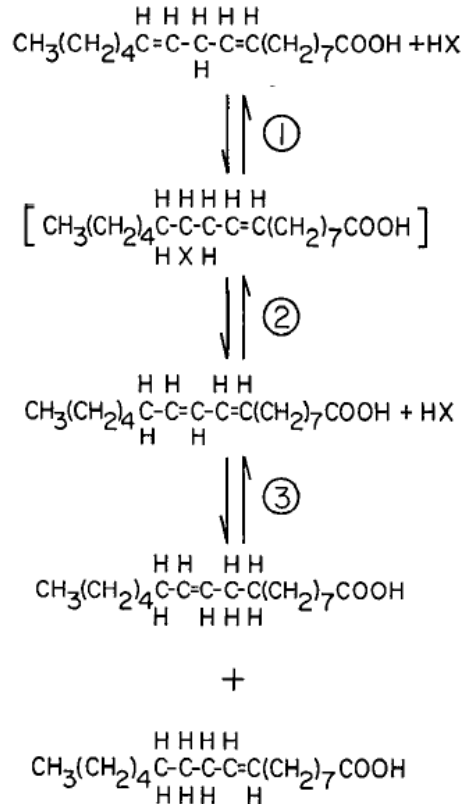


Figura 3. Ruta metabólica propuesta para la biohidrogenación con *Butyrivibrio fibrisolvens* (Kepler 1966)

El mecanismo de esta reacción implica la transferencia intramolecular de hidrógeno entre dos moléculas de ácidos dienóicos. Esto conlleva la saturación del doble enlace Δ^{12} por un compuesto desconocido. (figura 3. Reacción 1 HX), seguido de la desaturación del doble enlace Δ^{11} y la regeneración del compuesto HX (reacciones 2 y 3).

Los isómeros biológicamente activos de ALC (cis-9, trans-11-octadecadienoico: C18:2c9t11 y cis-10, trans-12-octadecadienoico: C18:2c10t12) han demostrado tener efectos benéficos sobre la salud humana y pueden ser considerados como nutrientes

terapéuticos con efectos protectores contra varias enfermedades (Parodi, 2004; Terpstra, 2004; Khanal, 2004; Roche et col., 2001) comunes, tales como la obesidad, la aterosclerosis, ciertas enfermedades inflamatorias crónicas y el cáncer como se muestra en la tabla 3. En consecuencia, la industria láctea mundial ha mostrado un gran interés en la producción de derivados lácteos enriquecidos con ALC.

Tabla 3. Propiedades funcionales reportadas del **ALC**

Efectos	Propiedad	Referencias
Hipocolesterolémicos	Efecto antiaterogénico, a través de su acción hipocolesterolémica e hipotrigliceridémica	Nicolisi RJ 1997
En el sistema inmune	Efecto en la prevención del desarrollo de ciertos tipos de cáncer.	Hayek MG, 1999
Anticarcinogénicos	Son quizás los mejor documentados y están respaldados por estudios realizados en humanos.	(Ip c)Am J Clin Nutr 1997
Antioxidantes	Su actividad antioxidante es comparable a la de los antioxidantes sintéticos convencionales	Kelly GS 2001.
Sobre el peso corporal	Estudios realizados con personas que presentan sobrepeso, han demostrado que la ingestión diaria de 3,4 g de ALC produce una disminución de la masa grasa total sin afectar otros parámetros metabólicos, como el recuento eritrocitario y la cantidad de masa magra.	Blankson H 2000
Sobre la diabetes	En estudios realizados en humanos se encontró efectos sobre la resistencia a la insulina.	(A.Bhattacharyaa, 2006
Sobre los mediadores de la respuesta inflamatoria	Citocinas proinflamatorias , citocinas antiinflamatorias, eicosanoides (prostaglandinas, leucotrienos) y oxido nítrico (NO) son la llave de los reguladores inflamatorios, estos son regulados por los ácidos grasos omega 3 y 6 de la dieta.	Durgam VR 1997
En la salud ósea	Disminuye la osteoclastogénesis y reduce la resorción ósea.	Li Y 1999.

En la leche, el isómero mas frecuente es el 9c-11t, cuyos niveles fluctúan en 0,15%-0,22%(Jensen RG 1998), también se ha encontrado el isómero 7t-9c en la leche humana, inferior a 0,03% de los lípidos totales (Yurawecz, M.P 1998).En el suero sanguíneo humano el isómero 9c-11t llega a constituir hasta el 0,4-0,5% del total de los lípidos circulantes (Salminen I 1998).

La mejor fuente dietaria de ALC es el consumo de carnes y productos lácteos procedentes de rumiantes pero se presentan posibilidades como las estudiadas por

Jones et col. (2005) quienes demostraron que es factible elaborar productos lácteos enriquecidos con ALC con características sensoriales aceptables. Sin embargo, hay que tener en cuenta que el aumento del contenido de ALC puede generar productos más susceptibles a la oxidación y con una vida útil más corta (Rossel, 1989), dado que el ALC es un ácido graso doblemente insaturado. De otra parte, según Palmquist et col. (1993) las modificaciones en la composición de ácidos grasos puede influir de manera importante en las propiedades físicas de los productos lácteos.

1.2.5.1 ALC en diferentes alimentos:

El ALC procedente del ácido linoleico ha sido detectado en grasa láctea, queso y carne de rumiantes (Sehat, 1998).

En quesos como mozzarella, parmesano, cheddar y queso crema se reportan porcentajes de ALC (isómeros 9c,11t. 8t,10c. 11t,13c 12c,14t) de 0,47% (Contenido de lípidos 16,5%), 0,38%(C.I. 25,1%), 0,54% (C.I. 29,5%) y 0,77% (C.I. 36,7%) respectivamente(Sehat N and Kramer J et al. 1998). También se ha evaluado los cambios en el contenido de ALC en queso procesado blando en cuatro etapas diferentes, materia cruda (7,83 mg ALC /g grasa), cocción (7,42 mg ALC /g grasa), cremado (7,37 mg ALC/g grasa) y producto terminado (7,92 mg ALC /g grasa)(Luna, 2005) y en otros quesos como el emmental (Chamba J. et al 2006).

En la tabla 4. se presentan algunos reportes de ALC en diferentes derivados lácteos (Fritsche 1998).

Otra forma para enriquecer alimentos con omega 3 busca microencapsular los ácidos grasos para ser adicionados a yogur y queso (Sharma, 2003). Complementando estos estudios también se han realizado análisis físicos, químicos y sensoriales de alimentos como leche, queso y mantequilla enriquecidos con ALC (Jones 2005).

Tabla 4. Contenido de ALC en diferentes alimentos (Fritsche, 1998)

Alimento	(% de EMAG)	Alimento	(% de EMAG)
Producto lácteos		Quesos	
Leche cruda	1,16	Gouda	0,40
Leche pasteurizada	0,98	Emmental	1,16
Leche UHT	0,80	Azul	0,55
Crema	0,77	Procesado	1,11
Leche condensada	0,94	De oveja	1,01
Yogur	0,69	De cabra	0,50
Yogur probiótico	1,05	Cuajada	0,63
Mantequilla	0,94	Brie	0,49
Carnes		Derivados cárnicos	
Filete de cerdo	0,12	Salami	0,42
Chuleta de cerdo	0,15	Mortadela	0,29
Filetes de bovino	0,65	Salchicha Frankfurt	0,36
Hígado de bovino	0,43	Salchicha de hígado	0,33
Cordero	1,20	Salchicha untable	0,44
Pavo	0,20	Jamón cocido	0,27
Conejo	0,11	Jamón ahumado	0,29
Pollo	0,15	Carne picada	0,35
Peces			
Carpa	0,09	Salmón	0,07
Bacalao	0,03	Bagre	0,06
Varios			
Papas fritas	< 0,01	galleta de mantequilla	0,45
Chips de queso	0,25	Torta de mantequilla	0,49
Yogur de chocolate	0,15	Yema de huevo	0,02
Leche chocolatada	0,15	Masa de hojaldre	0,55
Chocolate amargo	< 0,01	Maíz extruido	< 0,01

Incluso se cuenta con datos de ácido ruménico (ALC cis-9, trans-11 C18:2) en grasa láctea en la Sabana de Bogotá reportando promedios entre 6,38 a 19,54 mg/g de grasa (Rico 2007).

1.2.5.2 Consumos estimados de ALC y consumos recomendados:

Dada la importancia de este ácido graso son diferentes los reportes que se tienen sobre su consumo a nivel mundial encontrándose variaciones entre 440 mg/día según estudios realizados en Alemania y 91 mg/día para reportes de Canadá, estos y otros reportes de consumo de ALC en el mundo se presentan en la tabla 5.

Tabla 5. Consumo promedio de ALC en diferentes países

País	Población	Consumo (mg)	Reporte
Alemania	hombres	440	Fritsche and Steinhardt (1998)
Alemania	mujeres	360	
Alemania	hombres y mujeres	400	Jahreis (1999)
Alemania	Mujeres	323 ± 79	Fremann et al. (2002)
Suecia	hombres	160 ± 60	Jiang et al. (1999)
EU	hombres y mujeres (productos lácteos)	140	Wolff and Precht (2002)
EU	Valor promedio países unión europea	380	
Canadá	Hombres y mujeres	95 ± 41	Ens et al. (2001)
EU	Mujeres	151 ± 14	Ritzenthaler et al. (2001)
EU	hombres	212 ± 14	

Para Colombia no se encuentran reportes sobre el consumo de este ácido graso por lo que se realizó un estimativo basados en reportes bibliográficos de concentración de CLA como los mostrados en la tabla 2, para esto fueron tomados los reportes de la encuesta nacional alimentaria realizada por el ICBF en 2005 los resultados de este cálculos se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Consumo promedio de ALC en Colombia

(Encuesta nacional de la situación nutricional en Colombia, 2005)

Edad	Consumo estimado ALC mg/día
2 a 3 años	293,5
4 a 8 años	281,1
9 a 13 años	274,5
14 a 18 años	263,2
19 a 50 años	262,2
50 a 63 años	195,1
Valor medio	254,5

Son diferentes los reportes de cantidades recomendadas para considerar el ALC benéfico para la salud, en el caso de la reducción de la masa corporal se presentan resultados positivos al suministrar concentraciones entre 0,7 y 1,4 g/día en hombres y mujeres jóvenes no obesos (H.Blankson, 2000) y entre 3,9 g y 6,8 g/día en personas obesas adultas (K.L.Zambell, 2001). En un estudio realizado en personas sanas con actividad deportiva frecuente una dosis de 36 mg/día produjo reducciones significativas en la masa corporal, con relación al tratamiento control con placebo. (E.Thom, 2001). Se reportan también efectos positivos en el colesterol HDL y una reducción en los factores pro-trombogénicos CRP y fibrinógenos suplementando con 3 g diarios de una mezcla 50:50 de los isómeros c9, t11-CLA and t10, c12-CLA por 8 semanas (C.M.Reynolds, 2010) (F.Moloney, 2004).

1.2.5.3 ALC en bebidas lácteas fermentadas:

Hoy en día, el uso de bacterias probióticas (principalmente especies de las familia *Lactobacilli*, *Streptococci*, *Lactococci* y *Bifidobacterium*) en la elaboración de las bebidas lácteas fermentadas es una práctica muy común, debido a los beneficios asociados a la salud humana, ya que los microorganismos probióticos permanecen activos en el intestino y ejercen importantes efectos fisiológicos. Este factor ha

contribuido al incremento de las bebidas lácteas fermentadas en el mercado (Dave & Shah, 1997).

Diversos estudios han evaluado el contenido de ALC en derivados lácteos durante su proceso de elaboración y tiempo de almacenamiento. Los productos más estudiados han sido la grasa láctea, la mantequilla y diferentes tipos de quesos. En el caso de las bebidas lácteas fermentadas, se reportan estudios de la influencia del procesamiento de leches fermentadas en el contenido de ALC, por Aneja & Murthi (1990), quienes encontraron que la concentración de ALC podría incrementarse durante la fermentación de la leche.

En el caso particular de las bebidas lácteas fermentadas, se ha reportado que la fermentación microbiana podría incrementar la concentración de ALC (Aneja & Murthi, 1990; Shanta et col., 1995; Boylston & Beitz, 2002). Investigaciones recientes sugieren que el contenido de ALC en yogur puede incrementarse mediante la utilización de bacterias lácticas, entre las cuales las que han dado mejores resultados son *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Propionibacterium freudenreichii ssp. freudenreichii* y *ssp. shermanii*, *Lactococcus lactis* y *Lactococcus casei* (Sieber et col., 2004; Kim & Liu, 2002; Lin, 2003; Xu et col., 2005; Yadav et col, 2007). Incrementos que están en el 20% en productos como yogurt (Shanta et col 1995) y más del 300% en productos como el *dahi* (Aneja & Murthy, 1990).

Además del tipo de bacterias lácticas utilizadas, la composición inicial en ácidos grasos de la leche, la calidad de las proteínas y las condiciones de proceso (pH, velocidad de la reacción de fermentación, temperatura y tiempos de incubación y de almacenamiento), pueden afectar la concentración de ALC en las bebidas lácteas fermentadas.

Chin et col. (1992) analizaron el contenido de ALC en varios derivados lácteos producidos en Estados Unidos y reportaron valores para el yogur oscilando entre 1,7 y 4,8 mg ALC/g de grasa. Algunos años más tarde, Shanta et col. (1995), reportaron un

incremento de 0,85 mg de ALC/g grasa durante la elaboración de un yogur bajo en grasa (0,05%). Sin embargo, los resultados obtenidos por estos autores indicaron que la composición de la leche ejercería una influencia en el contenido de ALC, ya que durante el proceso de fabricación de yogur con contenido graso más elevado (1 y 3,25%), no se presentaron cambios significativos en el contenido de ALC. De otra parte, una disminución significativa en las concentraciones de ALC de estos tres yogures durante el almacenamiento a 4°C durante 6 semanas fue reportada por los mismos autores.

Los trabajos de Boylston & Beitz (2002) concuerdan parcialmente con aquellos obtenidos por Shanta et col. (1995), pues el proceso de elaboración de yogur a partir de leche estandarizada a un contenido graso de 2%, inoculada con *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, no generó cambios significativos en las concentraciones de ALC, las cuales se mantuvieron prácticamente constantes durante 7 días de almacenamiento a 4°C. Además, los yogures elaborados con leches provenientes de vacas alimentadas con un suplemento del 5% de aceite de soya, presentaron un incremento significativo en su contenido de ALC, comparado con el yogur producido a partir de suplementos de ALC al 1% en la dieta de las vacas (45 vs. 18 mg ALC/250 g de yogur, $p < 0,05$), lo cual confirma que la composición del sustrato es un factor importante en la producción de ALC por medio de las bacterias lácticas.

Recientes estudios sugieren que la incorporación de bacterias probióticas durante el proceso de elaboración de las bebidas lácteas fermentadas podría causar un incremento en el contenido de ALC. Por ejemplo, trabajos encaminados al estudio de la influencia del tipo de cultivo láctico en el contenido de ALC en leches fermentadas han demostrado que ciertas cepas (*Lactobacilli*, *Bifidobacterium* y *Propionibacterium*) tienen gran habilidad para convertir el ácido linoleico en ALC (Sieber et col., 2004) y que variables como la composición del sustrato, el tiempo de incubación, las condiciones del cultivo y el pH, tendrían también una influencia en las concentraciones finales de ALC (Kim & Liu, 2002).

Lin (2003) reportó que el uso de cultivos mixtos (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*) en presencia de ácido linoleico, incrementa significativamente el contenido de ALC (isómero C18:2c9t11) (2,95 vs. 1,10 microgramos/g yogur, $p < 0,05$), sin desarrollar características indeseables en la calidad sensorial del producto, generando incrementos del orden del 200% en el contenido de ALC. En consecuencia, esta mezcla de cultivos sería recomendada para la producción de un yogur no graso, rico en ALC. Resultados similares han sido reportados por Xu et col. (2005), quienes estudiaron el efecto de cuatro cultivos probióticos (*Lactobacillus rhamnosus*, *Propionibacterium freudenreichii ssp. shermanii* 56, *P. freudenreichii ssp. shermanii* 51 y *P. freudenreichii ssp. freudenreichii* 23) inoculados individualmente y en presencia de cultivos lácticos tradicionales (*Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* y *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*).

Recientemente, Yadav et col. (2007) realizaron un estudio en el que evaluaron el uso de cultivos probióticos (*Lactobacillus acidophilus* y *L. casei*) durante la producción de "dahi" (producto análogo al yogur, originario de la India). Sus resultados demostraron que la utilización de bacterias probióticas incrementa el contenido de los ácidos butírico, linoleico y linoleico conjugado durante la fermentación y que la concentración de ALC permanece constante durante el almacenamiento. Estos resultados son consistentes con estudios previos que demuestran la capacidad de las bacterias del ácido láctico para transformar el ácido linoleico en ALC (Alosno et col., 2003; Ogawa et col., 2005).

Algunas especies de *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, *Bifidobacterium* y *Enterococcus* son capaces de formar ALC a partir de ácido linoleico y esto es usado para incrementar los niveles de ALC en productos como el yogur (Sieber 2004).

Se presentan también reportes sobre las características organolépticas de bebidas lácteas fermentadas enriquecidas con aceite hidrolizado de soya, analizando el impacto de variables como el tipo de cultivo probiótico (*Propionibacterium* y *Lactobacillus*) y el efecto de la temperatura de hidrólisis de la proteína (Xu, 2005).

Los efectos en contenidos de ALC usando cultivo de yogur y cuando este se combina con *Lactobacillus rhamnosus* se han reportado usando tres niveles de inoculación del orden de 10 a la 6,7 y 8 UFC/ml. Las diferencias mas significativas se observan en el isómero cis-9, trans-11 ALC, el cual varia de 0,41mg/g de grasa en el día uno a 0,58 mg/g en el día 14 para el inóculo de orden 6 y en con la combinación del cultivo de yogur y *L. rhamnosus* la variación entre el día 1 y el 14 de almacenamiento en el mismo isómero y para el mismo orden de inóculo fue de 0,47mg/g de grasa a 0,52 mg/g (Xu, 2006).

En medios acondicionado con buffer en concentraciones de 50 mM se logran concentraciones de 10,8 mg ALC/g grasa luego de 6h de fermentacion con *L. lactis I-01.a* en un medio que no contenia ALC (Kim, 2002).Otros estudios han evaluado la influencia del cultivo láctico y aditivos como el acido linoleico y fructo-oligosacaridos reportando contenidos del isómero c9 t11 de ALC de 2,33 y 2,95 microgramos/g de yogur para las mezclas con acido linoleico-fructooligosacarido y con adición de ácido linoleico respectivamente(Lin 2003).

Debido a la capacidad de ciertos microorganismos de bioisomerizar el acido linoleico a ALC se ha evaluado la actividad de la acido linoleico isomeraza en extractos enzimaticos de *Lactobacillus acidophilus* y *Propionibacterium freudenreichii ssp. shermanii*, mostrando resultados potenciales para la producción de ALC por esta vía (Lin 2002).

La posible ruta de bioisomerización para la obtención de ALC por *Lactobacillus acidophilus* se presenta en la figura 4

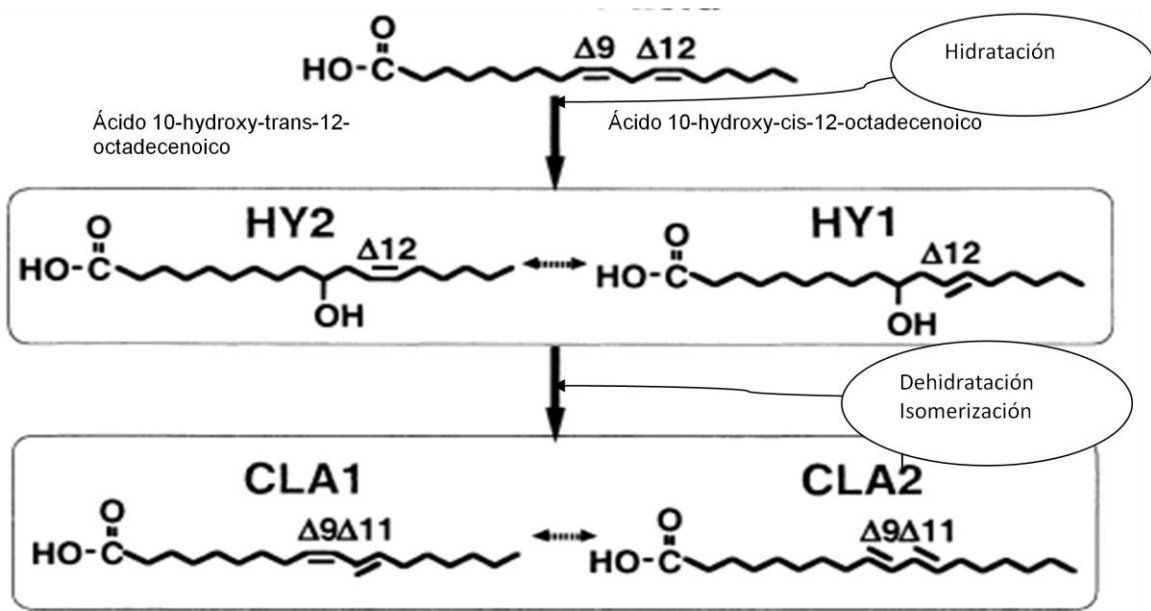


Figura 4 Ruta metabólica propuesta para la bio isomerización de ALC por *L. Acidophilus*. (tomado de Ogawa 2005).

Estudios detallados presentan tres elementos fundamentales relacionados con la producción de ALC para diferentes especies microbianas que son, la existencia de múltiples microorganismos con capacidad para transformar el ácido linoleico en ácido linoléico conjugado, estos microorganismos producen dos isómeros específicos del ALC que son el C18:2 9c 11t y el C18: 9 t 11 t y estos isómeros se originan de dos hidroxil ácidos grasos que son el ácido 10-hydroxy-trans-12-octadecenoico y al ácido 10-hydroxy-cis-12-18:1 (Ogawa 2005).

Estas reacciones están mediadas por un paquete (difosfato Isomerasa y 4-hydroxybutyryl-CoA dehidratasa) enzimático codificado por el gen DQ239438 (Liavonchanka 2008)(Cao 2005).

De acuerdo con los estudios citados, puede evidenciarse que son muchos los aspectos que influyen en la concentración del ALC de las bebidas lácteas fermentadas y que los resultados presentan una gran variación. Lo que se ve influenciado en la gran diferencia en el contenido de ALC en la leche, cuya concentración está dada por la región (Collomb et col., 2002), la dieta animal (Stanton et col., 2003), el clima y las variaciones

estacionales (Ledoux et col., 2005), aun así las condiciones de operación también ejercen una influencia en la concentración del ALC en las leches ácidas.

Una caracterización del contenido de ALC en las bebidas lácteas fermentadas, que incluya las particularidades de la leche colombiana y del proceso de elaboración, es necesaria, dado que el conocimiento del mecanismo de la formación de ALC en derivados lácteos a través de su producción es crucial para conservar o incrementar el contenido de esta biomolécula, dándole un mayor valor agregado a la cadena y posibilitando una mayor participación en los mercados.

En Colombia, ningún estudio había evaluado los efectos de la incorporación de bacterias probióticas en la concentración de ALC y en las características de calidad organoléptica del kumis, una de las dos bebidas lácteas fermentadas de mayor consumo en nuestro país. Alimentos ricos en ALC no han sido aún lanzados al mercado colombiano. Sin embargo, es de esperarse que en el mediano plazo las grandes compañías desarrollen este tipo de productos, dadas las excelentes propiedades funcionales de esta biomolécula.

1.2.6. Kumis:

Es un producto tradicional y una de las bebidas lácteas fermentadas de más consumo en Colombia, después del yogur. Es elaborado de manera industrial por acidificación de la leche entera o parcialmente descremada, con acción de cultivos mesófilos (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* y *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*) que desarrollan procesos de fermentación por tiempos entre 20 y 24 horas a temperaturas entre 26 y 28 °C hasta alcanzar un pH entre 4,00 y 4,70 Este producto toma su nombre del koumiss que es una bebida láctea fermentada originalmente con levaduras como el kéfir y la leche *Acidophilus*-levadura (Robinson & Tamime, 1990). Este producto es originario de Rusia y países de Europa del este (F.V.Kosikowski, 1977). Originalmente es elaborado con leche de yegua, aunque en la actualidad se elabora con leche de vaca y adición de suero para lograr una textura similar al producto original. Los primeros reportes de la diferenciación entre Koumiss y Kumis son presentados en 1962 con el fin de definir el

tipo de leche del cual se elabora el producto, (yegua y vaca respectivamente) (J.Berlin, 1962).

El Ministerio de la Protección Social de Colombia en 1986 mediante la resolución 2310 de 1986, define el kumis como un producto obtenido a partir de leche higienizada, coagulada por la acción de *Lactococcus lactis* o *cremoris*, los cuales deben ser abundantes y viables en el producto final. Se puede clasificar según el contenido de grasa láctea en entero, semidescremado, descremado y según se adicione o no azúcar. En Colombia el kumis es obtenido por fermentación acidoláctica a partir de leche bovina.

1.3.1 Diseño experimental:

La unidad experimental fue constituida por muestras por triplicado de kumis de 250 mL, a estas se les aplicaron cada uno de los tratamientos. Para cada una de las muestras de los productos, el diseño experimental correspondió a un planeamiento factorial completamente al azar (Mongtomery 2004), el cual tuvo como factores principales el tipo de sustrato, el tiempo de la reacción de fermentación, el tipo de bacterias probióticas utilizadas y el tiempo de almacenamiento. El factor tiempo de la reacción de fermentación cuenta con tres niveles, mientras que los factores tipo de bacterias probióticas y tipo de sustrato cuentan con cuatro y dos niveles, respectivamente. El análisis de varianza se hizo utilizando el modelo GLM (General Linear Models) y la comparación de las medias se realizó por la mínima diferencia significativa ($P \leq 0,05$) (test tukey), utilizando el software SAS (Statistical Analysis System, SAS Institute, 2000).

El modelo incluye interacciones de primer, segundo y tercer orden. Este puede plantearse de la siguiente forma:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \rho_k + \gamma_l + (\alpha\beta)_{ij} + \dots + (\rho\gamma)_{kl} + (\alpha\beta\rho)_{ijk} + \dots + (\beta\rho\gamma)_{jkl} + (\alpha\beta\rho\gamma)_{ijkl} + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde:

Y_{ijkl} :	Respuesta de la variable	μ :	Media general de la variable
α :	Efecto del sustrato	i :	2
β :	Efecto del cultivo	j :	4
ρ :	Efecto del tiempo de fermentación:	K :	3
γ :	Efecto del tiempo de almacenamiento	l :	4
ε_{ijkl} :	Error experimental		

1.3.2 Análisis Sensorial:

Las muestras de kumis que presentaron los mejores resultados en cuanto a su contenido de ALC se sometieron a pruebas de evaluación sensorial. Para ello se utilizó una prueba triangular con ocho (8) panelistas entrenados, en la cual se presentan dos muestras iguales y una diferente. Las muestras fueron codificadas y los panelistas determinaron cuál era la muestra diferente. De esta manera se determinó con un nivel de confianza del 95%, qué tratamientos no se diferencian del control, para estar seguros que los tratamientos, al menos, no causan deterioro en la calidad sensorial de los productos. El análisis estadístico de esta prueba se realizó comparando el número de aciertos de los panelistas, con tablas específicas para la prueba triangular.

Posteriormente las muestras se sometieron a la prueba descriptiva de puntajes, también con ocho (8) panelistas entrenados. En esta prueba los panelistas asignaron calificaciones para los atributos de color, apariencia, flavor (aroma y sabor) y textura (viscosidad, pegajosidad, arenosidad). Los panelistas recibieron entrenamiento en la identificación de las cualidades y defectos y en el manejo de las escalas de calificación. Los resultados de esta prueba se analizaron por el método no paramétrico de Friedman ($P \leq 0,05$) en el cual los puntajes originales se ordenan obteniendo un *ranking*, con los que se obtiene un estadístico T calculado, el cual es comparado con el valor del estadístico chi cuadrado (Martinez 2008). A los dos tratamientos que obtuvieron el mejor *ranking* promedio se les aplicó una prueba de consumidores utilizando una escala hedónica de cinco (5) puntos. Los panelistas para esta prueba fueron 50 personas no

entrenadas, consumidores habituales de yogur y kumis. Los resultados de esta prueba se analizaron con estadística descriptiva.

1.3.3 Elaboración de las muestras de Kumis:

Leche entera en polvo se reconstituyó a un nivel de 3,5% de materia grasa y 9,0% de sólidos no grasos, en la tabla 7, se presenta la composición reportada por el fabricante. Luego de la adición de azúcar (80 g/litro de leche), la mezcla fue homogeneizada (65°C, 200 bar) y tratada térmicamente (10 minutos a 90°C) con el fin de eliminar las bacterias patógenas y no patógenas alterantes del producto, mejorar sus propiedades como sustrato de los cultivos iniciadores y favorecer las propiedades físicas. En la figura 5 se muestra un esquema del procedimiento para la elaboración de los kumis.

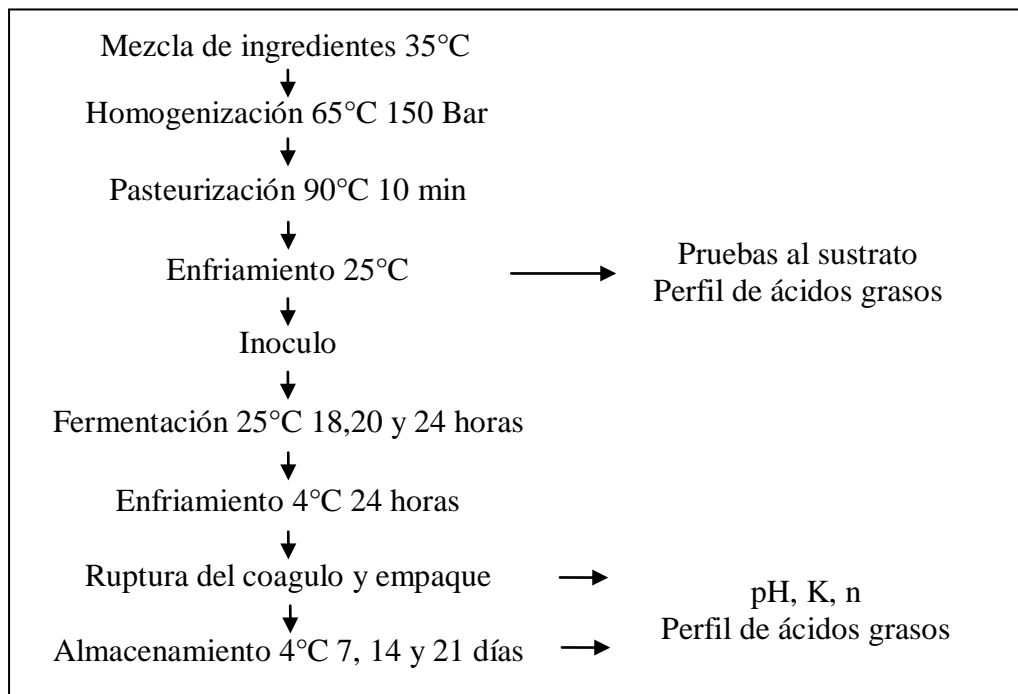


Figura 5 Esquema del procedimiento para la elaboración de los kumis.

Tabla 7. Composición de la leche en polvo, reportada por el fabricante

Composición de la leche en polvo entera (% p/p)	
Azúcares	45,2

Proteínas	27,1
Grasa	27,1
Humedad	3,0

Después del tratamiento térmico, se redujo la temperatura de la mezcla a 25°C, para inocular con cultivo mesofilo (*Lactococcus lactis ssp. lactis* y *Lactococcus lactis ssp. cremoris*) y los diferentes cultivos probióticos. Una vez terminado el periodo de incubación, se enfriaron los geles a 4°C por 24 horas para el posterior rompimiento del coagulo y envasado en recipientes de polietileno de 250 g y su almacenamiento refrigerado a 4°C durante tres semanas.

1.3.4 Variables estudiadas:

1.3.4.1 Sustratos:

Según los estudios realizados por Tung Y et al 1999 la adición de ácido Linoleico en concentraciones entre 1000 y 5000 microgramos/mililitro de leche descremada incrementa la producción de ALC en 24 horas de fermentación. Con la suplementación de aceite vegetal se busca incluir 1500 microgramos de AL en las mezcla para la fermentación y potenciar la producción de ALC

Dos tipos de sustrato se utilizaron: leche sin adición de fuentes de ácido linoleico (C18:2), y leche a la cual se le sustituye con aceite de soya al 5% de la grasa total, el cual tiene una concentración C18:2 entre 50 y 55%.

Las formulaciones usadas para los dos sustratos se presentan en la tabla 8.

Tabla 8. Formulaciones para la preparación de los sustratos

Materiales	% (p/p)	
	S1	S2
Agua	80,09	80,55

Leche entera en polvo	12,50	11,88
Azúcar	7,41	7,41
Aceite vegetal	0,00	0,16

El sustrato se caracterizó de acuerdo con los métodos presentados en la tabla 9

Tabla 9. Pruebas fisicoquímicas para la caracterización del los sustratos

PARÁMETRO	VALOR DE REFERENCIA	NORMA O MÉTODO
Densidad	1,030 – 1,033 g/mL	AOAC 947.05/1998
Contenido de grasa	Mínimo 3,0 % m/m	FIL-IDF Standard 105:1981 (Gerber)
Contenido de proteína	Mínimo 2,9% p/p	AOAC 939.02/1998
Extracto seco total	Mínimo 11,3 % m/m	AOAC 925.251998
Extracto seco desengrasado	Mínimo 8,3 % m/m	AOAC 925.251998
Acidez titulable	0,13 – 0,17 % m/v	AOAC 947.05/1998
pH	6,6 – 6,8	AOAC 973.41/1998
Prueba de Inhibidores	Negativa	Delvotest
Prueba de estabilidad	Negativa	Alcohol 68% p/p

1.3.4.2 Microorganismos:

Con el fin de verificar si la utilización de bacterias probióticas ejerce una influencia en la concentración de ALC en el kumis, se utilizaron los siguientes cultivos probióticos, utilizados comercialmente y han demostrado buena capacidad para la producción ALC: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium lactis*.

Estos cultivos son liofilizados, de uso directo fueron provistos por DANISCO de Colombia, empacados en película laminada multicapas con polietileno y polietilenteleftarato y almacenados a -20°C

En la tabla 10 se muestran algunas las características de los cultivos utilizados

Se realizaron cuatro mezclas de cultivos para la fermentación así:

K1: *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* y *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* (control).

K2: *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* y *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* + *Lactobacillus acidophilus*.

K3: *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* y *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* + *Lactobacillus rhamnosus*.

K4: *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* y *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* + *Bifidobacterium lactis*.

Tabla 10. Microorganismos utilizados en la fermentación

M.O.	Aspectos generales	Gram	Los tres cultivos probióticos utilizados presentaban las siguientes especificaciones microbiológicas reportadas por el fabricante: (tabla 11)
<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	1.2µm by 1.5µm, mesofílico, no termotolerante, homofermentativo <i>Streptococcus lactis</i> , CHOOZIT MA 11®	+	
<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>Lactis</i>	<i>Streptococcus cremoris</i> , mesofílico No esporulado, sin motilidad CHOOZIT MA 11®	+	
<i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM®	HOWARU™ Dophilus, No esporulado,	+	
<i>Bifidobacterium lactis</i>	No motulado, anaerobio, fermenta lactosa y otros azúcares a ácido acético L(+) y láctico. HOWARU™ <i>Bifidus</i> , seleccionado entre 2000 cepas que mostraron resultados benéficos en humanos en el sistema inmune y en la salud intestinal. Cultivo de baja acidificación.	+	
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	No esporulado la pared celular de <i>L. rhamnosus</i> contiene <i>rhamnosa</i> . HOWARU™ Rhamnosus. Formador de ácido láctico L(+), seleccionado entre 2000 cepas que mostraron resultados benéficos en humanos en el sistema inmune y en la salud intestinal. Cultivo de baja acidificación.	+	

ológicas reportadas por el fabricante: (tabla 11)

Tabla 11. Características microbiológicas de los cultivos usados.

Exámenes del cultivo	Recuento
Conteo celular	≥1.0x10 ¹¹ UFC/ml
Bacterias no ácido lácticas	< 100 / g

Enterobacterias	< 1 / g
Levaduras y mohos	< 10 / g
Enterococos	< 10 / g
<i>Staphylococcus aureus</i>	< 1 / g
<i>Bacillus cereus</i>	< 10 / g
<i>Salmonella</i>	Neg / 25 g
Listeria	Neg / 25 g

1.3.4.3 Tiempos de fermentación:

La fermentación fue llevada a cabo en frascos estériles de vidrio (Boeco) de 1 litro en incubadoras Mermmet 854 (Schutzart DIN 40050-IP20) a temperatura de 25 °C +/- 0,5 °C.

La velocidad de la reacción de fermentación está principalmente influenciada por la concentración de los cultivos iniciadores y dado que previos estudios sugieren que este parámetro influye en el contenido de ALC, se fermentó a tres tiempos diferentes 18, 20 y 22 horas

1.3.4.4 Almacenamiento: Se llevó a cabo a temperatura controlada de 4°C

T1: 0 semanas

T2: 1 semana

T3: 2 semanas

T4: 3 semanas

1.3.5 Metodologías analíticas:

1.3.5.1 Extracción de la materia grasa:

Las muestras de grasa de las leches y los kumis fueron extraídas siguiendo el método de Folch et al con algunas modificaciones. Para esta extracción se toma aproximadamente 7 gr de muestra que son mezclados con cloroformo-metano (2:1) y centrifugados a 5000 rpm por 10 minutos, la mezcla es transferida a un embudo de separación y mezclado vigorosamente con 7 ml de KCl (0.88% w/v). Luego es separada la fase orgánica, es filtrada sobre sulfato de sodio anhidro, para retirar los solventes a

vacio, las muestras son puestas en viales donde se secan con nitrógeno gaseoso y almacenadas a -20°C para su posterior análisis.

1.3.5.3 Cuantificación de ésteres metílicos de ácidos grasos:

Las muestras de grasa son transformadas en los correspondientes esteres metílicos de ácidos grasos (FAME) luego de la derivatización en medio alcalino usando metóxido de sodio anhidro 0,5M como lo describe Christie et al. Los FAMEs son analizados por cromatografía de gases (GC), usando un equipo Agilent 7890A. El programa del orno inicia a una temperatura de 60°C (Isotérmico por 1 minuto) y se eleva hasta 190°C a $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ y un periodo isotérmico de 12,5 minutos a 190°C . para un total de tiempo por análisis de 19 minutos. El inyector y el detector se encuentran a 250°C y se usa Helio como gas de arrastre con flujo de 2.0 mL/min. La separación de los FAMEs es realizada con una columna capilas BPX -70 (60m x 25 mm d.i. x 0.25 μm Espesor de película; SGE, Melbourne, Australia). Los ácidos grasos fueron identificados por comparación de los tiempos de retención de los correspondientes estadares de FAME (C4-C20 y ALC FAMEs) provistos por Sigma Aldrich (USA) en las mismas condiciones. Las áreas de los picos fueron integradas usando el software Agilent ChemStation. La cuantificación e identificación de los ácidos grasos se realizó siguiendo el método de estandar interno, realizando la curva de calibración para cada ácido graso.

1.3.5.4 Determinación del pH:

Los datos se tomaron a temperaturas entre 18 y 20°C con un pH metro Orion 420A+ con compensación automática de temperatura a 25°C .

(Orion Aplus instruction manual. Benchtop pH and pH/ISE Meters. Thermo electron corporation. 2003)

1.3.5.5 Medidas reológicas:

Se realizaron con un reómetro rotacional (Haake ROTOVISCO RV 20)(Manual) con cilindros concéntricos. El equipo cuenta con un sistema manual de variación de

velocidad del cilindro interno. La tasa de deformación variará entre 4,45 y 445,5 Pa s⁻¹. Los datos ascendentes y descendentes fueron usados para graficar la tasa de deformación (1/s) y el esfuerzo cortante (Pa) y obtener mediante regresión los parámetros del modelo de ley de potencia (K índice de consistencia (Pa/s) y n índice de flujo) (Basak S 1994)(Benezech T 1994).

Para la realización de las mediciones se uso el sistema de sensores sv que presenta las siguientes características Tabla 12.

Tabla 12. Características del sistema sensor SVII

Sistema de sensor SV	SV II
Cilindro interno rotor,	
Radio (mm).	10,1
Altura (mm)	19,6
Cilindro externo (Copa)	
Radio (mm)	11,55
Relación de radios	1,14
Volumen de la muestra (cm ³)	6
Rangos de temperatura (°C)	-30 a 100
Factor M5/M5 – Osc	
A (Pa / % τ)	37,6
M (s ⁻¹ /%D)	4,45
Factor M10	
A (Pa / % τ)	75,3
M (s ⁻¹ /%D)	8,9

Este sistema de sensores está recomendado por el fabricante para líquidos y pastas de alta viscosidad, permite el trabajo con rangos bajos y medios de tasa de deformación.

La ecuación 1 (ec 1) es la expresión usada para realizar la regresión al modelo de ley de potencia:

$$\tau = k\gamma^n \quad (\text{ec 1})$$

(Donde τ :Esfuerzo cortante (Pa) y γ : Tasa de deformación(1/s))

La temperatura fué mantenida constante usando un baño controlado que circula agua a $10\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ al interior de la chaqueta que rodea el cilindro externo. Previo a las medidas las botellas con el producto fueron agitadas entre 15 y 20 segundos.

1.4 Resultados.

1.4.1 Composición de los sustratos de partida (n=3)

La reconstitución de la leche en polvo se realizó para lograr contenido de 3,5% En la tabla 13. se presentan los valores obtenidos para las pruebas de control realizados a los sustratos.

Tabla 13. Valores de los parámetros de control para las leches reconstituidas

PARÁMETRO	Valor para las muestras	
	Sustrato 1	Sustrato 2
Densidad	1,0330 ± 0,000	1,0305 ± 0,0005
Contenido de grasa (%)	3,60 ± 0,00	3,75 ± 0,05
Contenido de proteína (%)	3,105±0.035	3,045±0.021
Extracto seco total (%)	13,14± 0,005	14,25 ±0,064
Extracto seco desengrasado (%)	9,54	10,50
Acidez titulable (%)	0,15 ± 0,00	0,15 ± 0,00
pH	6,53 ± 0,00	6,53 ± 0,00
Prueba de Inhibidores	Negativa	Negativa
Prueba de estabilidad	Negativa	Negativa

Las concentraciones de ácido linoleico y ácido linoleico conjugado en los sustratos después de homogenizados y pasteurizados se muestran en la tabla 14

Tabla 14. Concentración de ácido linoleico y ALC en los sustratos de partida.

Sustrato de partida	(C18:2c) linoleato mg AG/g grasa		CLA(C18:2) 9c-11 octadecadienoico mg AG/g grasa	
	[C18:2c]	D.E.	[CLA]	D.E.
Sin aceite de soya	9,10	0,56	12,74	1,38
Con aceite de soya	20,84	3,57	12,43	1,69

Los datos de concentración de ácidos grasos presentados en mg AG/ g Grasa para las muestras los sustratos son presentados en el anexo 1.

1.4.2 Kumis

1.4.2.1 pH.

Influencia del tipo de cultivo

Se presentaron diferencias significativas entre los valores medios del pH entre tratamientos ($P \leq 0.05$) siendo significativo el efecto principales cultivo, fermentación y almacenamiento.

Los valores medios de pH mas bajos fueron obtenidos con la mezcla de cultivos Choozit + Rhamnosus (3,95) y el valor promedio mas alto se logró solo con el cultivo Choozit (4,16). Como se observa en la figura 6.

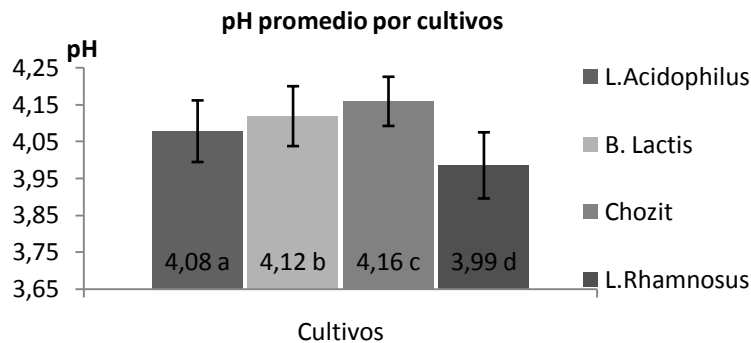


Figura 6 pH promedio para los diferentes cultivo n=72. Promedios con letras diferentes representan diferencias significativas, prueba de Tukey ($P \leq 0.05$)

Aunque las diferencias de pH fueron significativas, sensorial y tecnológicamente no son relevantes. Esto implica que se puede presentar a los consumidores y al sector industrial un producto en el que se use cualquiera de las cepas probióticas evaluadas sin producir rechazos en los consumidores o necesidades de adaptaciones tecnológicas en el proceso.

Influencia del tiempo sustrato

No se presentan diferencias significativas entre los valores promedios de pH para los diferentes sustratos.

Influencia del tiempo de fermentación

Se presentan diferencias significativas con una prueba de Tukey ($P \leq 0.05$) entre los valores promedios de pH para diferentes tiempos de fermentación, como se muestra en la figura 7.

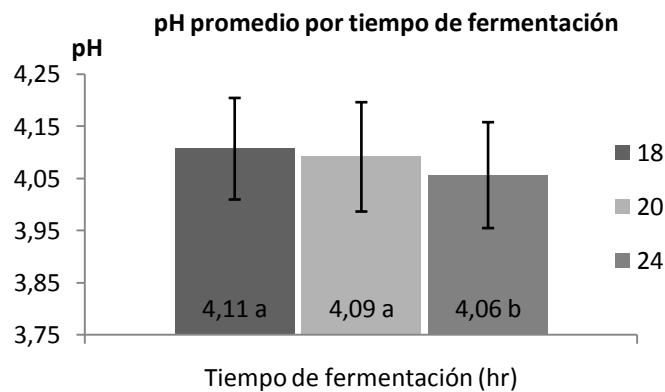


Figura 7 pH promedio por tiempos de fermentación n=96, Promedios con letras diferentes representan diferencias significativas con una prueba de Tukey ($P \leq 0.05$)

Aunque las diferencias de pH fueron significativas sensorial y tecnológicamente no son relevantes.

Influencia del tiempo almacenamiento

Durante la primera semana de almacenamiento se presenta una caída del pH, el cual incrementa en la semana dos con una caída final en la tercer semana, este comportamiento se puede evidenciar en la Figura 8.

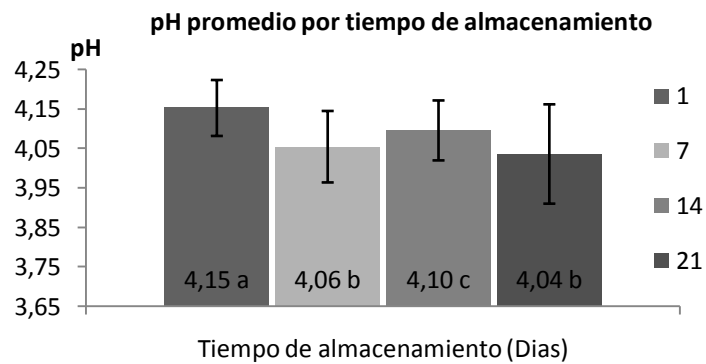


Figura 8 pH promedio por tiempos de almacenamiento n=72, Promedios con letras diferentes representan diferencias significativas con una prueba de Tukey($P \leq 0.05$)

1.4.2.2 Índice de consistencia *k* e índice de flujo *n*

No se presentaron diferencias significativas en el índice de consistencia *k* y en índice de flujo (para los tratamientos estudiados en el kumis).

En las figuras 9 y 10 se presentan los cambios en el pH y el índice de consistencia en los tratamientos estudiados.

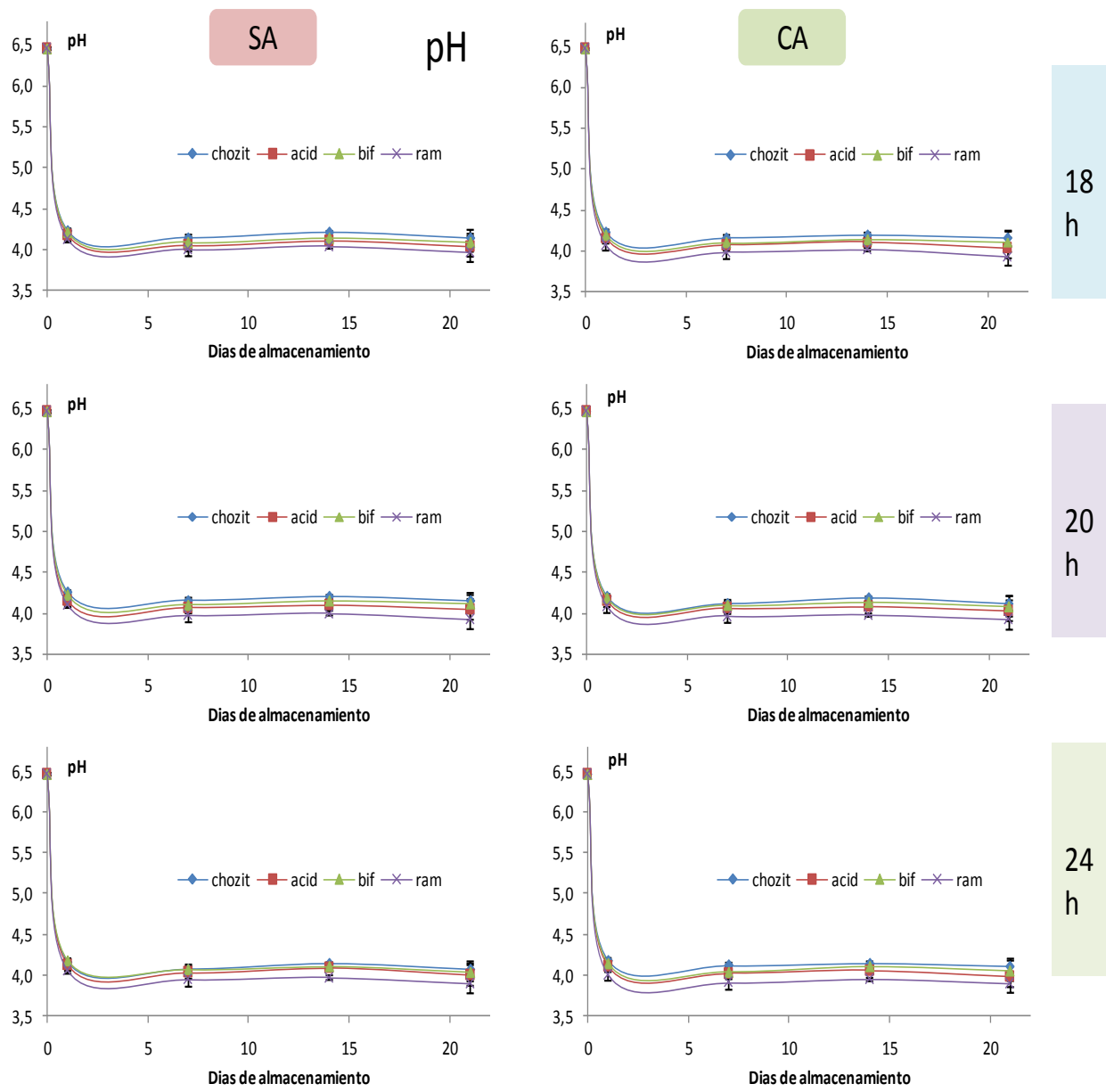


Figura 9. Cambios de pH de las muestras estudiadas durante el almacenamiento a 4°C.

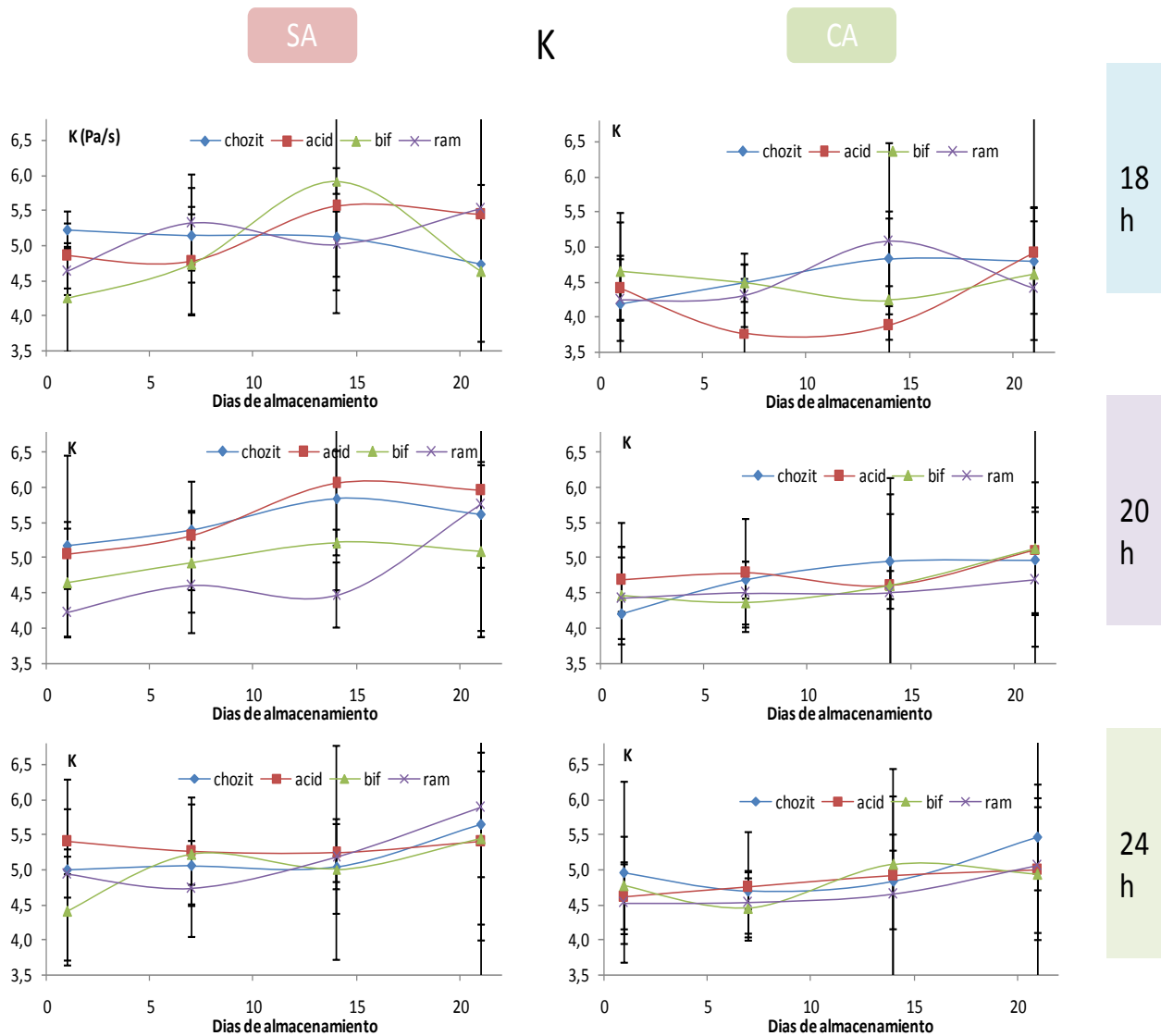


Figura 10. Cambios en el índice de consistencia de las muestras estudiadas durante el almacenamiento a 4°C.

Los datos de pH, índice de consistencia e índice de flujo usados en cálculos estadístico, para las muestras de kumis son presentados en el anexo 3.

1.4.3 Ácidos Grasos

1.4.3.1. Concentraciones de ALC.

Se presentaron diferencias significativas entre los valores medios de la concentración de ALC entre tratamientos ($P \leq 0,05$) siendo significativa la interacción de todos los factores cultivo, sustrato, fermentación y almacenamiento ($P \leq 0,05$).

En el sustrato sin adición de aceite vegetal, se presentaron incrementos significativos en la concentración de ALC ($P \leq 0,05$) entre la mezcla de partida (12,74 mg ALC/g grasa) y las mezclas fermentadas por 20 horas con Choozit (17,94 mg ALC/g grasa, incremento del 41%), con Choozit + *Acidophilus* fermentando 20 horas (20,09 mg ALC/g grasa, incremento del 58%) y las fermentaciones realizadas con Choozit + *Bifidobacterium lactis* por 18 y 24 horas (17,81 y 18,06 mg ALC/ grasa respectivamente, incrementos del 40% y 42%).

Solamente en las muestra fermentadas con Choozit + *Acidophilus* fermentando 20 horas (20,09 mg ALC/g grasa) se presentaron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre el inicio del almacenamiento y el día 21 en el cual se tiene para la misma muestra una concentración de 13,04 mg ALC/g grasa. Pero la concentración no cae por debajo de la concentración inicial de ALC en el sustrato de partida. Y en el caso de la muestra fermentada con Choozit por 20 horas se presentó un cambio de 17,94 a 12,20 mg ALC/g grasa entre los tiempos de 1 día y 21 días de almacenamiento respectivamente. En ambos casos los sustratos no tenían adición de aceite.

En el sustrato con adición de aceite vegetal solamente presentó un incremento significativo en la concentración de ALC ($P \leq 0,05$) entre la mezcla de partida (12,43 mg ALC/g grasa) y las mezcla fermentadas durante 20 horas con Choozit + *Acidophilus* (17,43 mg ALC/g grasa).

Los cambios en la concentración de ALC en los diferentes ensayos se presenta en la figura 11.

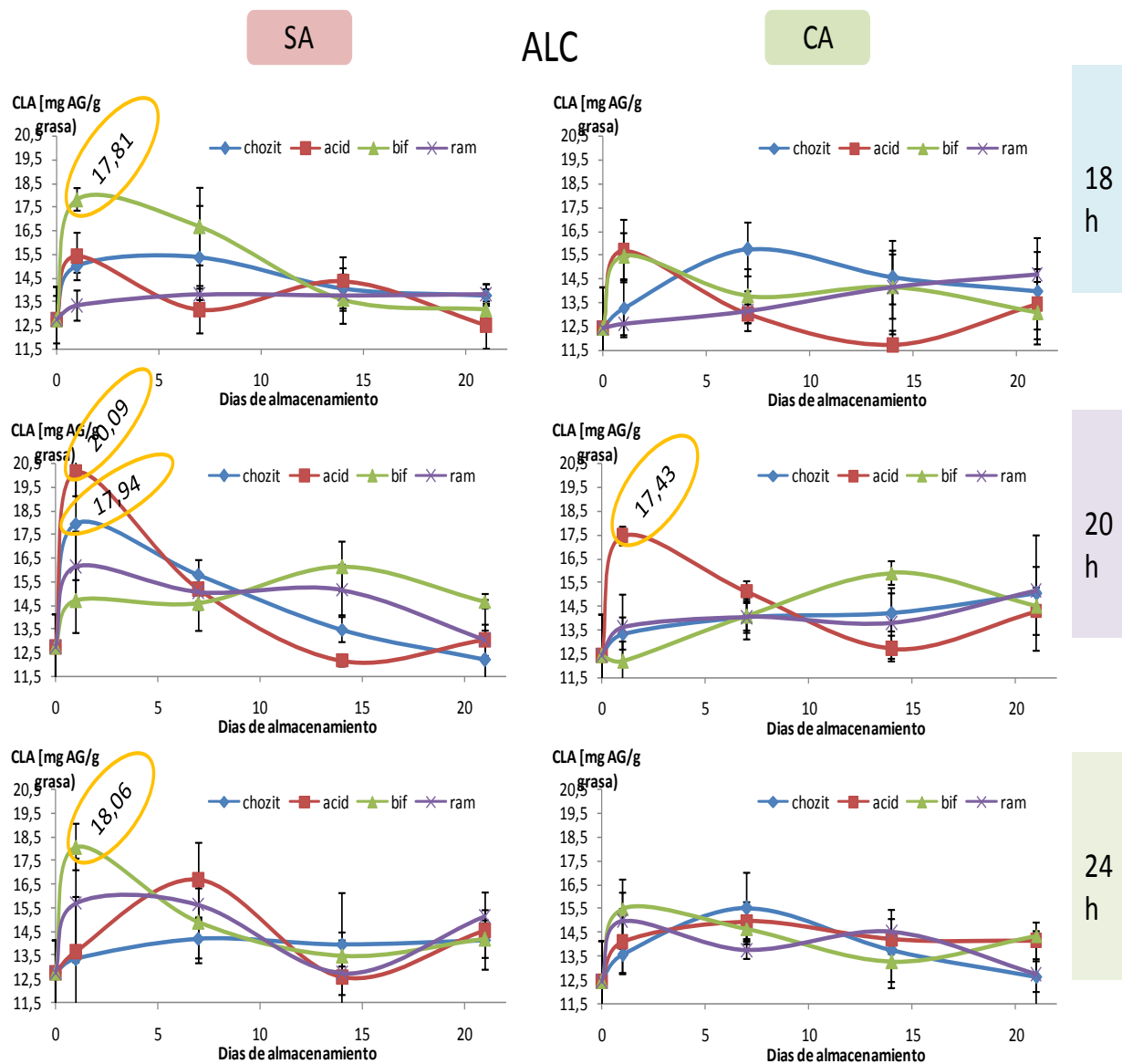


Figura 11. Variación de la concentración de ALC en los diferentes ensayos de kumis durante su almacenamiento a 4°C.

Influencia del tipo de cultivo

El valor medio de concentración de ALC mas alto fue obtenido con la mezcla de cultivos Choozit + *Bifidobacterium* (14,70 mg ALC/g grasa) y el valor promedio mas bajo se presentó con la mezcla de cultivos Choozit + *Rhamnosus* (14,18 mg ALC/g grasa) valores que presentan diferencia significativa entre si. Las comparaciones entre estos valores promedios se presentan en la figura 12.

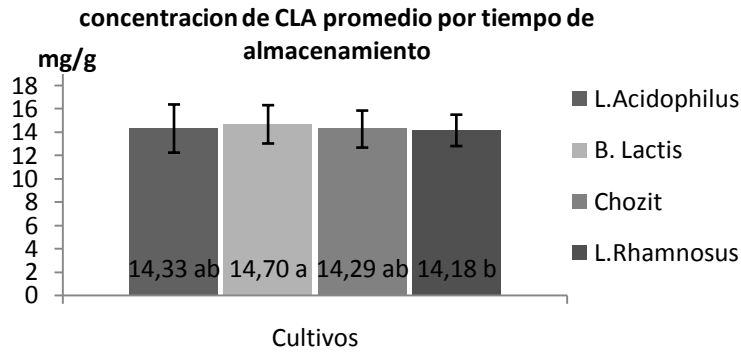


Figura 12 Concentración promedio de CLA para los diferentes cultivos n=72. Promedios con letras diferentes representan diferencias significativas con una prueba de Tukey ($P \leq 0.05$)

Las diferencias de concentración a pesar de ser estadísticamente significativas, no muestran diferencias marcadas entre cultivos.

Influencia del tipo sustrato

Los valores medios de concentración de ALC para los sustratos sin adición de aceite y con adición de aceite fueron $14,62 \pm 1,90$ y $14,13 \pm 1,40$ respectivamente (n=144), valores que aunque son muy cercanos presentan diferencia significativa ($P \leq 0,05$).

Influencia del tiempo de fermentación

El valor promedio más alto para el tiempo de fermentación se encontró en las fermentaciones realizadas por 20 horas como se muestra en la figura 13, valores que aunque son muy cercanos presentan diferencias significativas ($P \leq 0,05$).

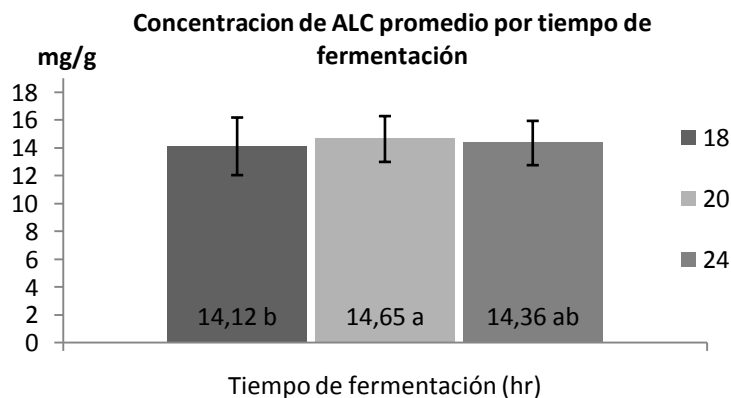


Figura 13. Concentración promedio de ALC para los diferentes tiempos de fermentación (n=96). Promedios con letras diferentes representan diferencias significativas con una prueba de Tukey ($P \leq 0.05$)

Los resultados sugieren un tiempo óptimo de fermentación cercano a 20 horas pues con mayor tiempo de fermentación se presenta una disminución en el contenido de ALC. Lo que tecnológicamente esta acorde con las recomendaciones de uso para cultivos con potencialidades proteolíticas como algunos mesofilos.

Influencia del tiempo almacenamiento

Durante la primera semana de almacenamiento no se presentan cambios significativos en el valor promedio de la concentración de ALC con relación a la concentración de ALC al terminar la fermentación. Pero cuando se alcanzan tiempos de almacenamiento de 14 y 21 días se presenta una caída significativa ($P \leq 0.05$) de la concentración de ALC. Pero cabe resaltar que los valores promedio de la concentración de ALC al terminar el tiempo de almacenamiento de 21 días son mayores a las concentraciones de ALC de partida en los dos sustratos que se fermentaron. En la figura 14 se presentan los valores promedio de la concentración de ALC durante el periodo de almacenamiento.

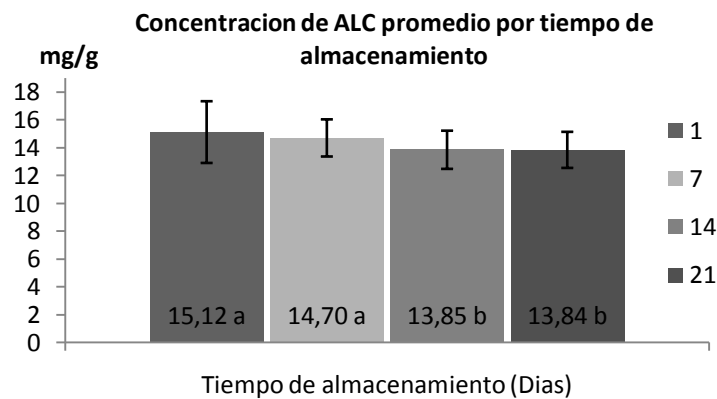


Figura 14. Concentración promedio de ALC para los diferentes tiempos de almacenamiento (n=72). Promedios con letras diferentes representan diferencias significativas con una prueba de Tukey ($P \leq 0.05$)

Los valores medios de concentración de ALC en todas las muestras estudiadas se presenta en las tablas 15 y 16

Tabla 15. Variación de la concentración de ALC en los diferentes ensayos de kumis sin adición de aceite, durante su almacenamiento a 4°C.

T. Almacenamiento		Sustrato 1 (Sin aceite de soya)							
		Día 1		Día 7		Día 14		Día 21	
Cultivos	F.T.	[ALC]	D.E	[ALC]	D.E	[ALC]	D.E	[ALC]	D.E
Chozit	18	15,01ab	0,29	15,38	2,15	14,06	0,85	13,77	0,45
	20	17,94ab	2,38	15,79bc	0,61	13,48c	0,53	12,20c	1,23
	24	13,36 a	0,17	14,20	0,84	13,97	2,15	14,14	1,25
<i>L. Acidophilus</i>	18	15,40ab	1,56	13,16	1,28	14,37	0,90	12,51	1,69
	20	20,09 b	1,00	15,16c	0,50	12,17c	0,25	13,04c	1,68
	24	17,39 ab	4,49	16,66	1,57	12,59	1,87	14,56	0,29
<i>B. Lactis</i>	18	17,81 ab	0,48	16,66ac	1,64	13,60c	1,04	13,16c	0,86
	20	14,70 ab	1,37	14,59	1,17	16,14	1,04	14,67	0,30
	24	18,06 ab	0,98	14,90ac	1,74	13,47c	0,66	14,18ac	0,79
<i>L. Rhamnosus</i>	18	13,33 a	0,64	13,80	0,24	13,78	0,67	13,82	0,41
	20	16,13 ab	1,47	15,04	0,74	15,14	1,07	13,02	0,66
	24	15,70 ab	1,88	15,64	0,68	12,74	0,28	15,14	1,00

T.F. Tiempo de fermentación, D.E. Desviación estándar. n=3 [ALC] en (mg AG/g grasa) Promedios con letras diferentes representan diferencias significativas con una prueba de comparaciones múltiples de Tukey (P≤0.05)

Tabla 16. Variación de la concentración de ALC en los diferentes ensayos de kumis con adición de aceite, durante su almacenamiento a 4°C. [ALC] en (mg AG/g grasa)

T. Almacenamiento		Sustrato 2 (Con aceite de soya)							
		Día 1		Día 7		Día 14		Día 21	
Cultivos	F.T.	[ALC]	D.E	[ALC]	D.E	[ALC]	D.E	[ALC]	D.E
Chozit	18	13,27	1,15	15,72	1,13	14,54	1,13	13,99	1,63
	20	13,34	0,68	14,05	0,58	14,23	0,80	15,04	2,42
	24	13,57	0,79	15,49	1,50	13,73	1,32	12,63	0,64
<i>L. Acidophilus</i>	18	15,65	1,31	13,02	0,40	11,70	0,61	13,42	1,47
	20	17,43a	0,39	15,12	0,42	12,71b	0,54	14,28	0,99
	24	14,11	1,37	14,95	0,81	14,19	0,23	14,13	0,77
<i>B. Lactis</i>	18	15,44	0,97	13,76	1,13	14,16	1,35	13,05	1,31
	20	12,17	0,84	14,08	0,71	15,88	0,5	14,51	0,42
	24	15,49	1,22	14,65	0,43	13,26	1,11	14,36	0,18
<i>L. Rhamnosus</i>	18	12,61	0,58	13,13	0,83	14,12	1,96	14,66	1,54
	20	13,59	1,39	14,04	0,94	13,76	1,48	15,12	1,01
	24	14,97	1,18	15,27	2,38	14,51	0,93	12,72	1,74

T.F. Tiempo de fermentación, D.E. Desviación estándar. n=3 [ALC] en (mg AG/g grasa) Promedios con letras diferentes representan diferencias significativas con una prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($P \leq 0.05$)

1.4.3.2. Concentraciones de ácido linoleico.

Se presentan diferencias significativas entre los valores medios de la concentración ácido linoleico entre tratamientos ($P \leq 0,05$) siendo significativa la interacción entre las variables cultivo, fermentación y almacenamiento ($P \leq 0,05$).

En el sustrato con adición de aceite vegetal se presentan caídas del orden de 21 a 13 mg AG/g grasa en la concentración de ácido linoleico en las diferentes muestras en la primer semana de almacenamiento mientras que las subsiguientes no se presentan diferencias significativas en la concentración de ácido linoleico.

En las muestras sin adición de aceite se presentaron incrementos en la concentración de ácido linoleico del orden de 9 a 15 mg AG/g grasa, coincidiendo algunos con el incremento en la concentración de ALC para este mismo sustrato, pues el mayor incremento de este ácido al igual que el ALC se presentó con la fermentación realizada

con Chozit + *L. Acidophilus* con incubación 20 horas. Los cambios en la concentración de ácido linoleico durante el tiempo de almacenamiento para los diferentes ensayos se presentan en la figura 15.

De manera general en el sustrato con adición aceite vegetal se notó la disminución en la concentración de ácido linoleico. Lo que puede ser originado por posibles efectos tóxicos del ácido linoleico en el metabolismo microbiano, como lo demostró Lin en 1999, estudiando diferentes tipos de bacterias acidolácticas incubadas variando la concentración de ácido linoleico vs la producción de ALC en leche reconstituida.

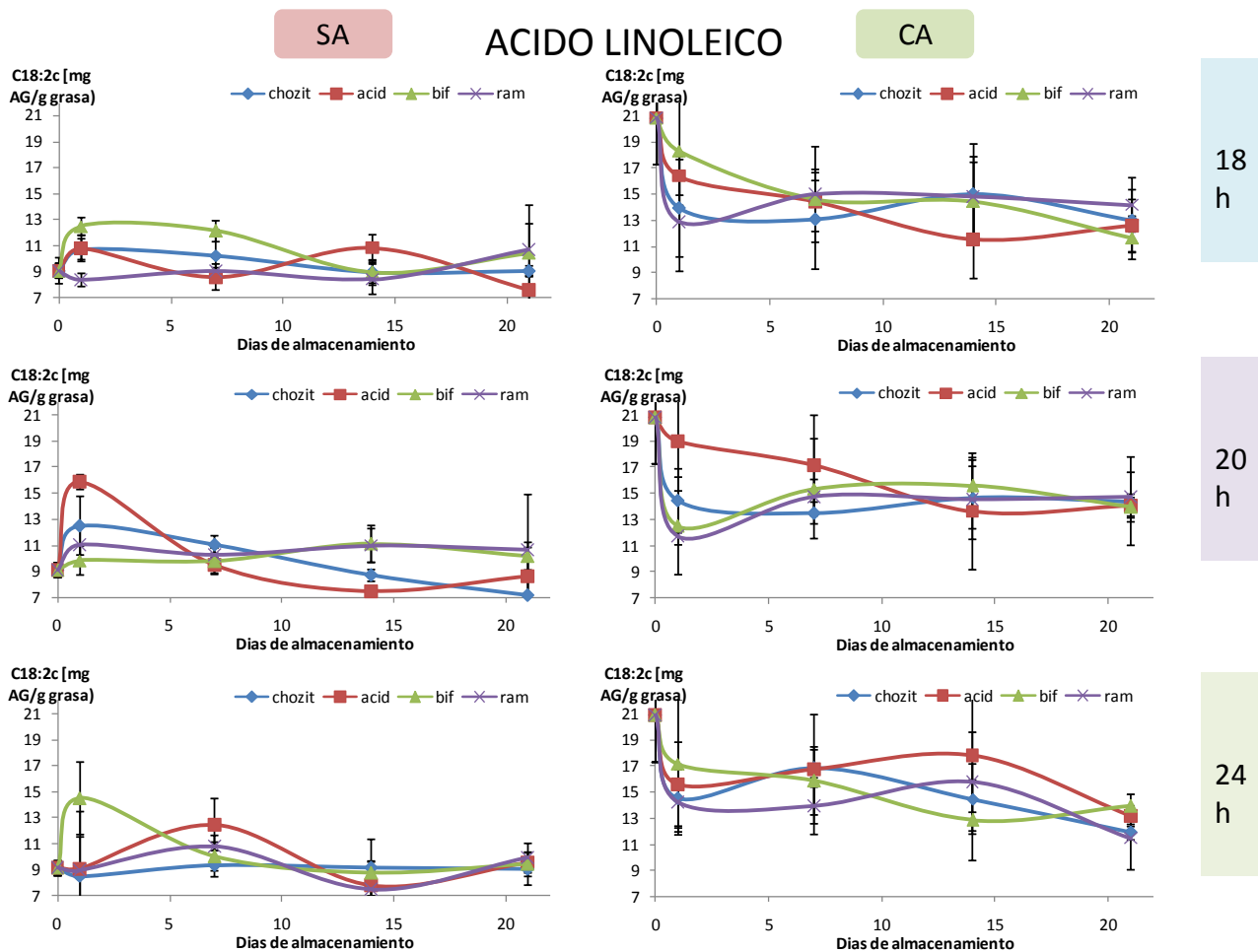


Figura 15. Variación de la concentración de ácido linoleico en los diferentes ensayos de kumis durante su almacenamiento 4°C.

Los datos de concentración de ácidos grasos para los cálculos estadístico, en unidades de mg AG/ g Grasa para las muestras de kumis son presentados en el anexo 2.

Influencia del tipo de cultivo

Los valores promedios de la concentración de ácido linoleico para los diferentes cultivos no presentaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$), estos valores son presentados en la figura 16.

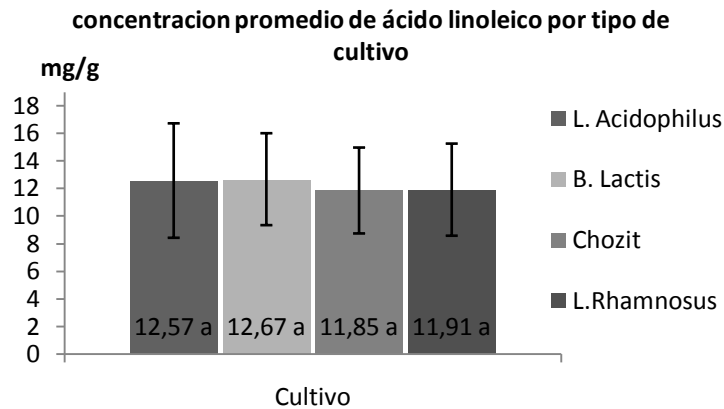


Figura 16. Concentración promedio de ALC para los diferentes tiempos de almacenamiento (n=72). Promedios con letras diferentes representan diferencias significativas con una prueba de Tukey ($P \leq 0.05$)

Influencia del tipo de sustrato

Los valores medios encontrados para los dos sustratos fueron para el sustrato sin adición de aceite $9,93 \pm 2,19$ y para el sustrato con adición de aceite $14,56 \pm 3,02$ (mg AG/g grasa) (n=144). Valores que presentan diferencias significativas entre ellos. Como se puede apreciar en la tabla 16. En los productos elaborados con el sustrato con adición de aceite se produjeron caídas menores en la concentración de ALC durante el almacenamiento en relación con los productos elaborados sin suplemento de aceite vegetal.

Influencia del tiempo de fermentación

No se presentan diferencias significativas entre valores medios de la concentración de ácido linoleico entre tiempos de fermentación. Los valores medios se presentan en la figura 17.

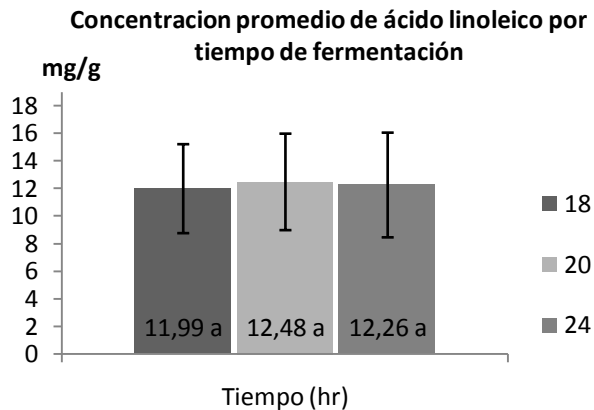


Figura 17. Concentración promedio de ALC para los diferentes tiempos de almacenamiento (n=72). Promedios con letras diferentes representan diferencias significativas con una prueba de Tukey ($P \leq 0.05$)

Influencia del tiempo de almacenamiento

Después de la tercer semana de almacenamiento se presentan descensos significativos ($P \leq 0.05$), (en los valores promedios de concentración de ácido linoleico por semanas, como se muestra en la figura 18.

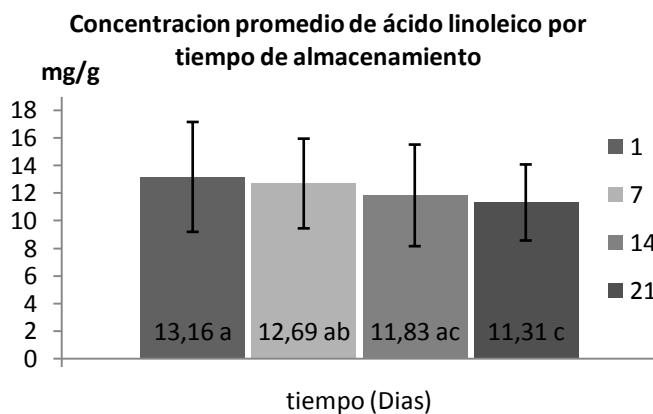


Figura 18. Concentración promedio de ALC para los diferentes tiempos de almacenamiento (n=72). Promedios con letras diferentes representan diferencias significativas con una prueba de Tukey ($P \leq 0.05$)

1.4.3.3. Aspectos generales del perfil de ácidos grasos.

Ácidos grasos saturados de cadena corta

Al finalizar el proceso de fermentación se presentan incrementos en los ácidos grasos C6, C8 y C10.

Los diferentes tipos de cultivos no generan diferencias significativas en las concentraciones medias de los ácidos grasos de cadena corta en las muestras fermentadas. ($P \leq 0.05$)

En los valores medios por sustratos para los ácidos grasos de cadena corta estudiados se presentan diferencias significativas que se reflejan en la reducción de los ácidos grasos de cadena corta en los sustratos con adición de aceite de soya. ($P \leq 0.05$)

El efecto de los tiempos de fermentación sobre los valores promedios de la concentración del ácido butírico no generó diferencias significativas, a diferencias de los ácidos grasos hexanoico, octanoico y decanoico los cuales presentaron los mayores valores promedio con fermentaciones de 20 horas, que presentan diferencias estadísticas significativas con las fermentaciones desarrolladas por 18 y 24 horas ($P \leq 0.05$).

De manera general el incremento en los tiempos de almacenamiento produce un descenso significativo en los valores promedio de la concentración de los cuatro ácidos grasos de cadena corta C4, C6, C8 y C10 ($P \leq 0.05$).

Ácidos grasos saturados de cadena media

De manera similar al caso de los ácidos grasos de cadena corta, la fermentación con las diferentes mezclas de cultivos generan incrementos en los ácidos grasos C12, C14 y C16.

Los valores promedios de concentración de los ácidos grasos C12, C14 y C16 por cultivos solo presentaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$), para el ácido graso C14, en este caso los mayores valores promedios de concentración los arrojó el *B.Lactis*.

La adición del aceite vegetal genera un efecto de dilución sobre estas cadenas carbonadas al comparar los valores promedios de concentración por sustratos ($n=144$).

Comportamientos similares a los ácidos grasos de cadena corta se presentan para los ácidos grasos de cadena media al evaluar los valores promedio de las concentraciones de los ácidos grasos con relación al tiempo de fermentación y de almacenamiento.

Ácidos grasos de cadena larga e insaturados

Se observa un incremento significativo de los ácidos grasos Linoleato y C18:3 Linolenato en los sustratos con adición de aceite vegetal.

Posterior a la fermentación el ácido graso estearico, presentó valores promedios de la concentración de este ácido graso más alto que los demás cultivos ($P \leq 0.05$). En los ácidos grasos oleato, linoleato y linolenato no se presentaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$), en los valores promedios de concentración para estos ácidos.

De manera semejante a los casos anteriores a mayores tiempos de almacenamiento mayor pérdida de ácidos grasos de cadena larga y saturados.

1.4.4. Análisis sensorial

1.4.4.1 Prueba triangular

En la tabla 17, se registran los aciertos obtenidos en cada una de las pruebas triangulares en los diferentes tiempos de almacenamiento.

Tabla 17. Resultados de las pruebas discriminatorias triangulares.

Días de almacenamiento	Aciertos	
	Triangular 1 ^a	Triangular 2 ^b
1	7	5
7	5	7
14	8	2
21	3	5

^a Dos muestras estándar, una muestra estándar + *L. acidophilus*.

^b Dos muestras estándar, una muestra estándar + *B. Bifidum*.

Para un nivel de confianza del 95% se requiere obtener menos de 6 aciertos para asegurar que hay diferencia entre las muestras. Por lo tanto, a partir de los datos reportados en la Tabla 2, se puede deducir que la prueba triangular 1, no presenta diferencias significativas durante los días 7 y 21 de almacenamiento, mientras que para la prueba triangular 2 se llega a la misma conclusión para los días 1, 14 y 21 de almacenamiento. Estos resultados indican que para los panelistas fue más difícil distinguir el kumis con adición de *B. bifidum* de la muestra estándar que el correspondiente con adición de *L. acidophilus*.

1.4.4.2. Prueba descriptiva

Tabla 18. Resultados estadísticos para las pruebas descriptivas.

EFECTO / ATRIBUTO	CULTIVO	TIEMPO	CULTIVO*TIEMPO
Color	NS	NS	NS
Aroma-Sabor	NS	0,038	NS
Acidez	0,017	NS	NS
Textura	0,044	NS	0,007
Calidad Global	0,006	NS	NS

NS: No Significativo

Los datos arrojados por el programa SAS para el modelo general lineal (GLM) presentados en la tabla 19, indican que el tiempo de almacenamiento, en general no presenta diferencias significativas ($P \leq 0.05$), en los atributos analizados en las diferentes muestras, mientras que el tipo de cultivo si presenta diferencias en la acidez, la textura y la calidad global del producto.

Los resultados obtenidos con la prueba de Tukey para un nivel de confianza del 95%, confirman que existen diferencias significativas entre el tipo de cultivo y los atributos de acidez, textura y calidad global; presentando mayores valores para estas tres características en el producto enriquecido con *B. bifidum*, sin embargo en función del tiempo esta variación no era significativa.

1.4.4.3. Prueba de consumidores

Debido a la que el tiempo de almacenamiento no es una variable significativa, como se expuso anteriormente, los resultados de la evaluación sensorial realizada a consumidores se toman como promedios para los cuatro tiempos de almacenamiento.

Como se ilustra en la Figura 19. la máxima ponderación obtuvo valores muy similares para los tres productos evaluados, sin embargo si se compara la aceptación del producto como la suma de los criterios gusta mucho y gusta, se observa que los productos enriquecidos con cultivo probiótico poseen mayor aceptación, 78 y 80%, para *L. acidophilus* y *B. bifidum* respectivamente, frente al 69% del producto estándar.

Estos resultados se ven reflejados en los porcentajes de posible compra del producto ya que, como se observa en la Figura 20. el kumis con adición de *B. bifidum* alcanza un porcentaje del 83% comparado con el 74% del kumis estándar y el 75% del kumis con *L. acidophilus*.

Los resultados de este estudio sugieren que el kumis enriquecido con cultivos probióticos es un producto fácilmente aceptado por los consumidores y que brinda la oportunidad de acceder a un producto de alto valor nutritivo.

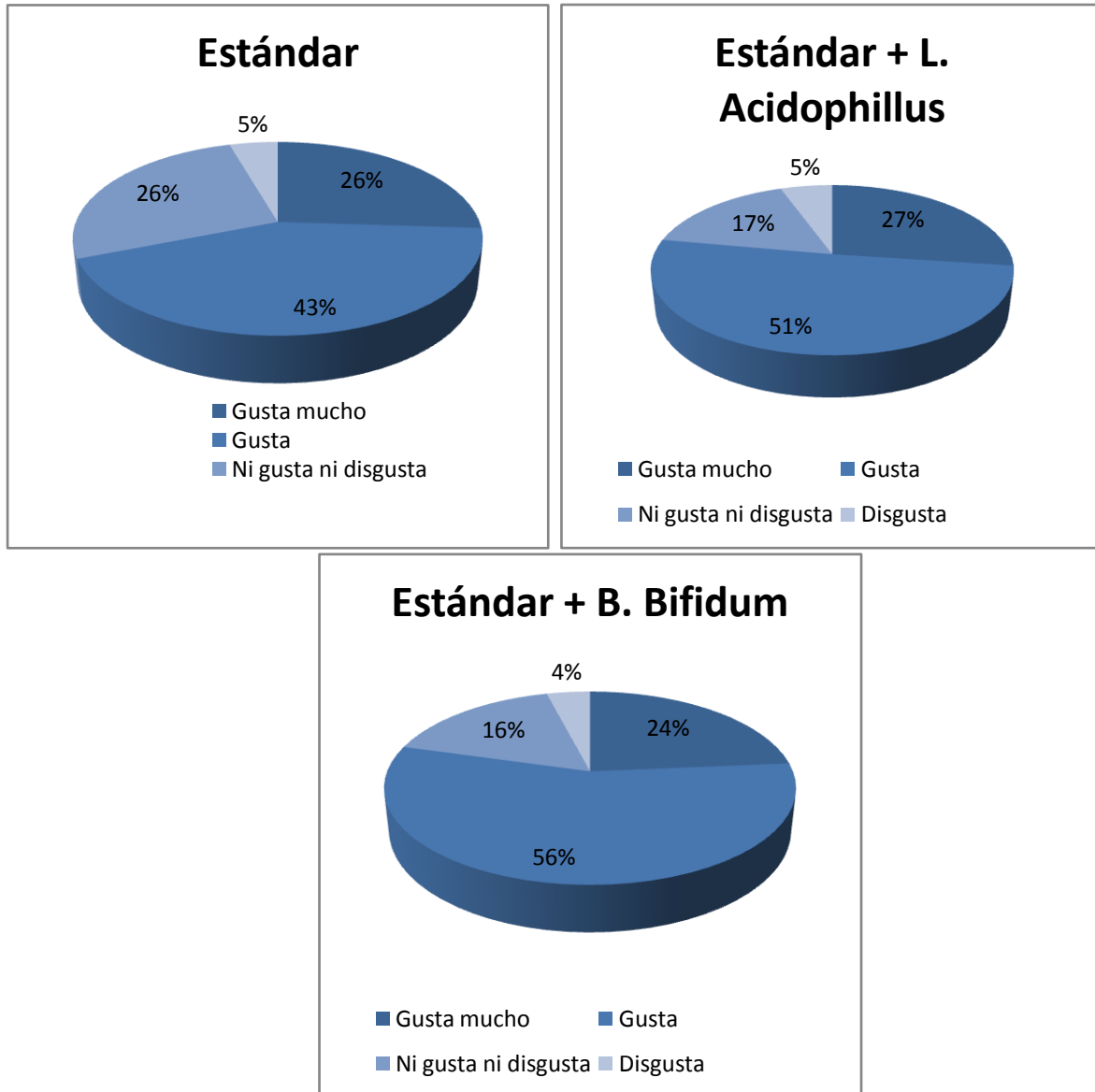


Figura 19. Resultados de la calificación realizada por consumidores para los diferentes tipos de kumis.

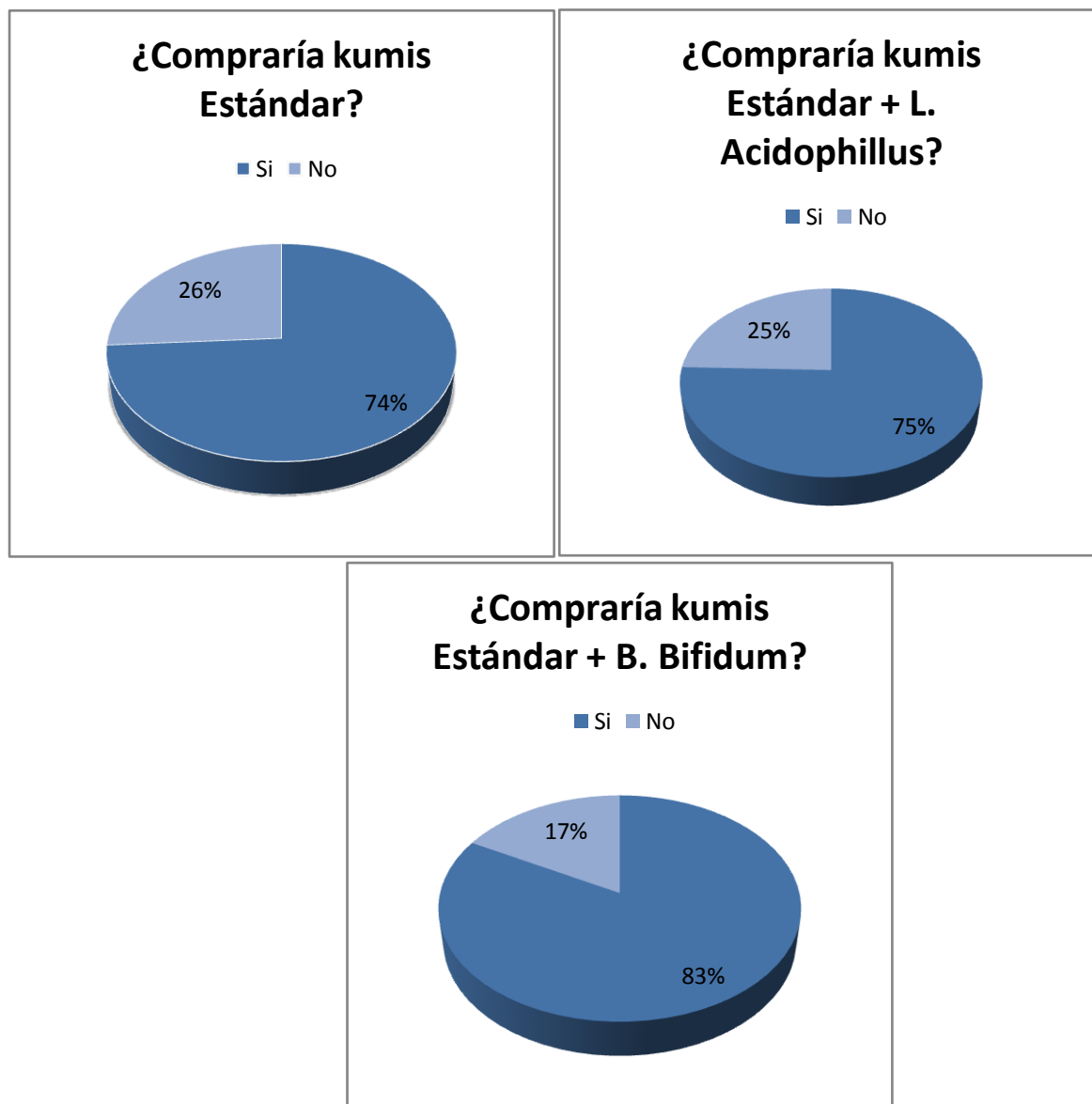


Figura 20. Resultados de la aceptación de consumidores para los diferentes tipos de kumis.

Los formatos de evaluación sensorial y el procedimiento de preparación de los panelistas entrenados se presentan en el anexo 4.

Los resultados de los análisis estadísticos para las variables estudiadas se presentan en el anexo 5.

1.4.4 Artículos.

Conjugated linoleic acid in kumis, a fermented milk consumed in Colombia

En este estudio se presentan y caracterizan los perfiles de ácidos grasos de ocho marcas comerciales de kumis colombianos distribuidos ampliamente en el mercado nacional, paralelo a esto se elaboran 6 muestras de kumis a nivel de planta piloto usando leche reconstituida, leche fresca semi descremada y dos tipos de cultivos diferentes de kumis. Además de los perfiles de ácidos grasos se determinaron parámetros fisicoquímicos como el pH, la acidez titulable, los índices de consistencia y flujo en las muestras evaluadas.

Influence of probiotic cultures, manufacture processing and storage time on the rheological properties of stirred yogurt

Por medio de la determinación de los parámetros de índice de consistencia e índice de flujo para un modelo de ley de potencia, se evaluaron los cambios producidos por diferentes cultivos probióticos en las propiedades de flujo del yogur agitado. A partir de estas propiedades se pueden calcular los perfiles de flujo en tuberías y las pérdidas de presión en este tipo de redes para los productos evaluados.

Condiciones de proceso para elevar los contenidos de ácido Linoleico conjugado (ALC) en kumis, bebida láctea fermentada con cultivos mesófilos y probióticos.

Para desarrollar un protocolo que permita elaborar bebidas lácteas fermentadas tipo kumis en las cuales se incremente el contenido de ALC, se aplicó un diseño experimental completamente a la zar con estructura factorial evaluando el efecto del tipo de sustrato, del tipo de cultivo, del tiempo de fermentación y del almacenamiento. Logrando reportar incrementos del 58% en la concentración de este ácido graso. También se evalúa el pH y las propiedades de flujo de las 72 muestras triplicadas. Todos los análisis y conclusiones se realizan con un nivel de significancia del 95%.

Concentraciones de ALC en kumis con adición *L. Acidophilus* y *B. Lactis* durante el almacenamiento refrigerado y sus propiedades sensoriales

Seleccioando los cultivos *L. Acidophilus* y *B. Lactis* se determinan los incrementos de ALC y los cambios en los perfiles de ácidos grasos en la fermentación para la elaboración de kumis y durante su almacenamiento refrigerado. Se evalúan las características sensoriales del producto por medio de una prueba discriminativa triangular y una prueba descriptiva complementado por una prueba de aceptación de consumidores. Los valores reportados para las diferentes variables estudiadas están en concordancia con los estudios previos realizados.

1.4.5. Participación en eventos.

Evento: Congreso Español de Biología e Ingeniería de Alimentos. España 2009.

Ponencia: “Influencia de la adición de aceite vegetal en las propiedades reológicas del yogurt agitado”. (Poster)

Autores: J.A. Osorio, M.R. Baron. L.F. gutierrez

Evento: Congreso Panamericano de lechería. Brasil 2009.

Ponencia: “Contenido de Ácido Linoleico conjugado en kumis Colombianos”. (Poster)

Autores: C.F. Novoa. J.A. Osorio, C. Ramirez L.F. gutierrez.

Evento: Simposio mundial de la federación de lechería. Noruega “Bebidas fermentadas”. 2010.

Ponencia: “Influence of probiotic cultures, manufacture processing and storage time on the rheological properties of stirred yogurt”. (Poster)

Autores: J.A. Osorio, M.R. Baron. L.F. gutierrez

Evento: Seminario internacional de lípidos lácteos funcionales. Colombia 2010.

Ponencia: “Contenido de Ácido Linoleico conjugado en kumis”. (Presentación oral)

Autores: J.A. Osorio, C.F. Novoa, L.F. gutierrez.

Evento: Seminario internacional de lípidos lácteos funcionales. Colombia 2010.

Ponencia: “Contenido de Ácido Linoleico conjugado en diferentes derivados lácteos”.
(Presentación oral)

Autores: .M.A. Matamoros, M.R. Ortiz. J.A. Osorio, C.F. Novoa, L.F. gutierrez.

Evento: Seminarios Posgrado En ciencia y tecnología de alimentos. 2010.

Ponencia: ““Contenido de Ácido Linoleico conjugado en kumis”. (Presentación oral)

Autores: J.A. Osorio, C.F. Novoa, L.F. gutierrez.

1.4.6. Trabajos relacionados en edición para publicación:

Caracterización de perfiles de ácidos grasos y contenidos de ácido Linoleico conjugado (ALC) en dulces de leche.

Estandarización de la metodología para la determinación de perfiles de ácidos grasos en productos cárnicos

Perfiles de ácidos grasos con énfasis en ALC en cortes cárnicos de ovinos y bovinos y sus cambios en la maduración.

Caracterización de los perfiles de ácidos grasos de sub productos cárnicos frescos y madurados.

2. Conclusiones

Es posible desarrollar kumis elevando los contenidos de ALC en un 58% con relación a la leche de partida por medio de la fermentación con *Lactococcus lactis ssp. lactis* y *Lactococcus lactis ssp. cremoris* en cocultivo con *Lactobacillus acidophilus* y en cocultivo con *Bifidobacterium lactis* se logran incrementos del orden del 42% siendo este incremento mas estables en el tiempo de almacenamiento

La adición de aceite vegetal generó mayor estabilidad en la concentración de ALC durante el almacenamiento, en estas muestras no se presentaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre el inicio y el final del almacenamiento contrario a las muestras sin adición de aceite en las cuales se presentaron caídas significativas en esta etapa.

Los valores de pH e índice de consistencia K son coincidentes con los valores encontrados en las muestras comerciales ya estudiadas por esto se pueden desarrollar bebidas lácteas fermentadas con incrementos en ALC sin modificar los sistemas tecnológicos usados tradicionalmente para la producción de kumis.

Los panelistas distinguen con mayor facilidad el kumis con adición de *B. Bifidum* de la muestra estándar que con adición de *L. acidophilus*. El tiempo de almacenamiento, no produce diferencias significativas en los atributos analizados en las diferentes muestras.

El tipo de cultivo afecta significativamente ($P \leq 0,05$) la acidez, la textura y la calidad global del producto. Presentando los más altos puntajes el producto enriquecido con *B. Bifidum*. Los productos enriquecidos con cultivo probiótico presentan mayor aceptación, 78 y 80%, frente al 69% del producto control.

Los protocolos de proceso desarrollados permiten proponer la forma de elaborar un kumis funcional con aceptación por parte de los consumidores y con un contenido de ALC aproximado por porción (de 250 g) de 183 mg, que representa el 72% del consumo

diario promedio estimado, de este ácido graso para Colombia y puede aportar una cantidad considerable como para producir reducciones de la masa corporal en personas sanas con actividad física frecuente.

3. Recomendaciones

Realizar investigaciones para optimizar los sistemas de envasado y almacenamiento con el fin de mantener estables las concentraciones de ALC que se alcanzan luego de la fermentación. Se debe buscar llenadoras y envases que eviten la oxidación y deterioro de los ácidos grasos insaturados con actividad biológica presentes en el kumis o en otras bebidas lácteas con contenidos de ALC.

Optimizar la concentración de aceite vegetal a adicionar al sustrato lácteo para lograr mayores concentraciones de ALC luego de la fermentación, ya que esta adición permite estabilizar el perfil de ácidos grasos durante el almacenamiento y reduce el índice de aterogenicidad del kumis.

4. Bibliografía.

Alosno, L., Cuesta, E. P., & Gilliland, S. E. (2003). Production of free conjugated linoleic acid by *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* of human intestinal origin. *Journal of Dairy Science*, 86 (6), 1941-1946.

Aneja, R.P., & Murthi, T.N. (1990). Conjugated linoleic acid contents of Indian curds and ghee. *Indian Journal of Dairy Science*, 43, 231-238.

Basak. S. And H.S. Ramaswamy. Simultaneous evaluation of share rate and time dependency of stirred yogurt rheology an influenced by added pectin and strawberry concentrate. *Journal of food engineering (London)* . 1994

Benezech. T. and J.F. Maingonnat. Characterization or rheological properties of yogurt. A review. *Journal of food Engineering. (London)*. 1994.

Berlin. P.J. Koumiss and Bull. International Dairy Federation. Brussels. Belgium, Part IV. Section A 1-16.

Beorlegui B. C. 2004. Cambios en el perfil de acidos grasos en productos animales en relación con la alimentación animal y humana. Importancia de lacido linolecio conjugado. 1. Rumiantes. XX curso de especialización FEDNA. Barcelona 22-23 novimebre. Pag 79-100.

Blankson H, Stakkestad JA, Erling HF, Wadstein TJ and Gudmundsen O. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweighth and obese humans. *The Journal of Nutrition* (2000). 2943-2948.

Bhattacharyaa, A. J.Banua, M.Rahmana, J.Causeyb, G.Fernandesa, REVIEWS: CURRENT TOPICS Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. *Journal of Nutritional Biochemistry*. (2006). 789– 810

Boylston, T.D., & Beitz, D.C. (2002). Conjugated linoleic acid and fatty acid composition of yogurt produced from milk of cows fed soy oil and conjugated linoleic acid. *Journal of Food Science*, 67 (5), 1973-1978.

Campbell, W.; Drake, M.A.; & Larick, D.K. (2003). The impact of fortification with conjugated linoleic acid (CLA) on the quality of fluid milk. *Journal of Dairy Science*, 86(1), 43-51.

Cao J, Wang Y. J, Yu H. D, Wang Y. N. Cloning and Expression of Linoleate isomerase Gene from *Lactobacillus acidophilus* AS1.1854 and Properties of the Recombinant Enzyme. seq. ID DQ239438 2005

Chin, S.F., Liu, W., Storkson, J.M., Ha, Y.L., & Pariza, M.W. (1992). Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *Journal of Food Composition and Analysis*, 5 (3), 185-197.

Christie, W.W. (2001). A practical guide to the analysis of conjugated linoleic acid (CLA). *Inform*, 12, 147-152.

Chamba, J.F., Chardigny, J.M., Gnadig, S., Perreard, E., Chappaz, S., Rickert, R., Steinhart, H., & Sebedio, J.L. (2006). Conjugated linoleic acid (CLA) content of French Emmental cheese: effect of the season, region of production, processing and culinary preparation. *Lait*, 86 (6), 461-467.

Collomb, M., Butikofer, U., Sieber, R., Jeangros, B., & Bosset, J.O. (2002). Composition of fatty acids in cow's milk fat produced in the lowlands, mountains and highlands of Switzerland using high-resolution gas chromatography. *International Dairy Journal*, 12 (8), 649-659.

Collomb. M, Schmid. A, Sieber. R, Wechsler. D, Ryhanen. E.L. 2006. Conjugated linoleic acid in milk fat: Variation and physiological effects. *J. Dairy Sci* 16: 1347 - 1361.

Coradini D, Biffi A, Costa A, Pellizzaro C, Pirronello E, Di Fronzo G.. Effect of sodium butyrate on human breast cancer cell lines. *Cell proliferation* (1997) 149-159.

Dave, R.I., & Shah, N.P. (1997). Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, 7 (1), 31-41.

Dewhurst. R.J., Shingfield. K.J., Lee. M.R.F., Scollan. N.D. 2006. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Animal feed science and technology*. 131:168 - 2006.

Durgam, V.R G.Fernandes. The growth inhibitory effect of conjugated linoleic acid on MCF-7 cells is related to estrogen response system. *Cancer Letters* (1997). 121-130.

Ens J.G, D.W.L.Ma, K.S.Cole, C.J.Field and M.T.Clandinin. An assessment of c9,t11 linoleic acid intake in a small group of young Canadians. *Nutrition Research* (2001), 955-960

FAO. Organización de las Naciones Unidas par la Agricultura y la Alimentación. www.fao.org

FEDEGAN. Federación Colombiana de Ganaderos. www.fedegan.org.co

Folch, J., Lees, M. y Stanley, G.H.S., 1957, A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues, *Journal of Biological Chemistry*, 226, 497-509.

Fritsche J, Steinhart H. Amounts of conjugated linoleic acid (CLA) in German foods and evaluation of daily intake. *Z Lebensm Unters Forsch A* (1998).

Frede E, Precht D, Timmen H. Lipide: Fettsäuren, Fette und fettebegleitstoffe einschließlich fettlöslicher Vitamine. Kompendium zur milchwirtschaftlichen Chemie. (1990) 57-78

Fremann D., J. Linseisen and G. Wolfram. Dietary conjugated linoleic acid (CLA) intake assessment and possible biomarkers of CLA intake in young women. Public Health Nutrition: (2002), 73-80

Fritsche, J., & Steinhardt, H. (1998). Amounts of conjugated linoleic acid (CLA) in German foods and evaluation of daily intake. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung A – Food Research and Technology, 206, 77–82.

Garcia-Lopez, S., Echeverria, E., Tsui, I., & Balch, B. (1994). Changes in the content of conjugated linoleic acid (CLA) in processed cheese during processing.

Griinari J.M, Corl B.A, Lacy S.H, Chouinard P.Y, Nurmela K.V.V. and D.E. Bauman, Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by delta-9-desaturase, Journal of Nutrition (2000), pp. 2285–2291.

Hayek M.G., Han S.N., Wu D., Watkins B.A., Meydani M., Dorsey J.L., Smith D.E., Meydani S.N. Dietary conjugated linoleic acid influences the immune response of young and old C57BL/6N CrIbr mice. The Journal of Nutrition (1999) 23-38.

Holmann F.; Rivas L.; Carulla J.; Rivera B.; Giraldo L.A.; Guzman S.; Martinez M.; Medina A.; Farrow A. 2006. X seminario de Pastos y Forrajes.

Instituto Colombiano de Bienestar Familiar. Encuesta nacional de la situación nutricional en Colombia 2005. Primera edición. Bogotá. (2006). 302-310.

Ip C. Review of the effects of trans fatty acid, oleic acid, n-3 polyunsaturated fatty acids, and conjugated linoleic acid on mammary carcinogenesis in animals. *The American Journal of Clinical Nutrition* (1997). 1523-1529.

Jahreis G., J. Fritsche, P. Mockel, F. Schöne, U. Moller, H. Steinhart. The potential anticarcinogenic conjugated linoleic acid, cis-9,trans-11 CLA in milk of different species: cow, goat, ewe, sow, mare, woman. *Nutrition Research*, (1999). 1541-1549.

Jenkins T. C.; McGuire M. A. 2006. Major Advances in Nutrition: Impact on Milk Composition. *J. Dairy Sci.* 89:1302-1310.

Jensen R.G. The composition of the bovine milk lipids. *Journal of Dairy Science*. (2002) 295-350

Jiang J. A. Wolk, and B. Vessby. Relation between the intake of milk fat and the occurrence of conjugated linoleic acid in human adipose tissue. *American Journal of Clinical Nutrition* 1999;21–28.

Jones, E.L., Shingfield, K.J., Kohen, C.A., Jones, K., Lupoli, B., Grandison, A.S., Beever, D.E., Williams, C.M., Calder, P.C., & Yaqoob, P. (2005). Chemical, Physical, and Sensory Properties of Dairy Products Enriched with Conjugated Linoleic Acid. *Journal of Dairy Science*, 88 (8), 2923-2937.

Khanal, R.C. (2004). Potential health benefits of conjugated linoleic acid (CLA): A review. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences*, 17(9), 1315-1328.

Kelly G.S.. Conjugated linoleic acid. a review. *Alternative Medicine Review* 2001. 367-382.

Kim, Y.J., & Liu, R.H. (2002). Increase of conjugated linoleic acid content in milk by fermentation with lactic acid bacteria. *Journal of Food Science*, 67 (5), 1731-1737.

Kosikowski. F.V. Cheese and fermented milk foods. F.V. Kosikowski Associates and Harbour.1977.

Ledoux, M., Chardigny, J.M., Darbois, M., Soustre, Y., Sebedio, J.L., & Laloux, L. (2005). Fatty acid composition of French butters, with special emphasis on conjugated linoleic acid (CLA) isomers. *Journal Of Food Composition And Analysis*, 18 (5), 409-425.

Lin, T.Y. (2003). 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 (1), 11-14.

Lin T.Y, C.W. Lin, Y.J. Wang. Linoleic acid Isomerase Activity in Enzyme Extracts from *Lactobacillus Acidophilus* and *Propionibacterium Freudenreichii* ssp. *Shermanii*. *JFS: Food Microbiology and Safety*. 2002.

Lin T.Y, Lin C.W and Lee C.H Conjugated linoleic acid concentration as affected by lactic cultures and added linoleic acid. *Food Chemistry* 67 (1999) 1-5.

Liavonchanka A. and Feussner I. Biochemistry of PUFA double bond isomerases producing conjugated linoleic acid. *ChemBioChem* 2008, 9, 1867 – 1872

Luna P, De La Fuente M. And Juarez M. Conjugated Linoleic Acid in Processed Cheeses during the Manufacturing Stages. *Journal of agricultural and food chemistry*. (2005)

Mc Gibbon C.H. and Taylor. *Advanced Dairy Chemistry*. Vol. 2 Lipids 3 Edition. New York. (2006) 1-42.

Maier S, Reich E, Martin R, Bachem M, Altug V, Hautman R.E, Gschwend J.E. Tributyrin induces differentiation, growth arrest and apoptosis in androgen-sensitive and

androgen-resistant human prostate cancer cell lines. *International Journal of cancer*. (2000) 245-251

Mahfouz MM, Valicenti A.J and Holman RT. Desaturation of isomeric trans-octadecenoic acid by rat liver microsomes. *Biochim. Biophys. Acta* 1980.

Martinez. R. N. *Diseño de experimentos. Aplicaciones en R*. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de medicina veterinaria y zootecnia. 2008

Menzel T, Schaubert J, Kreth F, Kudlich T., Melcher R., Gostner A. and Scheppach W. Butyrate and aspirin in combination have an enhanced effect on apoptosis in human colorectal cancer. *European Journal of cancer prevention*. (2001). 271-281.

Momgotmery, D.C. *Diseño y Análisis de Experimentos*. Editorial Iberoamericana, S. A. México.1991.

Moloney F., Yeow T.P., Mullen A., Nolan J.J., and Roche H.M. Conjugated linoleic acid supplementation, insulin sensitivity, and lipoprotein metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus, *Am. J. Clin. Nutr.* (2004) 887–895.

Nicolisi R.J., Rogers E.J., Kritchevsky D., Scimeca J.A. and Huth P.J.. Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoprotein and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. *Artery* 1997. 266-277

Observatorio Agrocadenas de Colombia. (2006). *Agroindustria y competitividad - Estructura dinámica en Colombia 1992 - 2005*.

Ogawa, J., Kishino, S., Ando, A., Sugimoto, S., Mihara, K., & Shimizu, S. (2005). Production of conjugated fatty acids by lactic acid bacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 100 (4), 355-364.

Pabón M. Carulla J.. Compuestos lipídicos benéficos para la salud humana asociados a la nutrición animal. *Revista Colombiana Ciencias Pecuarias* 2008. 136-145.

Palmquist, D.L., Beaulieu, D.A., & Barbano, D.M. (1993). Feed and animal factors influencing milk fat composition. *Journal of Dairy Science*, 76:1753-1771.

Parodi, P.W. (1977). Conjugated octadecadienoic acids of milk fat. *Journal of Dairy Science*, 60, 1550-1553.

Parodi, P.W. (2004). Milk fat in human nutrition. *Australian Journal of Dairy Technology*, 59(1), 3-59.

Peng, Y.N., West, G.E., & Wang, C. (2006). Consumer attitudes and acceptance of CLA-enriched dairy products. *Canadian Journal Of Agricultural Economics - Revue Canadienne D Agroéconomie*, 54 (4), 663-684.

Raff, M., Tholstrup, T., Basu, S., Nonboe, P., Sorensen, M.T., & Straarup, E.M. (2008). A diet rich in conjugated linoleic acid and butter increases lipid peroxidation but does not affect atherosclerotic, inflammatory, or diabetic risk markers in healthy young men. *The Journal of Nutrition*, 138 (3), 509-514.

Reynolds C.M. and Roche H.M. Conjugated linoleic acid and inflammatory cell signaling. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* (2010) 199–204

Ritzenthaler K.L, M.K.McGuire, R.Falen, T.D. Shultz, N.Dasgupta and M.A. McGuire. Estimation of Conjugated Linoleic Acid Intake by Written Dietary Assessment Methodologies Underestimates Actual Intake Evaluated by Food Duplicate Methodology. *Journal of Nutrition*. (2001)1548-1554.

Robinson R.K. and A.Y.Tamime. In Dairy Microbiology – The Microbiology of Milk Products, Vol. 2, 2nd Edition, Ed. by Robinson R.K., Elsevier Applied Science Publishers, London, (1990) 291–343.

Roche, H.M., Noone, E., Nugen, A., & Gibney, M.J. (2001). Conjugated linoleic acid: a novel therapeutic nutrient? Nutrition Research Reviews, 14(1), 173-187.

Rossel, J. B. (1989). Intermediate shelf life products as illustrated by fats and fatty foods. Food Science and Technology Today, 3:235-240.

Rico, J.E., Moreno, B., Pabón, M.L., & Carulla, J. (2007). Composición de la grasa láctea de la sabana de Bogotá con énfasis en ácido ruménico - CLA cis-9, trans-11. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 20 (1), 30-39.

Salminen I, Mutanen M, Jauhiainen M and Aro A. Dietary trans fatty acids increase conjugated linoleic acid levels in human serum. J Nutr Biochem 1998

Sanhueza J, Nieto S y Valenzuela A. Acido linoleico conjugado: un acido graso con isomeria trans potencialmente beneficioso. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos INTA, (2002) Universidad de Chile.

Sehat. N. Yurawecz.M.P. Roach. J.A.G. Mossoba.M.M. Kramer. J.K.G. and Ku Y. Silver-ion performance liquid chromatographic separation and identification of conjugated linoleic acid isomers. Lipids 33. 1998.

Sehat N, Kramer J, Mossoba M, Yurawecz M, Roach J, Eulitza K, Morehouse K, and Ku Y. Identification of Conjugated Linoleic Acid Isomers in Cheeseby Gas Chromatography, Silver Ion High Performance Liquid Chromatography and Mass Spectral Reconstructed Ion Profiles.Comparison of Chromatographic Elution Sequences. Lipids. 1998.

Shantha, N.C., Ram, L.N., O'Leary, J., Hicks, C.L., & Decker, E.A. (1995). Conjugated linoleic-acid concentrations in dairy-products as affected by processing and storage. *Journal of Food Science*, 60 (4), 695-697.

Sharma R, Sanguansri P, Marsh R, Sanguansri L, And Augustin M. Application of microencapsulated omega-3 fatty acids in dairy products. *Australian journal of dairy technology*. 2003.

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

Stanton, C., Murphy, J., McGrath, E., & Devery, R. (2003). Animal feeding strategies for conjugated linoleic acid enrichment of milk. In *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, Volume 2, p. 123-145. J.L. Sébédio, W.W. Christie, & R. Adolf, ed. AOCS Press, Champaign, IL.

Saito H, Ishihara K. Antioxidant activity and active sites of phospholipids as antioxidants. *Journal American oil chemistry society*. (1997). 1531-1536.

Tamime. A. Y. And R. K. Robinson *YOGHURT Science and Technology* Second edition. Woodhead Publishing Limited. England 2000.

Terpstra, A.H. (2004). Effect of conjugated linoleic acid on body composition and plasma lipids in humans: an overview of the literature. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79(3), 352-361.

Thormar H, Isaacs E.E, Kim K.S, Brown H.R.. Interaction of vesicular stomatitis virus and other enveloped viruses by free fatty acids and monoglycerides. *Annals of New York Academy of Science*. (1994) 465-471

Thom E. Wadstein J. and Gudmundsen O. Conjugated Linoleic Acid Reduces Body Fat in Healthy Exercising Humans. *The Journal of International Medical Research*.(2001) 392-396

Tung Y. Lin , Chin-Wen Lin and Chien-Hsing Lee. Conjugated linoleic acid concentration as affected by lactic cultures and added linoleic acid. *Food Chemistry* 67 (1999) 1-5

Walstra.P Geurts T.J., .Noomen, A.Jellema,A y van Boekel M.A.J.S. *Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos*.Zaragoza, Editorial Acribia 2001. 52-74

Wilde P. F. and Dawson R. M. C. The biohydrogenation of α -linoleic acid by rumen micro-organism. 98(2) (1966). 469-474.

Wolff R.L and D.Precht. Reassessment of the Contribution of Bovine MilkFats to the trans-18:1 Isomeric Acid Consumption by European Populations. Additional Data for Rumenic (cis-9,trans-11 18:2) Acid. *Lipids* (2002), 1149–1150.

Xu, S., Boylston, T.D., & Glatz, B.A. (2005). Conjugated linoleic acid content and organoleptic attributes of fermented milk products produced with probiotic bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (23), 9064-9072.

Xu s, Terril D. Boylston, And Bonita A. Glatz Effect of Inoculation Level of *Lactobacillus rhamnosus* and Yogurt Cultures on Conjugated Linoleic Acid Content and Quality Attributes of Fermented Milk Products. *Food Chemistry and Toxicology*.2006

Yadav, H., Jain, S, & Sinha, P.R. (2007). Production of free fatty acids and conjugated linoleic acid in probiotic dahi containing *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* during fermentation and storage. *International Dairy Journal*, 17 (8), 1006-1010.

Y.Li, M.F.Seifert and D.M.Ney. Dietary conjugated linoleic acids alter serum IGF-I and IGF binding protein concentrations and reduce bone formation in rats fed (n-6) or (n-3) fatty acids. *Journal of Bone Mineral Research* (1999). 1153-1162

Yurawecz M.P, . Roach, J.A., Sehat, N., Mossoba, M.M., Kramer, J.K., Fristsche, J., Steinhart, H., and Ku, K. A new conjugated linoleic acid isomers, 7 trans, 9 cis-octadecadienoic acid, in cow milk, cheese, beef and human milk and adipose tissue. *Lipids* 1998.

Zambell K., Horn W.F. and Keim N.L. CLA supplementation in humans: Effects on fatty acid and glycerol kinetics, *Lipids* (2001), 767–772.

Anexo 1. Perfiles de ácidos grasos de los sustratos de partida para las fermentaciones.

Perfiles de ácidos grasos de los sustratos de partida para las fermentaciones.

ACIDOS GRASOS (AG)	Sustrato 1				Sustrato 2			
	mg AG/ g Grasa		g AG / 100 AG		mg AG/ g Grasa		g AG / 100 AG	
	Prom	D.E.	Prom	D.E.	Prom	D.E.	Prom	D.E.
(C4:0) butirato	39,448	2,862	6,778	1,025	41,707	5,747	6,902	0,745
(C6:0) hexanoato	15,133	2,247	2,564	0,182	14,194	2,557	2,346	0,340
(C8:0) octanoato	7,552	1,489	1,272	0,102	6,778	1,491	1,115	0,174
(C10:0) decanoato	13,018	2,024	2,200	0,082	12,045	2,376	1,987	0,305
(C11:0) undecanoato	4,923	0,662	0,848	0,169	5,565	0,856	0,927	0,167
(C12:0) dodecanoato	15,841	2,844	2,665	0,045	14,578	3,106	2,399	0,371
(C14:0) miristato	56,031	11,010	9,403	0,319	51,557	11,348	8,484	1,383
(C14:1) miristoleato	5,267	0,938	0,886	0,016	4,914	0,987	0,809	0,116
(C15:0) pentadecanoato	7,919	1,467	1,331	0,033	7,345	1,529	1,211	0,195
(C15:1) cis-10-pentadecenoato	2,316	0,384	0,391	0,010	2,224	0,429	0,367	0,054
(C16:0) palmitato	151,030	29,391	25,350	0,730	145,042	23,819	23,898	2,204
(C16:1) palmitoleato	10,742	2,019	1,805	0,038	10,111	2,107	1,665	0,257
(C17:0) heptadecanoato	4,269	0,719	0,720	0,016	4,048	0,774	0,668	0,094
(C17:1) cis-10-heptadecenoato	2,124	0,525	0,359	0,068	2,055	0,310	0,340	0,036
(C18:0) estearato	83,639	15,223	14,066	0,219	80,192	13,048	13,234	1,441
(C18:1) elaidato	4,359	0,736	0,735	0,012	4,164	0,813	0,687	0,099
(C18:1) oleato	136,951	25,560	23,016	0,412	136,168	16,722	22,475	0,762
(C18:2t) linolelaidato	4,771	0,850	0,803	0,020	4,764	1,179	0,781	0,124
(C18:2c) linoleato	8,000	1,466	1,345	0,021	15,036	6,301	2,410	0,723
(C18:3) linolenato	3,086	0,486	0,521	0,015	5,719	4,637	0,628	0,067
(C20:0) araquidato	2,113	0,152	0,362	0,042	2,273	0,177	0,378	0,035
(C18:2) 9c-11 octadecadienoico	12,739	1,383	2,169	0,172	12,432	1,696	2,062	0,270
(C20:1) cis-11.eicosenoato	1,800	0,181	0,308	0,038	1,810	0,475	0,298	0,063

Anexo 2. Perfiles de ácidos grasos de las muestras de kumis elaboradas

Concentración de ácidos grasos cadena corta de en las muestras de kumis, en miligramos de ácido graso/gramo de grasa, (C4:0 Butirato, C6:0 Hexanoato, C8:0 Octanoato, C10:0 Decanoato), Sustrato 1: Sin adición de aceite de soya, sustrato 2 con adición de aceite de soya, Tiempos de fermentación en horas, Almacenamientos 1: Después de refrigerado, agitado y empacado el producto, 2: una semana de almacenamiento, 3: Dos semanas de almacenamiento y 4: Tres semanas de almacenamiento.

Cultivo	Sustrato	Fermentación	Almacenamiento	(C4:0)	(C6:0)	(C8:0)	(C10:0)
Chozit	1	18	1	42,111	18,906	9,476	16,129
Chozit	1	18	1	47,017	19,804	9,761	18,05
Chozit	1	18	1	50,063	21,842	10,75	19,606
Chozit	1	18	2	49,497	19,597	9,128	17,331
Chozit	1	18	2	44,432	12,934	6,759	11,488
Chozit	1	18	2	59,9	20,739	9,719	17,88
Chozit	1	18	3	49,332	17,922	9,905	15,84
Chozit	1	18	3	50,327	17,218	8,075	14,911
Chozit	1	18	3	46,099	15,504	7,286	13,235
Chozit	1	18	4	45,891	17,906	8,501	15,568
Chozit	1	18	4	39,526	15,807	7,574	13,759
Chozit	1	18	4	48,589	16,332	8,227	13,533
Chozit	2	18	1	36,831	15,734	1,341	13,973
Chozit	2	18	1	33,447	13,539	6,531	12,121
Chozit	2	18	1	41,033	16,605	8,154	15,027
Chozit	2	18	2	53,641	22,525	10,78	20,039
Chozit	2	18	2	33,648	16,143	8,747	13,975
Chozit	2	18	2	13,373	18,251	8,583	16,114
Chozit	2	18	3	24,506	13,763	7,218	13,655
Chozit	2	18	3	48,643	16,482	7,767	14,555
Chozit	2	18	3	58,338	20,061	9,371	16,807
Chozit	2	18	4	36,102	12,983	6,309	11,297
Chozit	2	18	4	52,852	18,141	8,257	15,057
Chozit	2	18	4	54,451	18,135	8,468	15,261
Chozit	1	20	1	44,584	20,501	9,585	17,511
Chozit	1	20	1	45,45	23,567	11,29	20,955
Chozit	1	20	1	50,705	26,169	13,19	24,462
Chozit	1	20	2	30,83	18,193	12,16	16,013
Chozit	1	20	2	43,105	18,498	9,715	15,826
Chozit	1	20	2	30,84	19,609	9,268	17,193

Chozit	1	20	3	49,567	18,425	8,117	14,332
Chozit	1	20	3	48,669	16,226	7,544	13,63
Chozit	1	20	3	48,679	18,816	8,607	15,832
Chozit	1	20	4	31,272	13,822	6,04	10,814
Chozit	1	20	4	36,785	12,404	5,983	10,245
Chozit	1	20	4	37,005	14,546	7,041	13,068
Chozit	2	20	1	46,503	14,763	7,398	13,635
Chozit	2	20	1	38,648	16,547	7,963	14,53
Chozit	2	20	1	41,22	19,407	9,247	16,892
Chozit	2	20	2	50,085	19,626	8,749	16,016
Chozit	2	20	2	29,219	14,898	7,449	12,595
Chozit	2	20	2	21,14	16,245	7,764	14,462
Chozit	2	20	3	55,701	21,499	9,972	17,847
Chozit	2	20	3	52,595	19,813	8,938	16,402
Chozit	2	20	3	45,994	15,696	7,708	13,461
Chozit	2	20	4	44,746	16,2	7,235	13,314
Chozit	2	20	4	56,259	24,623	11,59	21,277
Chozit	2	20	4	50,95	17,199	8,152	14,706
Chozit	1	24	1	44,525	15,93	1,844	13,512
Chozit	1	24	1	35,031	14,448	7,205	13,542
Chozit	1	24	1	36,908	15,343	7,485	14,02
Chozit	1	24	2	30,076	19,135	9,282	14,75
Chozit	1	24	2	37,814	15,519	7,774	13,649
Chozit	1	24	2	22,564	16,205	8,042	14,238
Chozit	1	24	3	45,956	18,685	8,744	15,024
Chozit	1	24	3	38,947	13,859	6,36	11,701
Chozit	1	24	3	59,89	22,294	10,09	18,292
Chozit	1	24	4	36,21	14,141	6,697	12,264
Chozit	1	24	4	42,161	17,202	9,567	15,278
Chozit	1	24	4	53,187	17,389	8,382	15,069
Chozit	2	24	1	33,805	16,054	2,002	14,231
Chozit	2	24	1	41,609	20,919	9,854	18,289
Chozit	2	24	1	39,136	16,254	7,819	14,473
Chozit	2	24	2	51,417	18,065	8,65	14,812
Chozit	2	24	2	11,75	18,307	10,36	16,249
Chozit	2	24	2	31,084	17,316	8,878	15,706
Chozit	2	24	3	43,676	16,672	7,932	13,924
Chozit	2	24	3	42,245	14,101	6,731	12,178
Chozit	2	24	3	55,06	19,024	9,281	15,901
Chozit	2	24	4	41,479	17,052	7,882	14,32
Chozit	2	24	4	38,391	15,4	7,178	13,27

Chozit	2	24	4	28,898	11,752	5,667	10,118
Acid	1	18	1	39,35	18,261	2,018	14,558
Acid	1	18	1	43,714	20,974	10,09	18,265
Acid	1	18	1	34,336	20,13	10,18	18,888
Acid	1	18	2	24,702	16,617	7,951	12,688
Acid	1	18	2	50,163	13,872	7,024	12,505
Acid	1	18	2	44,112	18,989	8,949	16,411
Acid	1	18	3	49,836	18,624	8,531	15,131
Acid	1	18	3	55,528	19,97	9,331	16,681
Acid	1	18	3	49,121	16,849	9,405	14,839
Acid	1	18	4	46,906	15,793	7,218	13,308
Acid	1	18	4	46,228	14,929	7,115	12,779
Acid	1	18	4	29,654	10,456	4,872	8,9693
Acid	2	18	1	44,624	18,766	9,133	16,664
Acid	2	18	1	44,542	21,737	10,52	19,36
Acid	2	18	1	48,616	23,191	11	20,173
Acid	2	18	2	25,447	17,406	8,156	14,017
Acid	2	18	2	36,088	14,625	6,872	12,591
Acid	2	18	2	44,078	15,4	6,98	12,562
Acid	2	18	3	28,625	14,627	7,175	12,913
Acid	2	18	3	34,396	11,953	6,323	9,9185
Acid	2	18	3	38,374	13,24	6,385	11,528
Acid	2	18	4	52,774	17,936	9,02	15,252
Acid	2	18	4	39,562	13,472	6,289	11,435
Acid	2	18	4	38,074	14,362	6,727	12,461
Acid	1	20	1	48,75	28,112	14,97	28,283
Acid	1	20	1	59,516	30,132	15,08	27,14
Acid	1	20	1	52,46	27,601	15,4	26,566
Acid	1	20	2	34,061	20,813	9,204	15,87
Acid	1	20	2	35,519	14,732	7,423	12,945
Acid	1	20	2	48,592	20,418	9,301	16,676
Acid	1	20	3	40,881	14,569	6,631	11,975
Acid	1	20	3	37,662	12,691	7,341	10,857
Acid	1	20	3	37,7	12,578	5,977	11,073
Acid	1	20	4	41,693	15,532	6,975	12,987
Acid	1	20	4	44,68	15,059	6,693	12,287
Acid	1	20	4	45,021	20,63	9,682	17,61
Acid	2	20	1	43,059	18,607	2,516	17,597
Acid	2	20	1	39,277	22,862	11,81	21,619
Acid	2	20	1	38,087	22,946	13,62	21,276
Acid	2	20	2	23,631	19,271	9,221	16,327

Acid	2	20	2	40,478	17,475	9,225	16,141
Acid	2	20	2	20,012	16,036	7,682	14,402
Acid	2	20	3	23,138	13,524	6,929	12,364
Acid	2	20	3	45,478	15,775	7,368	13,196
Acid	2	20	3	47,745	17,399	7,831	14,178
Acid	2	20	4	43,287	17,648	8,452	15,272
Acid	2	20	4	41,231	16,309	8,057	14,371
Acid	2	20	4	44,67	17,916	8,623	16,168
Acid	1	24	1	45,082	19,39	2,236	17,294
Acid	1	24	1	53,825	19,399	8,771	15,875
Acid	1	24	1	41,029	14,41	6,546	11,835
Acid	1	24	2	62,137	21,884	10,22	18,883
Acid	1	24	2	21,864	18,248	9,492	16,612
Acid	1	24	2	51,19	25,495	12,59	23,101
Acid	1	24	3	31,155	12,096	6,009	9,5969
Acid	1	24	3	45,43	15,882	7,52	13,584
Acid	1	24	3	44,502	14,931	7,455	12,786
Acid	1	24	4	60,331	19,424	9,283	16,019
Acid	1	24	4	42,651	16,229	8,784	14,22
Acid	1	24	4	35,237	14,086	7,156	13,57
Acid	2	24	1	40,945	18,209	9,044	14,961
Acid	2	24	1	39,421	21,176	10,38	19,37
Acid	2	24	1	37,446	17,127	8,317	15,086
Acid	2	24	2	43,224	16,88	8,011	15,174
Acid	2	24	2	48,7	17,869	9,88	16,378
Acid	2	24	2	21,394	15,02	7,635	13,628
Acid	2	24	3	41,377	17,243	8,152	15,234
Acid	2	24	3	44,784	15,343	7,88	13,245
Acid	2	24	3	42,283	18,248	8,997	16,852
Acid	2	24	4	48,664	16,831	7,944	14,737
Acid	2	24	4	45,531	15,329	8,207	13,205
Acid	2	24	4	30,558	13,052	6,604	12,322
Bifid	1	18	1	47,518	27,864	13,51	24,925
Bifid	1	18	1	39,066	23,23	11,2	20,391
Bifid	1	18	1	39,284	23,547	12,42	20,897
Bifid	1	18	2	32,041	22,849	10,95	20,096
Bifid	1	18	2	52,822	18,516	8,637	15,515
Bifid	1	18	2	12,958	20,39	9,775	18,249
Bifid	1	18	3	27,896	15,565	8,127	14,995
Bifid	1	18	3	35,95	12,305	6,591	11,166
Bifid	1	18	3	56,758	21,095	9,655	17,561

Bifid	1	18	4	45,594	16,369	8,373	14,059
Bifid	1	18	4	41,4	14,25	8,008	12,376
Bifid	1	18	4	30,153	12,565	6,061	11,14
Bifid	2	18	1	51,823	20,03	9,388	18,317
Bifid	2	18	1	35,771	19,048	9,011	16,677
Bifid	2	18	1	45,257	20,466	9,755	17,997
Bifid	2	18	2	23,203	17,438	8,557	13,517
Bifid	2	18	2	22,555	16,763	8,004	14,693
Bifid	2	18	2	36,39	15,003	7,111	13,212
Bifid	2	18	3	32,057	13,955	6,956	12,357
Bifid	2	18	3	42,445	14,011	6,704	11,893
Bifid	2	18	3	56,183	18,448	8,551	15,639
Bifid	2	18	4	35,247	12,726	6,293	10,627
Bifid	2	18	4	43,939	14,482	6,664	12,279
Bifid	2	18	4	39,691	15,338	7,359	13,814
Bifid	1	20	1	53,346	22,879	11,23	19,241
Bifid	1	20	1	55,687	19,788	8,979	16,565
Bifid	1	20	1	43,077	18,796	9,03	16,517
Bifid	1	20	2	51,842	20,325	9,504	17,375
Bifid	1	20	2	33,692	13,274	6,512	11,983
Bifid	1	20	2	33,842	16,283	7,847	14,664
Bifid	1	20	3	35,458	18,455	9,47	18,042
Bifid	1	20	3	63,496	21,283	9,851	18,117
Bifid	1	20	3	48,108	16,39	7,904	14,189
Bifid	1	20	4	52,334	18,374	8,408	15,574
Bifid	1	20	4	51,698	17,536	9,238	14,798
Bifid	1	20	4	36,169	14,704	7,24	13,81
Bifid	2	20	1	35,287	14,609	6,361	12,122
Bifid	2	20	1	29,259	12,388	6,019	11,209
Bifid	2	20	1	34,878	14,022	6,893	12,433
Bifid	2	20	2	27,962	18,254	8,781	15,698
Bifid	2	20	2	33,648	16,143	8,747	13,975
Bifid	2	20	2	37,511	14,248	7,523	12,991
Bifid	2	20	3	57,804	24,535	11,3	20,775
Bifid	2	20	3	47,106	16,247	7,858	14,002
Bifid	2	20	3	54,743	18,487	8,583	15,426
Bifid	2	20	4	56,025	19,609	8,827	16,347
Bifid	2	20	4	52,367	22,208	10,35	19,197
Bifid	2	20	4	50,316	16,872	7,913	14,685
Bifid	1	24	1	39,406	22,579	11,68	19,915
Bifid	1	24	1	41,408	24,595	12,72	22,917

Bifid	1	24	1	61,087	22,742	11,12	19,956
Bifid	1	24	2	45,335	16,794	8,084	15,123
Bifid	1	24	2	22,653	14,118	7,328	12,355
Bifid	1	24	2	21,668	19,612	10,94	17,269
Bifid	1	24	3	44,172	17,351	7,866	13,623
Bifid	1	24	3	43,994	15,363	7,851	13,497
Bifid	1	24	3	47,569	17,131	7,998	14,564
Bifid	1	24	4	49,786	17,412	8,074	14,968
Bifid	1	24	4	46,421	17,075	8,768	14,925
Bifid	1	24	4	34,689	13,216	7,521	12,088
Bifid	2	24	1	51,726	16,85	8,407	1,9563
Bifid	2	24	1	32,049	18,72	9,239	17,2
Bifid	2	24	1	34,787	18,821	9,04	15,749
Bifid	2	24	2	27,668	19,542	8,492	15,069
Bifid	2	24	2	16,432	16,779	9,13	14,444
Bifid	2	24	2	37,268	16,747	8,372	14,844
Bifid	2	24	3	23,719	14,164	6,281	12,412
Bifid	2	24	3	35,748	12,666	6,236	11,065
Bifid	2	24	3	43,145	14,885	7,4	12,695
Bifid	2	24	4	57,781	21,229	9,63	17,694
Bifid	2	24	4	48,282	16,643	8,6	13,79
Bifid	2	24	4	51,136	18,037	8,776	15,231
Rham	1	18	1	53,841	18,532	8,565	15,409
Rham	1	18	1	31,803	15,808	7,304	13,603
Rham	1	18	1	32,583	16,533	8,011	14,657
Rham	1	18	2	48,234	17,399	8,194	14,707
Rham	1	18	2	37,227	14,931	7,763	12,962
Rham	1	18	2	23,918	14,89	6,979	12,866
Rham	1	18	3	43,785	14,88	6,948	12,758
Rham	1	18	3	46,877	17,438	8,427	14,765
Rham	1	18	3	48,529	15,158	6,762	12,041
Rham	1	18	4	41,623	15,84	7,474	13,801
Rham	1	18	4	52,018	18,003	8,319	15,217
Rham	1	18	4	34,403	13,312	6,564	12,494
Rham	2	18	1	44,776	17,415	8,057	14,91
Rham	2	18	1	31,164	13,63	6,601	12,262
Rham	2	18	1	30,012	13,836	6,847	12,855
Rham	2	18	2	49,289	17,164	8,205	13,96
Rham	2	18	2	48,203	17,107	7,848	14,517
Rham	2	18	2	38,844	12,372	6,122	11,159
Rham	2	18	3	25,639	11,481	5,653	11,009

Rham	2	18	3	42,561	14,825	6,867	12,239
Rham	2	18	3	61,04	21,329	10,37	18,71
Rham	2	18	4	46,31	16,077	7,451	13,793
Rham	2	18	4	48,424	20,221	9,633	17,403
Rham	2	18	4	40,307	15,114	7,681	13,519
Rham	1	20	1	48,334	18,149	8,651	15,839
Rham	1	20	1	57,373	21,412	9,615	17,346
Rham	1	20	1	42,382	24,232	11,97	21,691
Rham	1	20	2	29,335	17,268	7,958	15,115
Rham	1	20	2	22,939	16,884	8,660	15,021
Rham	1	20	2	15,868	17,825	8,314	15,403
Rham	1	20	3	57,737	22,242	10,19	18,586
Rham	1	20	3	56,724	19,749	8,89	16,158
Rham	1	20	3	57,667	20,375	9,257	17,073
Rham	1	20	4	36,754	12,983	6,226	11,237
Rham	1	20	4	47,558	16,002	7,455	13,652
Rham	1	20	4	37,255	13,83	7,048	12,524
Rham	2	20	1	50,453	14,124	7,108	18,800
Rham	2	20	1	42,366	15,327	7,283	13,652
Rham	2	20	1	35,035	14,143	7,093	12,695
Rham	2	20	2	34,201	14,778	7,218	12,208
Rham	2	20	2	28,654	15,368	8,619	13,645
Rham	2	20	2	16,888	16,947	8,499	14,779
Rham	2	20	3	43,117	14,616	7,482	12,219
Rham	2	20	3	49,396	17,069	8,216	14,922
Rham	2	20	3	34,849	14,367	7,911	12,955
Rham	2	20	4	39,266	18,67	8,831	16,572
Rham	2	20	4	54,259	24,855	11,94	21,541
Rham	2	20	4	54,495	19,668	8,904	16,138
Rham	1	24	1	60,627	17,274	9,762	15,814
Rham	1	24	1	45,647	25,135	13,58	22,161
Rham	1	24	1	47,596	20,304	9,203	14,845
Rham	1	24	2	48,394	18,19	8,978	16,379
Rham	1	24	2	27,669	17,122	8,275	15,187
Rham	1	24	2	51,443	18,278	8,822	16,662
Rham	1	24	3	36,59	24,753	15,5	32,859
Rham	1	24	3	46,149	16,388	7,392	13,508
Rham	1	24	3	45,609	15,605	8,657	13,332
Rham	1	24	4	51,545	17,75	7,968	14,664
Rham	1	24	4	57,396	19,178	8,772	16,161
Rham	1	24	4	65,866	23,023	10,44	18,994

Rham	2	24	1	58,044	21,08	9,756	17,852
Rham	2	24	1	50,652	23,754	11,37	20,379
Rham	2	24	1	40,144	18,69	9,059	16,273
Rham	2	24	2	46,371	17,983	8,628	15,038
Rham	2	24	2	58,312	19,349	8,483	15,447
Rham	2	24	2	36,701	15,274	7,25	13,218
Rham	2	24	3	26,72	14,848	7,521	14,85
Rham	2	24	3	45,96	15,689	7,427	13,452
Rham	2	24	3	48,529	17,662	9,616	15,165
Rham	2	24	4	41,998	16,523	8,484	14,51
Rham	2	24	4	53,267	17,524	8,005	14,834
Rham	2	24	4	32,58	11,401	6,299	9,4563

Concentración de ácidos grasos monosaturados incluyendo el araquidónico, (no saturado) en las muestras de kumis en miligramos de ácido graso/gramo de grasa, (C14:1 miristoleato, C15:1 cis-10-pentadecenoato, C16:1 palmitoleato, C17:1 cis-10-heptadecenoato, C18:1 elaidato, C18:1o Oleato C20:0 araquidato C20:1 cis-11.eicosenoato). S: Sustrato F:Fermentación y A: Almacenamiento.

Cultivo	S	F	A	(C14:1)	(C15:1)	(C16:1)	(C17:1)	(C18:1)	(C18:1o)	(C20:0)	(C20:1)
Chozit	1	18	1	6,36	2,80	13,4	2,52	5,39	173,99	2,37	2,12
Chozit	1	18	1	7,059	4,17	18,81	3,46	7,21	247,42	3,02	1,94
Chozit	1	18	1	7,087	3,09	15,14	2,99	6,55	197,68	3,49	1,25
Chozit	1	18	2	7,621	3,21	15,79	2,94	6,4	204,18	2,62	2,31
Chozit	1	18	2	4,879	2,06	10,46	2,07	4,4	137,71	2,20	0,64
Chozit	1	18	2	7,086	3,21	14,93	2,91	6,1	196,84	2,57	2,21
Chozit	1	18	3	6,025	2,65	11,12	2,21	4,66	143,21	2,47	2,05
Chozit	1	18	3	6,137	2,75	13,18	2,50	5,49	174,25	2,41	1,71
Chozit	1	18	3	5,652	2,67	11,59	2,29	4,85	152,02	2,16	1,57
Chozit	1	18	4	6,244	2,77	13,11	2,85	5,32	168,55	2,24	1,75
Chozit	1	18	4	5,492	2,40	11,47	2,21	4,79	149,79	2,17	1,72
Chozit	1	18	4	5,601	2,51	11,82	2,30	4,99	155,01	2,19	1,55
Chozit	2	18	1	5,824	2,53	11,86	2,29	4,91	156,14	2,25	1,75
Chozit	2	18	1	4,825	2,18	9,595	1,96	4,07	126,12	2,08	0,93
Chozit	2	18	1	5,923	2,5	12,38	2,36	5,04	163,59	2,41	0,78
Chozit	2	18	2	5,097	4,49	19,27	4,58	6,18	224,26	3,63	3,10
Chozit	2	18	2	5,837	2,61	12,72	2,97	5,31	170,62	2,44	1,61
Chozit	2	18	2	6,643	3,08	14,7	2,78	6,21	198,15	2,79	1,16
Chozit	2	18	3	5,802	2,35	11,13	2,13	4,43	142,14	2,18	2,09
Chozit	2	18	3	5,993	2,74	12,79	2,47	5,26	168,16	2,37	1,69

Chozit	2	18	3	6,731	3,08	14,42	2,71	5,92	190,52	2,51	2,32
Chozit	2	18	4	4,633	2,18	9,509	2,14	4,01	124,31	2,02	1,91
Chozit	2	18	4	5,973	2,77	12,67	2,66	5,48	168,66	2,35	1,76
Chozit	2	18	4	6,183	2,77	13,43	2,60	5,6	179,49	2,38	1,86
Chozit	1	20	1	6,421	2,92	13,92	2,65	6,07	189,69	2,77	4,65
Chozit	1	20	1	7,938	3,59	17,09	3,21	7,09	224,89	2,99	1,22
Chozit	1	20	1	9,194	3,91	19,61	3,59	7,84	258,68	3,24	1,04
Chozit	1	20	2	7,097	2,36	14,27	20,5	5,84	183,68	2,4	1,01
Chozit	1	20	2	6,467	2,26	14,08	2,70	6,03	186,58	2,84	1,14
Chozit	1	20	2	7,277	3,42	15,15	2,84	6,23	204,18	2,47	0,96
Chozit	1	20	3	5,507	2,35	11,02	2,05	4,43	141,24	2,11	1,93
Chozit	1	20	3	5,603	2,6	12,06	2,37	4,91	158,27	2,20	1,66
Chozit	1	20	3	5,727	2,77	11,93	2,07	4,86	155,33	2,24	2,39
Chozit	1	20	4	2,045	1,75	7,578	1,87	3,05	94,687	1,89	1,17
Chozit	1	20	4	4,273	1,94	8,748	1,89	3,69	113,1	1,97	1,41
Chozit	1	20	4	5,477	2,53	11,70	2,29	4,94	155,26	2,22	2,37
Chozit	2	20	1	5,595	2,34	11,37	2,26	4,77	147,48	2,35	1,92
Chozit	2	20	1	5,326	2,37	11,92	2,75	5,18	165,29	2,37	1,53
Chozit	2	20	1	6,163	2,69	13,78	2,49	5,93	188,86	2,60	1,91
Chozit	2	20	2	5,748	2,47	12,18	2,4	5,02	161,72	2,37	1,79
Chozit	2	20	2	5,309	1,20	11,71	2,18	4,79	156,03	2,44	0,93
Chozit	2	20	2	6,035	1,19	13,2	2,49	5,54	175,33	2,5	0,92
Chozit	2	20	3	6,527	3,62	18,23	3,41	5,50	245,8	3,17	1,97
Chozit	2	20	3	5,947	2,71	13,62	2,57	5,80	188,06	2,6	2,67
Chozit	2	20	3	5,548	2,43	12,1	2,34	5,13	162,27	2,32	1,72
Chozit	2	20	4	5,021	2,51	10,88	1,99	4,56	147,64	2,25	1,84
Chozit	2	20	4	8,018	3,56	18,29	3,25	5,02	251,79	3,23	2,11
Chozit	2	20	4	5,982	2,71	12,91	2,48	5,35	170,86	2,43	1,74
Chozit	1	24	1	5,565	2,46	11,63	2,51	4,63	147,04	2,28	1,77
Chozit	1	24	1	5,413	2,33	11,31	2,51	4,65	147,75	2,21	1,95
Chozit	1	24	1	5,470	2,49	11,37	2,48	4,74	148,33	2,23	2,12
Chozit	1	24	2	5,681	2,63	11,77	2,25	4,90	151,4	2,19	2,47
Chozit	1	24	2	5,663	2,58	12,47	2,40	5,32	165,58	2,55	2,53
Chozit	1	24	2	5,748	2,59	12,41	2,4	5,2	163,5	2,35	0,72
Chozit	1	24	3	6,072	2,79	12,69	2,44	5,18	166,37	2,44	2,23
Chozit	1	24	3	4,326	2,12	9,024	1,63	3,89	142,7	2,03	1,39
Chozit	1	24	3	6,828	3,16	15,62	3,32	7,27	210,78	4,22	1,58
Chozit	1	24	4	4,941	2,24	10,08	2,03	4,24	129,46	2,07	1,77
Chozit	1	24	4	6,306	2,78	13,04	2,52	5,42	167,95	2,34	1,78
Chozit	1	24	4	6,152	2,75	13,03	2,57	5,47	172,5	2,39	1,79
Chozit	2	24	1	5,566	2,51	11,64	2,26	4,78	151,83	2,22	1,9

Chozit	2	24	1	3,339	3,08	13,25	2,41	5,31	173,17	2,36	1,88
Chozit	2	24	1	5,252	2,47	11,6	2,6	4,99	158,98	2,55	1,47
Chozit	2	24	2	5,839	2,53	11,89	2,38	5,02	157,21	2,35	1,9
Chozit	2	24	2	6,798	3,2	14,9	2,84	6,17	200,16	2,98	1,14
Chozit	2	24	2	6,417	3,01	14,08	2,69	5,79	187,55	2,65	1,14
Chozit	2	24	3	5,507	2,42	11,26	2,25	4,71	149,64	2,34	0,97
Chozit	2	24	3	4,934	2,33	10,79	2,32	4,46	143,4	2,09	1,86
Chozit	2	24	3	6,319	2,79	13,47	2,58	5,52	178,59	2,55	1,89
Chozit	2	24	4	5,417	2,62	12,76	2,41	5,75	177,35	2,6	1,72
Chozit	2	24	4	4,883	2,11	10,4	2,15	4,37	138,12	2,1	1,31
Chozit	2	24	4	6,506	4,37	20,81	4,03	6,88	257,95	3,3	1,12
Acid	1	18	1	5,761	2,55	11,87	2,31	4,84	153,98	2,28	1,8
Acid	1	18	1	7,087	3,73	18,51	3,44	7,04	241,47	3,01	2,61
Acid	1	18	1	7,609	3,29	15,51	2,91	6,34	204,56	2,74	1,07
Acid	1	18	2	4,965	2,13	9,697	1,89	4,05	124,24	1,95	1,69
Acid	1	18	2	5,321	2,53	11,47	2,21	4,94	152,3	2,44	2
Acid	1	18	2	6,073	2,97	14,79	2,95	5,91	197,5	2,64	1,87
Acid	1	18	3	6,121	3,49	16,95	3,27	7,35	234,92	3,11	1,82
Acid	1	18	3	6,218	3,71	17,37	3,56	8,79	257,88	3,48	1,21
Acid	1	18	3	6,233	2,83	13,4	2,57	5,52	177,21	2,44	1,74
Acid	1	18	4	5,456	2,61	11,79	2,31	5,02	154,69	2,26	1,59
Acid	1	18	4	5,168	2,4	11,12	2,21	4,64	146,19	2,07	1,91
Acid	1	18	4	3,717	1,63	7,734	1,67	3,37	99,112	1,76	1,82
Acid	2	18	1	6,174	3,14	15,64	2,98	6,47	219,01	2,93	1,88
Acid	2	18	1	7,63	3,38	16,25	3,04	6,76	217,76	2,72	1,05
Acid	2	18	1	7,217	3,14	15,51	2,86	6,87	206,8	4,49	1,67
Acid	2	18	2	5,364	2,42	11,32	2,31	4,68	148,17	2,21	1,8
Acid	2	18	2	5,325	2,47	11,04	2,2	4,73	146,21	2,39	1,94
Acid	2	18	2	3,182	2,99	12,7	2,45	6,37	180,88	2,87	2,01
Acid	2	18	3	4,951	2,12	9,763	1,97	4,03	128,08	2,04	1,61
Acid	2	18	3	4,021	1,85	8,402	1,95	3,51	109,22	1,87	1,34
Acid	2	18	3	4,755	2,25	10,2	1,99	4,17	133,67	1,95	1,74
Acid	2	18	4	6,32	2,78	13,4	2,56	5,54	178,62	2,41	1,45
Acid	2	18	4	4,745	2,14	10,1	2,61	4,21	132,92	2,14	1,65
Acid	2	18	4	5,176	2,47	10,81	2,15	4,51	143,23	2,08	1,45
Acid	1	20	1	10,04	4,58	23,4	4,1	8,85	304,69	3,29	1,16
Acid	1	20	1	9,389	1,36	21,06	3,7	8,95	286,53	3,42	4,08
Acid	1	20	1	10,24	1,35	21,87	3,89	8,91	288,44	3,27	1,17
Acid	1	20	2	6,248	2,66	13,11	2,45	5,51	171,19	2,4	2,13
Acid	1	20	2	5,493	2,55	11,65	2,25	4,81	152,17	3,58	0,88
Acid	1	20	2	4,169	3,23	16,05	3,59	7,74	217,95	2,93	2,02

Acid	1	20	3	4,398	2,12	9,986	2,01	4,55	138,08	2,21	1,58
Acid	1	20	3	4,497	2,15	9,701	2,21	4,12	127,07	1,98	1,5
Acid	1	20	3	4,63	2,27	9,992	1,96	4,22	131,09	1,99	1,73
Acid	1	20	4	4,899	2,2	10,13	2,04	4,18	134,63	2,21	1,58
Acid	1	20	4	4,554	2,18	9,422	1,97	3,98	123,69	1,97	1,36
Acid	1	20	4	6,276	3,17	15,39	2,83	6,18	208,79	2,8	1,76
Acid	2	20	1	7,701	3,33	16,42	3,03	6,51	215,68	2,8	0,94
Acid	2	20	1	7,893	3,45	16,78	3,17	6,79	220,76	2,78	1,1
Acid	2	20	1	7,924	3,51	16,82	3,16	6,91	223,43	2,98	1,12
Acid	2	20	2	6,807	2,89	14,22	2,69	5,79	187,81	2,48	2,25
Acid	2	20	2	6,591	1,17	14,32	2,64	5,31	190,65	2,8	1,03
Acid	2	20	2	5,909	2,75	12,87	2,45	5,36	171,72	2,45	0,98
Acid	2	20	3	5,08	2,78	10,66	2,29	4,37	134,02	2,23	1,95
Acid	2	20	3	5,377	2,43	11,28	2,19	4,79	148,32	2,14	2,15
Acid	2	20	3	2,665	2,63	11,38	2,2	5,1	159,41	2,41	4,2
Acid	2	20	4	5,871	3,14	15,94	2,78	7,18	228,91	3,01	1,89
Acid	2	20	4	5,75	2,6	12,26	2,44	5,15	160,21	2,17	1,81
Acid	2	20	4	6,562	2,91	13,79	2,64	5,79	182,56	2,48	2,12
Acid	1	24	1	7,245	3,1	15,04	2,74	6,06	195,3	2,47	2,23
Acid	1	24	1	3,093	2,73	13,39	2,71	6,27	190,4	2,64	3,85
Acid	1	24	1	2,272	1,99	9,164	1,92	4,23	121,29	2,73	1,11
Acid	1	24	2	6,896	3,4	16,54	3,05	7,29	229,81	2,86	1,95
Acid	1	24	2	6,859	3,15	15,05	2,85	6,28	199,49	2,69	1,09
Acid	1	24	2	8,225	3,8	18,59	3,37	7,56	252,59	3,22	2,16
Acid	1	24	3	4,042	1,6	7,245	1,67	3,11	92,057	2,21	1,51
Acid	1	24	3	5,549	2,46	12,17	2,47	5,24	161,3	2,31	2,02
Acid	1	24	3	5,178	2,38	11,05	2,1	4,54	143,98	2,1	1,59
Acid	1	24	4	6,355	2,93	13,32	2,5	5,4	173,74	2,34	1,77
Acid	1	24	4	5,849	2,64	12,59	2,4	5,27	165,75	2,31	1,72
Acid	1	24	4	5,751	2,61	12,46	2,91	5,3	166,61	2,28	2,01
Acid	2	24	1	6,232	2,57	12,32	2,41	5,17	162,16	2,45	2,12
Acid	2	24	1	7,063	2,96	14,83	2,64	5,88	194,19	2,58	1,75
Acid	2	24	1	5,415	2,95	14,23	3,09	6,8	199,98	2,75	1,63
Acid	2	24	2	6,766	2,91	14,06	2,68	5,6	185,22	2,51	0,89
Acid	2	24	2	6,68	3,03	14,34	2,7	6,01	191,46	2,53	1,86
Acid	2	24	2	5,579	2,58	12,04	2,33	5,08	159,65	2,41	2,04
Acid	2	24	3	6,193	2,62	12,74	2,49	5,09	166,01	2,35	0,91
Acid	2	24	3	5,474	2,58	11,94	2,4	4,99	157,83	2,28	1,66
Acid	2	24	3	3,423	2,97	14,95	2,74	6,8	212,92	2,72	6,06
Acid	2	24	4	6,066	2,75	12,99	2,77	5,43	170,71	2,42	1,76
Acid	2	24	4	5,451	2,45	11,54	2,35	4,96	153,78	2,15	1,59

Acid	2	24	4	5,366	2,51	11,6	2,59	4,96	156	2,27	1,58
Bifid	1	18	1	4,679	3,77	18,37	3,21	7,21	237,19	2,91	2,23
Bifid	1	18	1	7,524	3,37	15,95	2,92	6,58	208,09	2,8	1,19
Bifid	1	18	1	7,871	3,45	16,82	3,11	6,77	221,53	2,82	1,05
Bifid	1	18	2	8,186	3,43	17,02	3,13	6,91	223,24	2,84	0,88
Bifid	1	18	2	6,288	3,64	18,16	3,4	8,62	258	3,56	3,3
Bifid	1	18	2	7,466	1,49	16,52	3,03	6,81	219,2	2,87	1,09
Bifid	1	18	3	6,176	2,6	12,4	2,33	4,97	156,58	2,16	0,87
Bifid	1	18	3	4,77	2,24	10,26	2,01	4,43	135,63	2,05	1,6
Bifid	1	18	3	6,341	2,67	13,27	2,63	5,34	173,79	2,41	1,86
Bifid	1	18	4	5,768	2,6	12,18	2,29	5,04	158,93	2,21	1,89
Bifid	1	18	4	5,085	2,29	10,76	2,51	4,54	145,61	2,13	1,53
Bifid	1	18	4	4,695	2,2	10,03	2,19	4,35	133	2,02	1,79
Bifid	2	18	1	7,651	3,23	15,57	2,89	5,96	194,28	2,49	2,01
Bifid	2	18	1	6,172	2,74	13,26	2,32	5,55	178,85	2,46	1,9
Bifid	2	18	1	7,362	1,93	19,68	3,65	8,28	275,75	3,32	2,07
Bifid	2	18	2	5,312	2,25	10,53	2,08	4,39	140,86	2,09	1,8
Bifid	2	18	2	6,075	2,72	13,08	2,46	5,48	174,81	2,49	0,98
Bifid	2	18	2	5,465	2,56	12,09	2,32	5,07	162,78	2,29	0,97
Bifid	2	18	3	5,488	2,49	11,26	2,35	4,76	147,35	2,42	1,87
Bifid	2	18	3	4,845	2,18	10,3	2,02	4,41	136,01	2,1	1,58
Bifid	2	18	3	6,439	3,07	14,15	2,7	6,15	189,39	2,5	1,79
Bifid	2	18	4	4,386	1,99	9,339	1,87	3,96	122,31	1,94	1,32
Bifid	2	18	4	5,038	2,33	10,38	2,14	4,34	135,53	2,15	1,55
Bifid	2	18	4	5,754	2,72	12,45	2,37	5,32	166,58	2,35	2,09
Bifid	1	20	1	7,492	3,14	14,93	2,81	6,12	193,05	2,61	2,34
Bifid	1	20	1	5,988	2,97	13,1	2,57	6,03	174,66	3,61	1,39
Bifid	1	20	1	3,195	3,09	13,36	2,58	6,01	184,65	2,57	1,62
Bifid	1	20	2	3,522	3,09	15,26	3	7,16	212,16	3,05	3,16
Bifid	1	20	2	5,095	2,58	11,19	2,14	4,81	148,2	2,19	1,9
Bifid	1	20	2	6,161	2,75	13,47	2,6	5,55	179,14	2,48	0,85
Bifid	1	20	3	7,498	3,21	15,61	2,92	6,24	202,87	2,54	0,91
Bifid	1	20	3	7,436	3,29	16,09	3,04	6,74	214,94	2,65	0,93
Bifid	1	20	3	5,907	2,67	12,68	2,51	5,35	167,25	2,44	1,88
Bifid	1	20	4	7,291	4,22	20,54	3,8	7,11	255,62	3,11	2,04
Bifid	1	20	4	5,941	2,69	12,62	2,75	5,31	163,83	2,36	2,04
Bifid	1	20	4	5,825	2,66	12,79	2,53	5,44	171,06	2,3	2,04
Bifid	2	20	1	5,272	2,38	11,1	2,18	4,53	146,54	2,09	1,72
Bifid	2	20	1	4,532	2,06	9,053	1,87	3,86	118,33	1,94	1,55
Bifid	2	20	1	4,796	2,04	9,852	2,04	4,44	130,92	2,05	1,87
Bifid	2	20	2	6,206	2,73	12,86	2,49	5,36	170,89	2,42	0,79

Bifid	2	20	2	5,837	2,6	12,72	2,97	5,31	170,62	2,44	1,61
Bifid	2	20	2	5,441	2,33	11,37	2,18	4,71	148,51	2,24	2,1
Bifid	2	20	3	5,045	4	19,61	3,75	8,16	261,21	3,36	1,9
Bifid	2	20	3	5,849	2,87	12,51	2,87	5,29	164,49	2,68	1,82
Bifid	2	20	3	6,32	2,99	13,74	2,74	5,69	183,17	2,52	2,23
Bifid	2	20	4	6,036	2,88	14,59	2,77	6,6	205,31	2,75	3,08
Bifid	2	20	4	6,97	2,85	14,24	2,53	5,66	185,51	2,44	1,67
Bifid	2	20	4	5,94	2,75	12,86	2,85	5,32	170,85	2,29	0,84
Bifid	1	24	1	7,547	3,39	16,12	2,98	6,64	211,69	2,72	1
Bifid	1	24	1	8,625	3,7	18,47	3,46	7,43	243,4	3,06	0,78
Bifid	1	24	1	7,97	3,58	17,29	3,32	7,29	231,23	2,84	2,48
Bifid	1	24	2	6,468	2,74	13,49	2,56	5,39	172,8	2,38	2,12
Bifid	1	24	2	5,181	2,4	11,11	2,19	4,83	146,72	2,27	1,96
Bifid	1	24	2	7,112	3,05	15,19	2,84	6,26	202,87	2,59	1,1
Bifid	1	24	3	5,534	2,31	10,48	2,03	4,2	135,58	2,19	1,9
Bifid	1	24	3	5,733	2,61	12,56	2,42	5,13	167,01	2,29	1,75
Bifid	1	24	3	5,447	2,37	11,87	2,17	5,16	162,74	2,31	1,69
Bifid	1	24	4	6,077	2,71	13,1	2,47	5,4	171,68	2,25	2,05
Bifid	1	24	4	6,12	2,86	13,19	2,47	5,62	175,8	2,45	4,13
Bifid	1	24	4	5,114	2,4	11,19	2,24	4,69	148,42	2,18	1,58
Bifid	2	24	1	7,054	3,16	14,92	2,84	5,98	197,87	2,77	0,92
Bifid	2	24	1	6,712	1,24	14,51	2,69	5,83	190,18	2,66	1,08
Bifid	2	24	1	6,199	2,69	12,4	2,41	5,17	163,07	2,4	0,97
Bifid	2	24	2	6,089	2,52	12,37	2,51	5,14	163,72	2,45	2,07
Bifid	2	24	2	5,849	2,52	12,57	2,43	5,26	167,36	2,43	1
Bifid	2	24	2	6,31	2,77	13,67	2,67	5,67	183,96	2,5	1,03
Bifid	2	24	3	5,473	2,34	10,96	2,14	4,54	142,53	2,67	2,04
Bifid	2	24	3	4,552	2,23	9,784	2,31	4,07	127,26	1,99	1,5
Bifid	2	24	3	5,08	2,31	10,7	2,18	4,55	139,93	2,34	1,58
Bifid	2	24	4	6,4	2,67	13,39	2,4	5,3	175,22	2,33	1,58
Bifid	2	24	4	5,613	2,57	11,96	2,62	5,18	158,02	2,28	1,6
Bifid	2	24	4	6,421	2,86	13,12	2,45	5,44	174,5	2,36	1,72
Rham	1	18	1	5,811	2,58	11,98	2,38	4,9	154,81	2,28	1,97
Rham	1	18	1	5,159	2,36	10,65	2,26	4,44	138,87	2,07	0,98
Rham	1	18	1	5,55	2,47	11,27	2,24	4,69	145,15	2,16	2,05
Rham	1	18	2	6,398	2,53	11,91	2,42	4,86	150,86	2,3	1,92
Rham	1	18	2	5,847	2,57	11,82	2,27	5,04	156,91	2,19	1
Rham	1	18	2	5,431	2,51	12	2,3	5	161,14	2,4	0,92
Rham	1	18	3	5,133	2,2	11,06	2,19	4,6	145,35	2,07	1,45
Rham	1	18	3	5,885	2,77	12,68	2,43	5,38	165,46	2,28	2,06
Rham	1	18	3	4,886	2,36	9,98	2,79	4,42	127,17	2,31	2,46

Rham	1	18	4	5,552	2,48	11,67	2,85	4,88	153,42	2,14	1,57
Rham	1	18	4	6,078	2,7	12,73	2,39	5,18	166,25	2,24	1,67
Rham	1	18	4	5,474	2,37	11,86	2,28	5,06	158,87	2,22	1,61
Rham	2	18	1	3,046	2,96	12,91	2,35	5,87	184,62	2,69	2,72
Rham	2	18	1	4,723	2,03	9,562	1,97	4,01	125,03	2,11	1,72
Rham	2	18	1	5,413	2,25	10,34	2,3	4,28	135,74	2,17	0,76
Rham	2	18	2	5,507	2,29	11,07	2,17	4,53	145,23	2,37	1,95
Rham	2	18	2	2,924	2,57	11,9	2,39	5,99	160,87	4,99	1,85
Rham	2	18	2	4,629	2,19	9,919	1,94	4,12	130,13	1,99	0,88
Rham	2	18	3	5,004	2,25	10,74	2,15	4,41	141,8	2,13	1,99
Rham	2	18	3	4,925	2,36	10,56	2,63	4,32	137,2	2,2	1,61
Rham	2	18	3	7,454	3,29	15,8	2,89	6,44	208,8	2,53	0,93
Rham	2	18	4	5,61	2,54	11,9	2,56	5,04	156,7	2,16	1,68
Rham	2	18	4	7,141	3,03	15,17	2,87	6,29	202,83	2,65	2,15
Rham	2	18	4	5,864	2,73	12,06	2,32	5,13	161,99	2,49	3,74
Rham	1	20	1	6,424	2,97	14,04	2,65	5,96	186,4	2,42	1,82
Rham	1	20	1	3,641	3,17	13,35	2,66	5,5	174,37	2,62	1,77
Rham	1	20	1	8,063	3,59	17,18	3,16	7,03	226,35	2,86	1,12
Rham	1	20	2	6,52	2,73	13,39	2,54	5,41	171,52	2,29	1,99
Rham	1	20	2	6,091	2,92	13,44	2,6	5,44	175,56	2,35	1,45
Rham	1	20	2	6,403	2,84	14,11	2,66	5,95	189,35	2,87	0,93
Rham	1	20	3	7,133	3,76	18,91	3,44	8,32	268,81	3,22	1,02
Rham	1	20	3	5,979	2,87	12,97	2,5	5,44	175,96	2,32	1,6
Rham	1	20	3	6,942	3,04	15,21	2,86	6,19	202,79	2,56	0,91
Rham	1	20	4	4,639	2,12	9,771	1,88	4,07	127,88	2,03	1,46
Rham	1	20	4	5,577	2,52	11,97	2,43	5,16	160,19	2,24	1,59
Rham	1	20	4	5,067	2,39	10,97	2,14	4,75	146,51	2,12	3,52
Rham	2	20	1	5,017	5,47	11,01	5,71	5,36	147	2,54	2,07
Rham	2	20	1	5,282	2,39	11,27	2,26	4,64	149,13	2,23	0,93
Rham	2	20	1	4,937	2,15	10,08	2,15	4,28	132,91	2,12	1,82
Rham	2	20	2	5,438	2,33	10,88	2,36	4,34	140,37	2,21	1,82
Rham	2	20	2	5,691	2,64	12,5	2,48	5,28	166,93	2,41	0,91
Rham	2	20	2	6,072	2,88	13,06	2,49	5,71	173,62	2,37	1,17
Rham	2	20	3	4,972	2,49	10,56	2,09	4,32	138,81	2,03	1,74
Rham	2	20	3	6,224	2,79	13,35	2,55	5,5	177,97	2,48	2,11
Rham	2	20	3	5,629	2,55	11,66	2,31	4,71	152,54	2,38	2
Rham	2	20	4	6,027	3,3	14,73	2,89	6,07	203,17	2,78	1,77
Rham	2	20	4	7,501	3,2	16,25	2,95	6,8	219,26	2,83	1,83
Rham	2	20	4	5,727	3,1	12,41	2,36	5,39	168,42	2,54	1,79
Rham	1	24	1	6,606	2,82	13,7	2,87	5,66	177,5	2,69	2,18
Rham	1	24	1	7,893	3,45	16,63	3,13	6,72	218,37	2,74	1,12

Rham	1	24	1	6,745	3,08	14,67	2,82	6,78	196,65	3,43	2,11
Rham	1	24	2	7,089	2,95	14,88	2,76	6,14	191,99	2,66	2,35
Rham	1	24	2	6,28	2,86	13,87	2,66	5,73	183,76	2,39	0,93
Rham	1	24	2	6,579	2,9	14,36	2,76	6,02	189,14	2,48	1,88
Rham	1	24	3	10,84	4,25	18,96	1,3	4,44	196,61	2,63	2,26
Rham	1	24	3	4,998	2,61	11,56	2,53	5,21	159,76	2,9	1,79
Rham	1	24	3	5,26	2,47	11,09	2,19	4,62	145,16	2,06	1,54
Rham	1	24	4	5,469	2,47	11,64	2,17	4,94	156,72	2,42	1,79
Rham	1	24	4	6,393	2,97	13,61	2,65	5,7	177,61	2,51	1,87
Rham	1	24	4	6,955	2,92	14,79	2,72	6,16	196,92	2,57	1,79
Rham	2	24	1	3,531	2,94	14,43	3,28	6,84	197,67	4,41	1,72
Rham	2	24	1	6,959	2,87	14,49	2,55	5,81	190,72	2,53	1,63
Rham	2	24	1	5,926	3,41	17,53	3,3	7,86	249,34	3,29	2,99
Rham	2	24	2	2,917	2,44	11,73	2,55	6,69	164,09	4,42	1,49
Rham	2	24	2	3,397	3,56	12,29	2,9	5,44	167,73	2,5	1,68
Rham	2	24	2	5,571	2,54	11,9	2,52	5,02	159,25	2,4	0,95
Rham	2	24	3	6,483	2,9	13,54	2,57	5,37	175,59	2,67	2,24
Rham	2	24	3	5,527	2,51	11,78	2,33	4,92	157,66	2,21	1,94
Rham	2	24	3	6,253	2,9	13,47	2,62	5,59	178,73	2,4	1,81
Rham	2	24	4	5,749	2,54	11,86	2,79	4,91	155,89	2,19	2,03
Rham	2	24	4	5,721	2,56	12,21	2,45	4,95	159,92	2,23	2,11
Rham	2	24	4	3,886	1,77	8,068	1,65	3,47	105,96	1,79	1,32

Anexo 3. Parámetros fisicoquímicos determinados pH, índice de consistencia K en Pascales por segundo (Pa/s) y el índice de flujo n.

Parámetros fisicoquímicos determinados pH, índice de consistencia K en Pascales por segundo (Pa/s) y el índice de flujo n.

Cultivo	Sustrato	Fermentación	Almacenamiento	pH	K	n
Chozit	1	18	1	4,2	6,4002	0,2462
Chozit	1	18	1	4,23	3,8456	0,3156
Chozit	1	18	1	4,26	5,422	0,27
Chozit	1	18	2	4,16	4,9136	0,2834
Chozit	1	18	2	4,11	5,0965	0,2911
Chozit	1	18	2	4,18	5,435	0,28
Chozit	1	18	3	4,18	5,2418	0,2845
Chozit	1	18	3	4,23	4,3895	0,2972
Chozit	1	18	3	4,21	5,721	0,247
Chozit	1	18	4	4,2	4,2583	0,3126
Chozit	1	18	4	4,04	5,614	0,2711
Chozit	1	18	4	4,21	4,367	0,303
Chozit	2	18	1	4,19	5,1183	0,2619
Chozit	2	18	1	4,23	3,2134	0,3402
Chozit	2	18	1	4,27	4,235	0,288
Chozit	2	18	2	4,15	4,3263	0,2916
Chozit	2	18	2	4,09	4,9887	0,2764
Chozit	2	18	2	4,23	4,111	0,308
Chozit	2	18	3	4,17	3,617	0,3299
Chozit	2	18	3	4,21	5,5891	0,2665
Chozit	2	18	3	4,21	5,265	0,277
Chozit	2	18	4	4,19	4,2365	0,302
Chozit	2	18	4	4,04	6,0655	0,2529
Chozit	2	18	4	4,22	4,077	0,309
Chozit	1	20	1	4,22	5,4744	0,2634
Chozit	1	20	1	4,28	5,1427	0,2789
Chozit	1	20	1	4,24	4,882	0,299
Chozit	1	20	2	4,14	5,4508	0,27
Chozit	1	20	2	4,14	5,2277	0,2766
Chozit	1	20	2	4,17	5,529	0,276
Chozit	1	20	3	4,16	5,2379	0,2873
Chozit	1	20	3	4,25	6,0425	0,2598
Chozit	1	20	3	4,18	6,265	0,261
Chozit	1	20	4	4,21	4,5969	0,3066
Chozit	1	20	4	4,08	7,3004	0,2376
Chozit	1	20	4	4,16	4,937	0,301
Chozit	2	20	1	4,16	3,9951	0,3011
Chozit	2	20	1	4,19	4,4292	0,3039

Chozit	2	20	1	4,23	4,199	0,316
Chozit	2	20	2	4,13	3,838	0,2964
Chozit	2	20	2	4,03	5,7832	0,2629
Chozit	2	20	2	4,16	4,424	0,303
Chozit	2	20	3	4,15	3,0724	0,3446
Chozit	2	20	3	4,18	4,9657	0,2892
Chozit	2	20	3	4,2	6,807	0,255
Chozit	2	20	4	4,17	4,0848	0,3042
Chozit	2	20	4	3,98	6,1813	0,2639
Chozit	2	20	4	4,19	4,627	0,308
Chozit	1	24	1	4,15	5,6256	0,2582
Chozit	1	24	1	4,15	4,1294	0,3182
Chozit	1	24	1	4,19	5,217	0,291
Chozit	1	24	2	4,09	4,5708	0,295
Chozit	1	24	2	4	5,3667	0,2721
Chozit	1	24	2	4,13	5,2	0,285
Chozit	1	24	3	4,12	5,4204	0,2794
Chozit	1	24	3	4,14	4,489	0,2999
Chozit	1	24	3	4,15	5,217	0,285
Chozit	1	24	4	4,15	5,9675	0,2726
Chozit	1	24	4	3,95	6,6903	0,2505
Chozit	1	24	4	4,13	4,272	0,319
Chozit	2	24	1	4,14	5,2709	0,2647
Chozit	2	24	1	4,22	4,2089	0,3147
Chozit	2	24	1	4,19	5,401	0,279
Chozit	2	24	2	4,09	4,1419	0,2985
Chozit	2	24	2	4,1	5,7505	0,2725
Chozit	2	24	2	4,17	4,19	0,309
Chozit	2	24	3	4,12	4,0625	0,3034
Chozit	2	24	3	4,19	5,1406	0,3001
Chozit	2	24	3	4,13	5,263	0,283
Chozit	2	24	4	4,14	5,0137	0,2844
Chozit	2	24	4	4,02	6,6068	0,2607
Chozit	2	24	4	4,17	4,746	0,301
Acid	1	18	1	4,14	5,257	0,2621
Acid	1	18	1	4,14	4,3477	0,3152
Acid	1	18	1	4,27	4,956	0,302
Acid	1	18	2	4,1	3,9017	0,3051
Acid	1	18	2	3,97	5,3582	0,2763
Acid	1	18	2	4,09	5,079	0,283
Acid	1	18	3	4,11	3,8536	0,3104

Acid	1	18	3	4,09	6,7818	0,2499
Acid	1	18	3	4,12	6,055	0,266
Acid	1	18	4	4,14	3,4066	0,3354
Acid	1	18	4	3,9	7,4005	0,2346
Acid	1	18	4	4,09	5,523	0,28
Acid	2	18	1	4,13	4,4767	0,2693
Acid	2	18	1	4,16	3,619	0,3241
Acid	2	18	1	4,2	5,117	0,281
Acid	2	18	2	4,08	3,6966	0,3084
Acid	2	18	2	3,99	3,6419	0,3173
Acid	2	18	2	4,15	3,954	0,319
Acid	2	18	3	4,1	2,9464	0,3477
Acid	2	18	3	4,11	3,7163	0,3199
Acid	2	18	3	4,12	4,957	0,28
Acid	2	18	4	4,11	4,2604	0,2966
Acid	2	18	4	3,9	5,938	0,2568
Acid	2	18	4	4,09	4,524	0,305
Acid	1	20	1	4,12	6,1953	0,2497
Acid	1	20	1	4,15	4,661	0,3031
Acid	1	20	1	4,19	4,285	0,306
Acid	1	20	2	4,06	5,1327	0,27836
Acid	1	20	2	3,99	5,4848	0,2878
Acid	1	20	2	4,15	5,317	0,281
Acid	1	20	3	4,09	5,3316	0,2832
Acid	1	20	3	4,09	4,9949	0,3035
Acid	1	20	3	4,11	7,862	0,201
Acid	1	20	4	4,1	5,8337	0,2772
Acid	1	20	4	3,91	7,2663	0,2521
Acid	1	20	4	4,12	4,768	0,301
Acid	2	20	1	4,13	4,3637	0,2892
Acid	2	20	1	4,11	4,531	0,2875
Acid	2	20	1	4,2	5,183	0,275
Acid	2	20	2	4,08	4,6233	0,2824
Acid	2	20	2	3,94	4,788	0,2891
Acid	2	20	2	4,16	4,928	0,279
Acid	2	20	3	4,11	3,8985	0,3228
Acid	2	20	3	4,05	4,3908	0,3057
Acid	2	20	3	4,07	5,543	0,263
Acid	2	20	4	4,1	3,7093	0,3239
Acid	2	20	4	3,85	6,7316	0,2537
Acid	2	20	4	4,13	4,922	0,29

Acid	1	24	1	4,1	6,1887	0,2531
Acid	1	24	1	4,12	5,5446	0,2928
Acid	1	24	1	4,17	4,451	0,292
Acid	1	24	2	4,04	5,4772	0,272
Acid	1	24	2	3,95	6,2081	0,275
Acid	1	24	2	4,11	4,07	0,313
Acid	1	24	3	4,07	5,0888	0,294
Acid	1	24	3	4,07	5,8762	0,2849
Acid	1	24	3	4,11	4,744	0,292
Acid	1	24	4	4,08	3,8392	0,3283
Acid	1	24	4	3,88	7,5165	0,2537
Acid	1	24	4	4,04	4,841	0,298
Acid	2	24	1	4,08	5,3913	0,2647
Acid	2	24	1	4,08	3,5712	0,3312
Acid	2	24	1	4,19	4,866	0,292
Acid	2	24	2	4,04	4,7885	0,2791
Acid	2	24	2	3,94	4,2857	0,301
Acid	2	24	2	4,1	5,201	0,278
Acid	2	24	3	4,06	3,6198	0,3274
Acid	2	24	3	4,04	5,8281	0,263
Acid	2	24	3	4,08	5,271	0,273
Acid	2	24	4	4,07	4,374	0,31
Acid	2	24	4	3,85	6,1958	0,2488
Acid	2	24	4	4,03	4,404	0,308
Bifid	1	18	1	4,21	5,0476	0,2715
Bifid	1	18	1	4,18	3,4981	0,3381
Bifid	1	18	1	4,23	4,237	0,305
Bifid	1	18	2	4,13	4,2185	0,2987
Bifid	1	18	2	4,02	4,4409	0,3027
Bifid	1	18	2	4,13	5,548	0,269
Bifid	1	18	3	4,15	5,7384	0,2689
Bifid	1	18	3	4,13	5,9212	0,2695
Bifid	1	18	3	4,14	6,105	0,265
Bifid	1	18	4	4,15	3,7459	0,3162
Bifid	1	18	4	3,96	6,0364	0,2681
Bifid	1	18	4	4,15	4,14	0,325
Bifid	2	18	1	4,14	5,3044	0,2535
Bifid	2	18	1	4,19	3,922	0,3197
Bifid	2	18	1	4,24	4,72	0,293
Bifid	2	18	2	4,11	4,6346	0,28
Bifid	2	18	2	4,02	3,9995	0,3081

Bifid	2	18	2	4,15	4,796	0,284
Bifid	2	18	3	4,12	4,099	0,2787
Bifid	2	18	3	4,14	4,4641	0,3114
Bifid	2	18	3	4,17	4,138	0,304
Bifid	2	18	4	4,15	3,6023	0,3304
Bifid	2	18	4	3,97	5,4777	0,2649
Bifid	2	18	4	4,21	4,759	0,295
Bifid	1	20	1	4,18	5,2026	0,2652
Bifid	1	20	1	4,2	3,8563	0,3201
Bifid	1	20	1	4,25	4,862	0,295
Bifid	1	20	2	4,1	5,3139	0,2738
Bifid	1	20	2	4,02	4,4119	0,3022
Bifid	1	20	2	4,17	5,067	0,289
Bifid	1	20	3	4,14	5,1825	0,2831
Bifid	1	20	3	4,15	3,9963	0,3174
Bifid	1	20	3	4,16	6,475	0,263
Bifid	1	20	4	4,15	4,5539	0,2971
Bifid	1	20	4	3,98	5,8164	0,2678
Bifid	1	20	4	4,2	4,907	0,296
Bifid	2	20	1	4,15	4,1679	0,2926
Bifid	2	20	1	4,16	4,0502	0,3204
Bifid	2	20	1	4,23	5,163	0,277
Bifid	2	20	2	4,09	3,418	0,3179
Bifid	2	20	2	3,99	5,2459	0,2808
Bifid	2	20	2	4,2	4,429	0,303
Bifid	2	20	3	4,12	2,7517	0,3531
Bifid	2	20	3	4,1	6,077	0,2605
Bifid	2	20	3	4,16	5,007	0,285
Bifid	2	20	4	4,14	4,3613	0,3054
Bifid	2	20	4	3,92	6,1369	0,2529
Bifid	2	20	4	4,18	4,89	0,299
Bifid	1	24	1	4,14	5,4175	0,2625
Bifid	1	24	1	4,16	3,6868	0,3373
Bifid	1	24	1	4,25	4,116	0,32
Bifid	1	24	2	4,06	5,2047	0,2753
Bifid	1	24	2	3,99	5,4229	0,2791
Bifid	1	24	2	4,16	5,014	0,287
Bifid	1	24	3	4,09	4,6393	0,2975
Bifid	1	24	3	4,09	4,9081	0,3012
Bifid	1	24	3	4,13	5,463	0,282
Bifid	1	24	4	4,1	4,3777	0,3163

Bifid	1	24	4	3,91	6,3997	0,2604
Bifid	1	24	4	4,1	5,539	0,283
Bifid	2	24	1	4,09	5,0454	0,2744
Bifid	2	24	1	4,13	4,7884	0,3159
Bifid	2	24	1	4,21	4,481	0,296
Bifid	2	24	2	4,05	4,7291	0,28
Bifid	2	24	2	3,95	4,4672	0,2944
Bifid	2	24	2	4,13	4,161	0,305
Bifid	2	24	3	4,07	3,7598	0,3178
Bifid	2	24	3	4,09	5,4227	0,2709
Bifid	2	24	3	4,15	6,019	0,249
Bifid	2	24	4	4,1	5,0804	0,2968
Bifid	2	24	4	3,9	5,6703	0,2607
Bifid	2	24	4	4,17	4,071	0,317
Rham	1	18	1	4,1	4,2476	0,2967
Rham	1	18	1	4,11	4,7894	0,3069
Rham	1	18	1	4,16	4,884	0,291
Rham	1	18	2	4,04	4,8406	0,2862
Rham	1	18	2	3,91	6,1115	0,2717
Rham	1	18	2	4,06	5,037	0,305
Rham	1	18	3	4,06	5,4143	0,2781
Rham	1	18	3	4,06	5,1427	0,2789
Rham	1	18	3	4,01	4,51	0,299
Rham	1	18	4	4,06	4,6957	0,2967
Rham	1	18	4	3,84	7,6868	0,2385
Rham	1	18	4	3,99	4,185	0,318
Rham	2	18	1	4,06	4,4762	0,2907
Rham	2	18	1	4,01	3,5725	0,3268
Rham	2	18	1	4,15	4,659	0,293
Rham	2	18	2	4	3,7937	0,3157
Rham	2	18	2	3,89	4,6427	0,2934
Rham	2	18	2	4,05	4,461	0,301
Rham	2	18	3	4,02	3,7584	0,3142
Rham	2	18	3	4,03	6,5453	0,254
Rham	2	18	3	3,99	4,909	0,29
Rham	2	18	4	4,04	3,6472	0,33
Rham	2	18	4	3,81	5,4797	0,2683
Rham	2	18	4	3,95	4,068	0,315
Rham	1	20	1	4,08	3,6408	0,3116
Rham	1	20	1	4,07	4,3291	0,3187
Rham	1	20	1	4,13	4,666	0,309

Rham	1	20	2	4,01	4,2376	0,302
Rham	1	20	2	3,91	5,2138	0,2808
Rham	1	20	2	3,98	4,381	0,305
Rham	1	20	3	4,03	3,9744	0,3083
Rham	1	20	3	4	4,1545	0,3134
Rham	1	20	3	3,96	5,279	0,288
Rham	1	20	4	4,03	3,957	0,32
Rham	1	20	4	3,8	7,787	0,2371
Rham	1	20	4	3,91	5,545	0,283
Rham	2	20	1	4,05	4,3598	0,2981
Rham	2	20	1	4,02	4,0871	0,326
Rham	2	20	1	4,14	4,825	0,285
Rham	2	20	2	3,99	3,9964	0,3059
Rham	2	20	2	3,88	5,4287	0,2737
Rham	2	20	2	4,01	4,064	0,319
Rham	2	20	3	4	3,8449	0,322
Rham	2	20	3	3,97	4,3105	0,3102
Rham	2	20	3	3,95	5,359	0,275
Rham	2	20	4	4,01	2,9216	0,3618
Rham	2	20	4	3,77	6,8219	0,2462
Rham	2	20	4	3,95	4,338	0,304
Rham	1	24	1	4,02	4,9611	0,2716
Rham	1	24	1	4,05	5,0485	0,3009
Rham	1	24	1	4,09	4,816	0,299
Rham	1	24	2	3,96	4,5926	0,2831
Rham	1	24	2	3,87	4,7387	0,3037
Rham	1	24	2	4	4,834	0,296
Rham	1	24	3	4	4,5194	0,2915
Rham	1	24	3	4	4,5771	0,3018
Rham	1	24	3	3,92	6,45	0,265
Rham	1	24	4	3,99	4,2391	0,3099
Rham	1	24	4	3,79	7,1887	0,2494
Rham	1	24	4	3,9	6,21	0,265
Rham	2	24	1	3,99	4,9161	0,2754
Rham	2	24	1	3,96	4,0693	0,3259
Rham	2	24	1	4,07	4,574	0,297
Rham	2	24	2	3,95	4,2995	0,2972
Rham	2	24	2	3,8	5,192	0,292
Rham	2	24	2	3,97	4,103	0,314
Rham	2	24	3	3,96	3,7202	0,3222
Rham	2	24	3	3,92	5,0445	0,2906

Rham	2	24	3	3,97	5,155	0,295
Rham	2	24	4	3,97	3,509	0,3393
Rham	2	24	4	3,73	6,8805	0,2542
Rham	2	24	4	4,01	4,774	0,3

Anexo 4. Formatos de evaluación sensorial y preparación de los panelistas entrenados.

FORMATO DE EVALUACION SENSORIAL PROYECTO CLA PRUEBA DE CONSUMIDORES KUMIS

Usted recibirá tres muestras diferentes de Kumis. Marque con X Sobre la casilla de su preferencia.

Muestra 1:

Aceptación:

Muy aceptable	Aceptable	Ni gusta ni disgusta	Desagradable	Muy desagradable
---------------	-----------	----------------------	--------------	------------------

Compraría el producto:

Sí	No
----	----

Muestra 2:

Aceptación:

Muy aceptable	Aceptable	Ni gusta ni disgusta	Desagradable	Muy desagradable
---------------	-----------	----------------------	--------------	------------------

Compraría el producto:

Sí	No
----	----

Muestra 3:

Aceptación:

Muy aceptable	Aceptable	Ni gusta ni disgusta	Desagradable	Muy desagradable
---------------	-----------	----------------------	--------------	------------------

Compraría el producto:

Sí	No
----	----

FORMATO DE EVALUACION SENSORIAL PROYECTO CLA PRUEBA DE CONSUMIDORES KUMIS

Usted recibirá tres muestras diferentes de Kumis. Marque con X Sobre la casilla de su preferencia.

Muestra 1:

Aceptación:

Muy aceptable	Aceptable	Ni gusta ni disgusta	Desagradable	Muy desagradable
---------------	-----------	----------------------	--------------	------------------

Compraría el producto:

Sí	No
----	----

Muestra 2:

Aceptación:

Muy	Aceptable	Ni gusta	Desagradable	Muy
-----	-----------	----------	--------------	-----

aceptable		ni disgusta		desagradable
-----------	--	-------------	--	--------------

Compraría el producto:

Sí	No
----	----

Muestra 3:

Aceptación:

Muy aceptable	Aceptable	Ni gusta ni disgusta	Desagradable	Muy desagradable
---------------	-----------	----------------------	--------------	------------------

Compraría el producto:

Sí	No
----	----

FORMATO DE EVALUACION SENSORIAL PROYECTO CLA PRUEBA DESCRIPTIVA KUMIS

Estimado Panelista: Usted ha sido invitado a participar en la evaluación sensorial de bebidas lácteas fermentadas con énfasis en CLA, a continuación se le presentarán 3 muestras identificadas con un número de dos dígitos, para la evaluación siga las instrucciones.

- 1. Tome una de las muestras**
- 2. Diligencie en la casilla “MUESTRA” el número correspondiente a la muestra que va analizar.**
- 3. Evalúe la característica solicitada según la escala propuesta.**
- 4. Anote sus resultados en la casilla correspondiente.**
- 5. Consuma agua entre cada muestra y espere al menos 1 minuto antes de tomar una nueva muestra**
- 6. Si tiene observaciones adicionales escríbalas en el espacio asignado.**

!!!!No olvide que sus resultados son muy importantes para el correcto desarrollo de la investigación, por esto agradecemos su colaboración!!!!

ESCALA DE EVALUACIÓN

COLOR

1 Blanco, opaco, amarillento
0 No característico, no uniforme

6 Líquido, homogéneo, suave, algo viscoso

0-3 Sinéresis (separación de suero) asociada con cuerpo débil (aguado), muy espeso, con grumos, áspero, filamentosos, gelatinoso.

AROMA- SABOR

9 Característico, ácido, dulce
6 Carencia de aroma, sabor insípido a cocinado no fresco, a tiza
0 - 3 Fermentado (agrio), amargo, astringente a cartón a jabón,

CALIDAD GLOBAL

9
6
0-3

ACIDEZ

2 Ligeramente ácido
0-1 Muy ácido

TEXTURA

Fecha: _____ Panelista: _____

PARAMETRO	MUESTRA NUMERO		
COLOR			
AROMA- SABOR			
ACIDEZ			
TEXTURA			
CALIDAD GLOBAL			

OBSERVACIONES:

GRACIAS POR SU COLABORACION !!!!!!!

FORMATO DE EVALUACION SENSORIAL PROYECTO CLA PRUEBA TRIANGULAR KUMIS

Estimado Panelista: Usted ha sido invitado a participar en la evaluación sensorial de bebidas lácteas fermentadas con énfasis en CLA, a continuación se le presentarán 2 grupos de 3 muestras identificadas con un número de tres dígitos.

Dentro de estos dos grupos identifique la muestra diferente

Fecha: _____ Panelista: _____

1) Diligencie en la casilla “MUESTRA” el número correspondiente a la muestra que va analizar.

Grupo 1: Marque con X sobre el código de la muestra diferente.

Código Muestra			
----------------	--	--	--

Grupo 2: Marque con X sobre el código de la muestra diferente.

Código Muestra			
----------------	--	--	--

Definición de los criterios de evaluación con los panelistas entrenados

1. Reunidos los líderes de la evaluación con los panelistas entrenados se realiza la presentación general de la prueba para la evaluación sensorial de diferentes tipos de kumis.
2. Socialización del formato de evaluación para la prueba descriptiva y aprobación de las escalas de valoración para los atributos estudiados por parte de los panelistas.
3. Se aplica la evaluación descriptiva a dos muestras de marcas comerciales reconocidas y a una muestra elaborada a escala piloto, haciendo énfasis en las particularidades sensoriales del kumis definidas por los cultivos termófilos que realizan la fermentación. Los panelistas manifiestan percibir la presencia de sabores residuales propios de los conservantes adicionados a las muestras comerciales y manifiestan encontrar un mejor balance entre dulzura y acidez y mejores atributos de aroma y textura en la muestra elaborada en la planta piloto.
4. La muestra elaborada en la planta piloto es tomada como parámetro de referencia para la evaluación.
5. El horario definido para realizar las pruebas los días lunes de las 9:00 a las 10:00 AM y de las 3:00 a las 4:00 PM

Anexo 5. Salidas del soft Ware SAS para los análisis estadísticos

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL ALC

Sistema SAS 09:42 Tuesday, August 31, 2010 8
 Procedimiento GLM

Variable dependiente: ALC

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	95	564.4352961	5.9414242	4.53	<.0001
Error	192	251.6603294	1.3107309		
Total correcto	287	816.0956255			

R-cuadrado 0.691629
 Coef Var 7.964586
 Raiz MSE 1.144872
 CLA Media 14.37453

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Cultivo	3	10.9425186	3.6475062	2.78	0.0422
Sustrato	1	17.6972693	17.6972693	13.50	0.0003
Fermentacion	2	13.2469074	6.6234537	5.05	0.0073
Almacenamiento	3	87.9073496	29.3024499	22.36	<.0001
Cultivo*Sustrato	3	5.3773450	1.7924483	1.37	0.2540
Cultivo*Fermentacion	6	24.6509351	4.1084892	3.13	0.0059
Cultivo*Almacenamiento	9	58.5019688	6.5002188	4.96	<.0001
Sustrato*Almacenamiento	3	42.5235304	14.1745101	10.81	<.0001
Sustrato*Fermentacion	2	0.6267121	0.3133560	0.24	0.7876
Fermentacion*Almacenamiento	6	11.8394438	1.9732406	1.51	0.1782
Cultivo*Sustrato*Fermentacion	6	4.0002622	0.6667104	0.51	0.8014
Cultivo*Fermentacion*Almacenamiento	18	177.7367193	9.8742622	7.53	<.0001
Sustrato*Fermentacion*Almacenamiento	6	42.6914190	7.1152365	5.43	<.0001
Cultivo*Sustrato*Fermentacion*Almacenamiento	27	66.6929157	2.4701080	1.88	0.0077

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Cultivo	3	10.9425186	3.6475062	2.78	0.0422
Sustrato	1	17.6972693	17.6972693	13.50	0.0003
Fermentacion	2	13.2469074	6.6234537	5.05	0.0073
Almacenamiento	3	87.9073496	29.3024499	22.36	<.0001
Cultivo*Sustrato	3	5.3773450	1.7924483	1.37	0.2540
Cultivo*Fermentacion	6	24.6509351	4.1084892	3.13	0.0059
Cultivo*Almacenamiento	9	58.5019688	6.5002188	4.96	<.0001
Sustrato*Almacenamiento	3	42.5235304	14.1745101	10.81	<.0001
Sustrato*Fermentacion	2	0.6267121	0.3133560	0.24	0.7876
Fermentacion*Almacenamiento	6	11.8394438	1.9732406	1.51	0.1782
Cultivo*Sustrato*Fermentacion	6	4.0002622	0.6667104	0.51	0.8014
Cultivo*Fermentacion*Almacenamiento	18	177.7367193	9.8742622	7.53	<.0001
Sustrato*Fermentacion*Almacenamiento	6	42.6914190	7.1152365	5.43	<.0001

Tests para normalidad

Test	--Estadistico--	-----P-valor-----
Shapiro-Wilk	#11 X 0.99535	Pr < W 0.5425
Kolmogorov-Smirnov	D 0.037465	Pr > D >0.1500
Cramer-von Mises	W-Sq 0.045224	Pr > W-Sq >0.2500
Anderson-Darling	A-Sq 0.291439	Pr > A-Sq >0.2500

Nivel de	N	Media	Dev std
Cultivo			
Acid	72	14.3346646	2.06919268
Bifid	72	14.6973378	1.64560451
Chozit	72	14.2885174	1.59024423

Rham	72	14.1775854	1.34971676
-----CLA-----			
Nivel de Sustrato	N	Media	Dev std
1	144	14.6224151	1.90349344
2	144	14.1266375	1.39997072
-----CLA-----			
Nivel de Fermentacion	N	Media	Dev std
18	96	14.1209435	1.57830145
20	96	14.6454223	1.90696584
24	96	14.3572131	1.52429818
-----CLA-----			
Nivel de Almacenamiento	N	Media	Dev std
1	72	15.1164579	2.21753113
2	72	14.6969884	1.33406004
3	72	13.8458021	1.37144760
4	72	13.8388568	1.29543192

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	Cultivo
A	14.6973	72	Bifid
B A	14.3347	72	Acid
B A	14.2885	72	Chozit
B	14.1776	72	Rham

Tukey Agrupamiento	Media	N	Sustrato
A	14.6224	144	1
B	14.1266	144	2

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	Fermentacion
A	14.6454	96	20
B A	14.3572	96	24
B	14.1209	96	18

Tukey Agrupamiento	Media	N	Almacenamiento
A	15.1165	72	1
A	14.6970	72	2
B	13.8458	72	3
B	13.8389	72	4

CODIGO DE SAS USADO

```
data fisicoquimico;
set work.tesis;
proc print;
proc glm;
class cultivo sustrato fermentacion almacenamiento;
model c182c = cultivo sustrato fermentacion almacenamiento cultivo*sustrato
cultivo*fermentacion cultivo*almacenamiento sustrato*almacenamiento sustrato*fermentacion
sustrato*almacenamiento fermentacion*almacenamiento cultivo*sustrato*fermentacion
cultivo*fermentacion*almacenamiento sustrato*fermentacion*almacenamiento
cultivo*sustrato*fermentacion*almacenamiento/p;
lsmeans Cultivo*almacenamiento /adjust = tukey pdiff;
output out = nuevo predicted= pc182c residual= rc182c;
proc glm;
class cultivo sustrato fermentacion almacenamiento;
model c182c = cultivo sustrato fermentacion almacenamiento cultivo*sustrato
cultivo*fermentacion cultivo*almacenamiento sustrato*almacenamiento sustrato*fermentacion
sustrato*almacenamiento fermentacion*almacenamiento cultivo*sustrato*fermentacion
cultivo*fermentacion*almacenamiento sustrato*fermentacion*almacenamiento
cultivo*sustrato*fermentacion*almacenamiento/p;
means cultivo sustrato fermentacion almacenamiento cultivo*almacenamiento;
means cultivo sustrato fermentacion almacenamiento/ tukey;
proc univariate normal; var rc182c;
proc plot; plot rc182c*pc182c;
run;
```