



UNIVERSIDAD DE MURCIA

FACULTAD DE VETERINARIA

Efecto de la suplementación con plantas
aromáticas en leche y queso de cabra de la raza
Murciano-Granadina

D. Khalid Boutoial

2014



Dra. M^a BELÉN LÓPEZ MORALES, Profesora Titular de Universidad del Área de Tecnología de Alimentos en el Departamento de Tecnología de Alimentos Nutrición y Bromatología, Dr. EDUARDO FERRANDINI BANCHERO, Profesor contratado doctor interino de la Universidad de Murcia y Dr. ABDELKHALEK OUSSAMA, Profesor titular de la Université Sultan Moulay Slimane, Faculté des Sciences et Technique de Beni Melall (Marruecos), AUTORIZAN:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada “Efecto de la suplementación con plantas aromáticas en leche y queso de cabra de la raza Murciano-Granadina”, realizada por D. Khalid Boutoial, bajo nuestra inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia, a 20 de Enero de 2014

Fdo:

M^a Belén López

Eduardo Ferrandini

Abdelkhalek Oussama

Facultad de Veterinaria
Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología

AGRADECIMIENTO

Desde mi primer día en la Universidad de Murcia, he recibido mucho apoyo de muchas personas dentro el Departamento de Tecnología de los Alimentos para la adaptación con la nueva vida en Murcia y con las nuevas técnicas de análisis en el laboratorio y a la realización de esta Tesis Doctoral, ahora llega el momento para agradecer cada uno de ellos.

En primer lugar quiero agradecer mis directores, la Dra. M^a Belén López Morales, Dr. Eduardo Ferrandini y Dr. Abdelkhalek Oussama que han hecho muchos esfuerzos para la consecución de esta Tesis Doctoral, gracias Belén de me ofrecer el apoyo científico y económico, de verdad que bajo a su dirección he aprendido muchas cosas, gracias Edu de me abrir la puerta a entrar a este magnífico grupo de investigación.

A la directora de nuestro grupo de investigación Dra. M^a Dolores Garrido y la profesora Belén Linares, gracias por vuestro apoyo.

Al profesor José Laencina: por su ánimo y su apoyo a largo de todos estos años en la Universidad.

A los profesores Miguel Moliner, Daniel Álvarez, Sancho Bañon, José María Ros y Encarna Gómez por vuestro apoyo.

A los técnicos del laboratorio Carmen y Antonio por su ayuda.

A mis compañeros del grupo de lácteos Dra. Silvia Rovira y Víctor García por compartir sus tiempos y sus experiencias científicas.

A cada uno de los compañeros de nuestro equipo: Pedro, Miriam, Macarena, Rocío, Yanilka y Mariela por compartir buenos momentos juntos.

A todos los compañeros de “Zulo” y “Bodega”: Paola, Adriana, Inés, Ester, Mario, Rafa, Jordi, Naiara, Belén y Yolanda.

A mis padres Jilali y Fatna, por todo lo que me han dado, gracias de dejarme hacer lo que yo quiero y de estar siempre a mi lado cuando se hace falta.

A mis abuelos y mis tías y tíos y primos.

A mis hermanos Abdelkarim, Youssef y Mohssine, por vuestro apoyo y comprensión, a mis hermanas Fatima, Ouardia y Laila, a todos mis sóbrenos, por formar una familia unida y tolerante.

A mi mujer Fouzia, por su cariño, su alegría y su ánimo

RESUMEN

La región de Murcia se ha caracterizado por ser eminentemente agraria, donde la fabricación del queso de cabra ocupa una posición muy importante en la economía regional. El Queso de Murcia al Vino es, sin duda, uno de los principales quesos de cabra elaborados en España, además esta Región en los últimos años ha apostado por el desarrollo de nuevas variedades de quesos (mediante el empleo de nuevas formas de presentación de los cuajos animales o el uso de coagulantes vegetales) o de sistemas de control en línea.

De otra parte, el uso de los subproductos agroindustriales en la alimentación animal se ensayado con éxito como una estrategia para reducir los costes de alimentación en rumiantes y también para favorecer el reciclado de los subproductos derivados de la industria, cuyo coste de eliminación es muy elevado. En España la extracción de aceites esenciales de plantas aromáticas genera subproductos que en general están infrutilizados, pero son objeto de investigación de numerosos científicos debido a su alto contenido en compuestos polifenólicos. La inclusión de estos subproductos en dietas de cabras y de ovejas, proporciona resultados de interés en los productos derivados (carne y leche) debido a la transmisión de compuestos fenólicos de la dieta a los mismos, y que constituye una herramienta que satisface a las necesidades de los consumidores, que cada vez requieren de la industria alimentos más saludables y seguros.

El objetivo de esta memoria de Tesis Doctoral es determinar el efecto de la inclusión de plantas aromáticas o sus subproductos en la alimentación de cabras de la raza Murciano-Granadina en las características de leche y Queso de Murcia al Vino elaborados. Como objetivo preliminar, fue necesario determinar los parámetros que determinan la calidad de estos quesos (parámetros fisicoquímicos, proteólisis y lipólisis) en base al tiempo de maduración y establecimiento elaborador. Los resultados obtenidos para este objetivo determinan que el establecimiento elaborador afecta significativamente a todos los parámetros fisicoquímicos estudiados, excepto el contenido proteico, nitrógeno soluble y la concentración de $C_{4:0}$, $C_{16:0}$ y $C_{18:0}$. Sin embargo, los diferentes niveles de maduración influyeron de forma significativa en el contenido de materia seca, y WSN, PTASN y los aminoácidos libres, excepto la serina.

Una vez establecidos los parámetros de variación del Queso de Murcia al Vino se estudio la influencia en la leche de la incorporación de subproductos de romero en la dieta de cabras M-G, observándose una disminución en el tiempo de coagulación, extracto seco y contenido de lactosa así como en la concentración de C_{10} y C_{14} , sin embargo aumentó el porcentaje de C_{17} , $C_{18:2}$ y ácidos grasos poliinsaturados después de suplementar a los animales con 20% de subproducto de romero. Mientras que la suplementación con el 10% de este subproducto disminuyó el porcentaje de C_{14} y aumentó el contenido de $C_{18:2}$ y el contenido de ácidos grasos poliinsaturados en la leche. En Queso de Murcia al Vino elaborado con esta leche no se observan diferencias significativas en el rendimiento quesero, el recuento microbiológico y parámetros sensoriales, con la excepción del olor en el queso elaborado con leche procedente de animales que habían recibido el 10% de suplementación.

La sustitución del 7,5% de la dieta basal de cabra por hojas de tomillo sin destilar modificó significativamente la composición fisicoquímica de leche de cabra (incremento en la grasa, proteína, materia seca y el contenido de PUFA), mientras que el tiempo de coagulación de la leche de cabra disminuyó por la introducción en la dieta de un 20% de hojas de tomillo destilado, lo que aumentó su aptitud tecnológica. El recuento microbiológico, el análisis sensorial y el perfil de textura de los quesos no mostraron diferencias con la introducción de hojas de tomillo destiladas. La introducción de hojas del tomillo destilado y sin destilar en la dieta de cabras disminuido el grado de oxidación de la grasa del queso debido a la transferencia de compuestos fenólicos de la dieta a la leche y al queso.

Si comparamos los resultados obtenidos tras la suplementación de la dieta con subproductos de la destilación de tomillo y el romero, observamos que existen diferencias significativas en el contenido de extracto seco, proteína y lactosa, mientras que no influye en los valores de materia grasa, recuento de células somáticas y el punto crioscópico de la leche. En el Queso de Murcia al Vino no se determinan diferencias significativas para los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos estudiados, sin embargo los resultados del análisis sensorial determinan que el queso mejor valorado era aquel que se obtiene de la suplementación de la dieta de cabras con el subproducto del tomillo.

The province of Murcia is characterized by being largely agrarian, where the manufacture of goat cheese has a very important position in the overall economy of the province. In the last years, many studies have been carried out to develop new cheese varieties or improve cheese quality (new animal or vegetable coagulants, control of cheese syneresis by optical sensors ...).

The use of agricultural by-products in animal feed was successfully tested as a strategy to reduce feed costs and also to attempt the need to recycle waste materials which is costly to remove. In Spain the extraction of essential oils from aromatic plants generates high quantity of byproducts that are generally wasted. These residues are of interest to researchers due to their content of polyphenolic compounds, which can be included on the goats and sheep diets with relevant results. Researchers have confirmed a transmission of those phenolic compounds to milk or meat products. Thus, manufacturers can improve products quality and so attempt to consumers demands of healthier and safety products.

Based on these results, the first aim of this Thesis was to assess the effect of byproducts introduction in Murciano-Granadina goat's diet on the characteristics of goat milk and Murcia al Vino cheese, including the effect on cheese's proteolysis and lipolysis during ripening. The results shown a significant effect in water activity (a_w), pH, dry matter and fat content, water soluble nitrogen fractions (WSN), trichloroacetic acid (12% w / v) (TCASN) and phosphotungstic acid (5% w / v) (PTASN) and also affect the content of free amino acids and free fatty acid content, with the exception of $C_{4:0}$, $C_{16:0}$ and $C_{18:0}$, while different periods of maturation significantly affected dry matter content, and WSN, PTASN and all free amino acids to the amino acid except serine. The inclusion of rosemary byproducts in the diet of goats at two percentages (10% and 20%) shows that a supplementation with 20% significantly reduces the clotting time, dry matter and the lactose content of the milk, decreased the content of C_{10} and C_{14} , and increased the percentage of C_{17} , $C_{18:2}$ fatty acids. Supplementation with 10% rosemary byproduct decreased the percentage of C_{14} and increased $C_{18:2}$ and the content of polyunsaturated fatty acids. No significant differences were found in the protein content, pH and a_w of cheeses for 20% rosemary supplementation

byproducts. No significant differences were observed in cheese yield, microbiological counts and sensory parameters, except for the smell between the control and the cheese made from the milk supplemented with a 10%.

The second aim was to feed goats with distilled thyme leaves and study its (*Thymus zygis* subsp *gracilis*) on the physico-chemical composition, technological properties of pasteurized goat milk and physical chemistry, and the phenolic content, oxidative stability, microbiology, sensory profile and texture of Murcia al Vino goat cheese. The physical and chemical composition of goat milk was significantly affected by the replacement of 7.5% of the basal diet with goat undistilled thyme leaves (increase in fat, protein, dry matter and the PUFA content) while the milk clotting time increased significantly with the introduction of 20% distilled thyme leaves, reducing their technological aptitude. Cheese's microbiological count, sensory analysis and texture profile were not affected by the introduction of distilled thyme leaves. The introduction of undistilled thyme leaves in goat's diet may lead to an inhibition of lipid oxidation due to the transmission of diet's phenolic compounds into cheese.

The third aim of this Thesis was to evaluate the effect of feeding goats with both supplement types [byproducts of thyme (*Thymus zygis* sub *gracilis*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* spp)] in the physical and chemical composition (dry matter content fat and lactose), freezing point, the somatic cells of pasteurized goat's milk, and the physical and chemical composition, microbiological and sensory analysis of Murcia al Vino cheese. There were found significant differences in milk's dry matter, protein and lactose content, while there were no significant differences in fat, and somatic cell count freezing point. Not significant differences were found in cheese's physical-chemical and microbiological parameters.

Resumen

Summary

Índice de figuras

Abreviaturas, símbolos y acrónimos

I. INTRODUCCIÓN.....	11
II. OBJETIVO.....	25
III. ANTECEDENTES.....	29
III.1. Aprovechamiento de los subproductos de la industria agro-alimentaria en la alimentación animal	29
III.1.1. Subproductos de origen vegetal	34
III.1.2. Subproductos de origen animal	44
III.2. Influencia de suplementación de la dieta animal en la calidad de la leche y queso	47
IV. METODOLOGÍA.....	71
IV.1. Efecto de la suplementación de la dieta de cabras con plantas aromáticas en la calidad de leche y queso	71
IV. 1.1. Diseño experimental y tratamiento de las dietas	71
IV. 1.2. Recolección de muestras de leche de cabra	74
IV.1.3. Análisis fisicoquímicos de leche	74
IV.1.4. Determinación del tiempo de coagulación	74
IV.1.5. Determinación de la concentración de ácidos grasos totales	74
<i>IV.1.5.1. Extracción de la fracción lipídica</i>	74
<i>IV.1.5.2. Derivatización de los ácidos grasos</i>	75
<i>IV.1.5.3. Identificación y cuantificación de los ácidos</i>	75
IV.1.6. Elaboración de quesos experimentales	76
IV.1.7. Determinación de parámetros fisicoquímicos de los Quesos de Murcia al Vino	79

IV.1.7.1. Preparación de muestras	79
IV.1.7.2. Determinación de pH	79
IV.1.7.3. Determinación del extracto seco total	79
IV.1.7.4. Determinación del contenido proteico	80
IV.1.7.5. Determinación de grasa	80
IV.1.7.6. Determinación de la actividad de agua (a_w)	80
IV.1.8. Determinación de la concentración de polifenoles totales	81
IV.1.9. Determinación de las sustancias reactivas con el ácido 2-Tiobarbitúrico (TBARs)	82
IV.1.10. Análisis sensorial de los quesos experimentales	83
IV.1.10.1. Preparación de muestras	83
IV.1.10.2. Análisis descriptivo cuantitativo	83
IV.1.11. Análisis de microbiológicos	86
IV.1.12. Análisis de textura	89
IV.2. Influencia de la maduración y el establecimiento elaborador en la proteólisis y lipólisis del Queso de Murcia al Vino	89
IV.2.1. Diseño experimental	90
IV.2.2. Determinación de las fracciones nitrogenadas	91
IV.2.2.1. Fracción nitrogenada soluble en agua (WSN)	91
IV.2.2.2. Fracción nitrogenada soluble en TCA 12% (TCASN 12%)	91
IV.2.2.3. Fracción nitrogenada soluble en ácido fosfotúngstico al 5% p/v (PTASN)	92
IV.2.3. Determinación de aminoácidos libres (AAL)	92
IV.2.4. Determinación de ácidos grasos libres (AGL)	93
IV.3. Análisis estadístico	94
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	97

V.1. Influence of ripening on proteolysis and lipolysis of Murcia al Vino cheese	97
V.2. Effect of feeding goats with rosemary (<i>Rosmarinus officinalis</i> spp.) by-product on milk and cheese properties	99
V.3. Effect of feeding goats with distilled and non distilled thyme leaves (<i>Thymus zygis</i> subp gracilis) on milk and cheese properties	101
V.4. Influence of feeding goats with thyme and rosemary extracts on the physicochemical and sensory quality of cheese and pasteurized milk	103
VI. RESUMEN GLOBAL.....	107
VII. CONCLUSIONES.....	117
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	121

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1	14
Clasificación mundial de los productores de leche de cabra de 2008 hasta 2010	
FIGURA 2	63
Estructura química de los componentes antioxidantes más importantes en el romero	
FIGURA 3	78
Diagrama de flujo de la fabricación del Queso de Murcia al Vino	
FIGURA 4	85
Ficha de cata para análisis sensorial de Quesos de Murcia al Vino	

A	Alpha
B	Beta
%	Tanto por ciento
®	Nombre registrado
AC	Ante Cristo
µm	Micrómetro
D.O.P	Denominación de Origen Protegida
EM	Ésteres metílicos
G	Gramos
CG	Cromatografía de gases
Kg	Kilogramo
K	Kappa
L	Litro
Mg	Miligramo
mM	Milimolar
Mm	Milímetro
Pa	Pascales
QMV	Quesos de Murcia al Vino
N	Normalidad
Nm	Nanómetro
°C	Grados Celsius
R	Ratio
TM	Marca registrada
UE	Unión Europea
W	Vatio

Porque es cierto que junto a la dificultad hay facilidad (5) Sí, junto a la dificultad hay facilidad (6) Así pues, cuando hayas acabado, esfuérzate por más (7) y a tu Señor anhela (8).

El sagrado Corán, Surat 94: Ayat 5-8

I. INTRODUCCIÓN

La cabra ha sido el primer animal domestico explotado por el hombre, desde 10000 años AC en las montañas de Irán, permitiendo así el aprovechamiento de recursos naturales que, de otra forma, se habrían infrautilizado en amplias zonas de la geografía mundial. La gestión y aprovechamiento de los productos derivados de estos animales han solucionado las necesidades primarias de la población por su aportación de leche y carne en muchos países en vías desarrollo. El ganado caprino es capaz de alimentarse sólo con forrajes y se adapta fácilmente a los medios resticos donde no pueden explotarse el ganado ovino y bovino (Vacas Fernandez, 2003; Boyazoglu et al., 2005; Silanikove et al., 2010).

En los últimos años los productores de cabras han desarrollado una amplia gama de productos con excelente calidad nutricional vinculada a los sistemas naturales y sostenibles. En los últimos años el censo mundial caprino sigue creciendo y llegó en el año 2010 según las estadísticas de la FAO (2012) a 909.691.096 cabezas (Tabla 1) donde la mayor parte se concentra en Asia, ocupando la tercera posición la Unión Europea. En España el número de cabezas caprinas alcanzó en 2010 según la misma fuente 2.933.800 cabezas.

Tabla 1. Número de cabras de ganado caprino a nivel mundial

Países	2008	2009	2010
Europa	17893793	16491604	17068156
América	37507527	37469485	37443509
África	298317609	302810911	310890553
Asia	520470985	536390728	539365487
Océano	3618341	4905439	4923391
Todo el mundo	877808255	898068167	909691096
España	2959300	2264900	2933800
España/ mundo (%)	0,33%	0,25%	0,32%
España/Europa (%)	16,53%	13,73%	17,18%
Región de Murcia	190762	132256	113061

Fuente: FAO, 2012

La mayor parte de la producción caprina en España se orienta hacia la producción de leche, especialmente en tres regiones: Andalucía, las Islas Canarias y Castilla La Mancha, donde se concentran el 71,1% de las cabras lecheras del país (Martínez et al., 2011). Por otro lado, los productores de carne están distribuidos a lo largo de la zona central del país. De acuerdo con el Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino hay una gran diversidad de ecosistemas en España así como las diferentes razas de cabra (22 razas autóctonas en 2009) siendo las razas más importantes: la Murciano-Granadina, Florida, Papaya, Malagueña, Guadarrama, Verata y Canaria.

La Región de Murcia destaca por la explotación de la raza Murciano-Granadina (M-G) especialmente por su elevada producción láctea anual y por la excelente aptitud tecnológica de su leche para la producción de diferentes variedades de queso (López et al., 1999).

Esta raza se caracteriza por su alta especialización para la producción de leche y la gran capacidad de adaptación a los diversos climas y temperaturas, incluso aquellos más desfavorables con clima continental y elevada aridez, y también los diferentes sistemas de explotación (pastoreo y estabulación). Esta raza siempre ha ocupado un puesto destacado dentro de la ganadería caprina Española (Vacas Fernandez, 2003).

Esta cabra se localiza en el sureste de la península, gracias a la excelencia y la calidad de sus producciones (carne de cabrito, productos lácteos y los cueros caprinos) que determina una gran demanda en el mercado.

Tradicionalmente, los sistemas de producción caprina estuvieron centrados en la fabricación de queso en sus granjas. Sin embargo, estos sistemas han evolucionado como consecuencia de cambios sociales y legislativos, otra razón de este cambio fue la implementación de estrictas normas de salud que dificultó la producción del queso en escalas pequeñas y su comercialización, por lo tanto, la mayoría de los agricultores optó por vender la leche cruda entera a las fabricas especializadas en transformación de leche (Martínez *et al.*, 2011).

La producción mundial de leche de cabra se ha incrementado en los últimos años, especialmente en los países desarrollados (Tabla 2).

Según los registros disponibles de la FAO (2012) en 2008, 2009 y 2010 España ocupaba la séptima posición Mundial (Figura 1), después de Francia en relación a la producción de leche de cabra fresca. En general, los ganaderos caprinos de la UE están más especializados en la producción de leche los de países en desarrollo, especialmente en Francia, Grecia y España, donde la producción anual de leche de cabra es 583, 511, y 423 millones L, respectivamente, que representa el 83% de la leche de cabra producida en la UE (Martínez *et al.*, 2011).

Tabla 2. Producción de leche de cabra (Tn)

Países	2008	2009	2010
Europa	2484589	2525212	2614104
América	565676	564678	588748
África	3693071	3787010	4095536
Asia	9423495	9577037	10075880
Océano	42	43	42
Todo el mundo	16166873	16453980	17374310
España	491000	515000	602000
España/ mundo (%)	3,04%	3,13%	3,46%
España/Europa (%)	19,76%	20,39%	23,03%
Región de Murcia	3028,95	2701,91	2644,86

Fuente: FAO, 2012

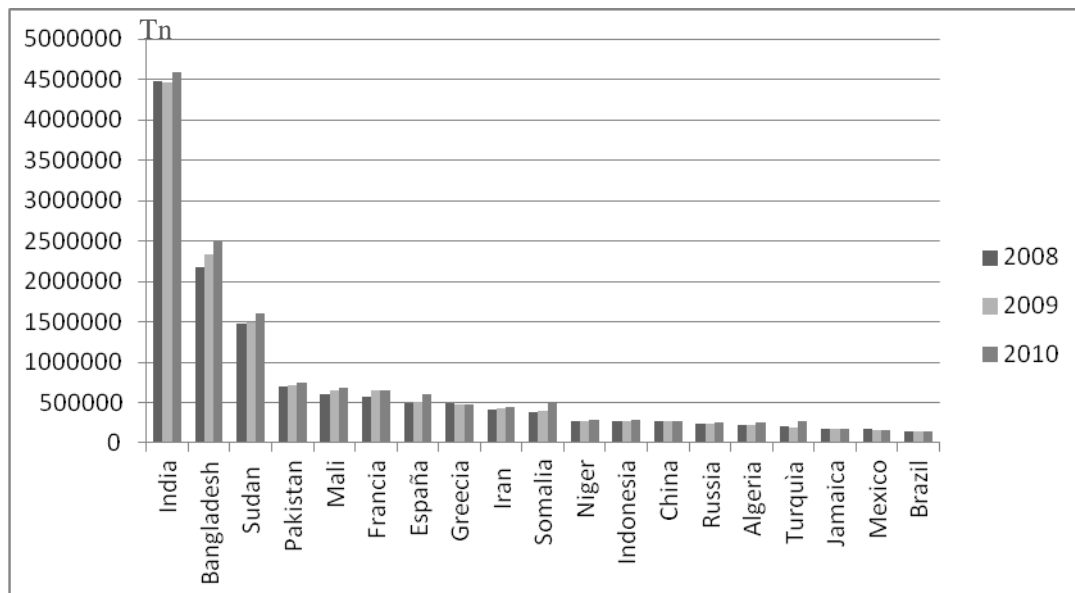


Figura 1. Clasificación mundial de la producción de leche de cabra durante 2008-2010

Fuente: FAO, 2012

De los países Europeos, sólo Francia y España han aumentado su producción en los últimos 10 años (23,5% y 15,8%, respectivamente), debido a la alta productividad de sus cabras (Boyazoglu *et al.*, 2005), y en España en particular, debido a las mejoras en la gestión agrícola y la tecnología (Martínez *et al.*, 2011).

Este aumento de la producción de leche derivó a un incremento en la producción de quesos para el aprovechamiento de dicha materia prima. De acuerdo con los datos publicados por la FAO (2012), en el año 2008, la producción de queso de cabra en España fue de 41500 toneladas, aumentando a 43000 en 2010. Además, según Sanchez-Villegas *et al.* (2003), desde 1990, el consumo de queso en España se ha elevado en más de 500 g por persona por año. Dichos autores también afirman que de este incremento se han beneficiado principalmente los quesos de oveja y de cabra, en especial los semicurados y curados.

Además de este aumento debido a la incorporación de nuevos mercados y usos para la leche de cabra se persiguen también, el empleo de la leche de cabra como base para alimentos medicinales e infantiles. Con el creciente interés en los productos lácteos de cabra en todo el mundo, es imperativo que la calidad y la seguridad de la leche de cabra se optimiza para asegurar la confianza del consumidor (Silanikove *et al.*, 2010).

Es importante, destacar los nuevos hábitos alimentarios para el consumo de queso en Japón, que asociado a los incrementos demográficos de los países del Oriente Medio han producido una mayor demanda al queso. Así, las importaciones de queso a Kuwait, Irán, Arabia saudí y Egipto se han incrementado muy rápidamente durante los últimos 20 años, debido a que, por las condiciones climáticas, la producción de leche y por tanto de queso, es baja.

Leche de cabra y sus productos derivados son fuentes importantes de la nutrición y el bienestar económico de la humanidad en muchas partes del mundo. La producción de leche de cabra es muy importante en los países en desarrollo. Además, los productos lácteos de cabra tales como leche fluida, quesos y yogur

también se valoran los países desarrollados debido a la vinculación de la leche de cabra con valores nutricionales y terapéuticos muy importantes para la nutrición humana y la salud (Haenlein, 2004, Silanikove *et al.*, 2010; Sanz Sampelayo *et al.*, 2007).

En comparación con leche de vaca o humana, la leche de cabra posee unas propiedades biológicamente interesantes, tales como alta digestibilidad, alcalinidad, alta capacidad tampón, así como ciertos valores terapéuticos en la medicina y la nutrición humana (Park *et al.*, 2007). Las ventajas nutricionales de la leche de cabra sobre la leche de vaca no provienen de las diferencias en sus proteínas o minerales, sino de los lípidos, más específicamente los ácidos grasos (Haenlein, 2004), que hacen que la grasa sea más susceptible a la lipólisis y por lo tanto al desarrollo de aromas típicos, asociados con la presencia de ácidos grasos volátiles en los quesos (Partidario, 1999). La grasa de leche de cabra es rica en ácidos grasos de cadena media y corta (C_{4:0}-C_{12:0}), siendo su digestión más rápida que de vaca, debido a que las lipasas actúan más fácilmente sobre las uniones éster de estos ácidos grasos que los de cadena larga (Partidario, 1999). Los ácidos cáprico y caprílico tienen un gran interés desde el punto de vista terapéutico, debido a su aplicación en determinadas enfermedades metabólicas tales como: síndrome de mala absorción, hiperlipoproteinemia, mal nutrición infantil, etc. (Sanz Sampelayo *et al.*, 2007).

En comparación a la leche de vaca, la leche de cabra presenta mayor digestibilidad que la de vaca debido a ciertos aspectos relativos a la grasa, principalmente al menor tamaño de los glóbulos grasos de la leche de cabra que proporciona una emulsión fina y más uniforme en relación con la de vaca según al publicado por Park *et al.* (2007); Jandal (1996) y Sanz Sampelayo *et al.* (2007).

La leche de cabra tiene un nivel más alto (de 6 de los 10) de aminoácidos esenciales: treonina, isoleucina, lisina, cistina, valina y tirosina, que la leche de vaca (Haenlein, 2004). La alergia alimentaria más frecuente, especialmente en los niños, es la debida al consumo de leche de vaca (Skripak *et al.*, 2007). De acuerdo con los mismos autores, la alergenicidad de la leche de vaca se relaciona con

niveles elevados de IgE, siendo las CNs y la β -lactoglobulina las más alérgicas. La β -lactoglobulina es la proteína del suero mayoritaria en la leche de vaca y no se encuentra en la leche humana, siendo la principal responsable en los estados alérgicos generados por la leche de vaca (Park, 1994). Los síntomas normalmente se desarrollan entre la segunda y cuarta semanas de edad, y casi siempre dentro los primeros seis meses de vida (Bidat *et al.*, 2003). La sintomatología clínica que desarrollan estos pacientes incluye: rinitis, diarrea, vómitos, asma, anafilaxis, urticaria, eczemas, catarro, migrañas, colitis y dolores epigástricos. La leche de cabra en estos casos es una alternativa válida para asegurar un aporte proteico y mineral libre de riesgos (Taitz y Armitage, 1984) a pesar que algunas proteínas de la leche de cabra tienen inmuno reactividad cruzada con las de la leche de vaca de acuerdo con lo publicado por Park (1994).

En ensayos clínicos franceses con los niños alérgicos a la leche de vaca, el 93% de los niños tratados con leche de cabra ha producido resultados positivos, y se recomendó el empleo de la leche de cabra en la nutrición infantil, debido a su hipoalergenidad y mejor digestibilidad en comparación con la leche de vaca (Haenlin, 2004).

La mayoría de los seres humanos sufren una pérdida gradual de la enzima intestinal lactasa a partir de la infancia y por tanto su capacidad para digerir lactosa en el intestino (Skripak *et al.*, 2007) y niveles inferiores de lactasa intestinal, pueden asociarse con intolerancia a la leche (Sanz Sampelayo *et al.*, 2003). Como resultado de la ingestión de leche de vaca, aquellos individuos que exhiben intolerancia a la lactosa desarrollan inflamación abdominal con dolores y diarreas. Esta sintomatología a menudo, se confunde con síntomas comunes que están asociados a la alergia originada por el consumo de leche de vaca. La mayor tolerancia a la lactosa en personas consumidoras de leche de cabra parece estar asociada a una mejor digestibilidad de esta leche frente a la de vaca según argumentan Sanz Sampelayo *et al.* (2003).

Finalmente, uno de los factores más decisivos en el crecimiento de la producción y consumo de leche de cabra y sus elaborados en todo el mundo, es la imagen saludable creciente que perciben los consumidores a la hora de elegir este

tipo de alimento (Guo *et al.*, 1998). Sin embargo, la leche de cabra en España como en países desarrollados se destina casi la totalidad a la producción de queso (Martínez *et al.*, 2011).

Según la Orden de 29 de Noviembre de 1985, por la que se aprueban las normas de calidad para quesos y quesos fundidos destinados al mercado interior (BOE N° 292, 1985) se define el queso como “el producto blando, semiduro, duro y extra duro, madurado o no madurado, y que puede estar recubierto, en el que la proporción entre las proteínas de suero y la caseína no sea superior a la de la leche, obtenido mediante coagulación total o parcial de la proteína de la leche, leche desnatada/descremada, leche parcialmente desnatada/descremada, nata (crema), nata de suero o leche de mantequilla/manteca, o de cualquier combinación de estos materiales, por acción del cuajo u otros coagulantes idóneos y por escurrimiento parcial del suero que se desprende como consecuencia de dicha coagulación, respetando el principio de que la elaboración del queso resulta en una concentración de proteína láctea (especialmente la porción de caseína) y que consecuentemente, el contenido de proteína del queso deberá ser evidentemente más alto que el nivel de proteína de la mezcla de los materiales lácteos ya mencionados en base a la cual se elaboró el queso”.

Un gran número de variedades de quesos de leche de cabra se producen en todo el mundo, en función de las diferentes tecnologías queseras propias de cada lugar, y la composición de cada leche (Park, 2001). Martínez *et al.* (2011) describe que hay más de 800 variedades de queso de leche de cabra o de mezcla. La producción mundial de queso de cabra sigue ha ido incrementando y alcanzó en 2010 492.726 toneladas y en España en el mismo año la producción fue de 43000 toneladas (Tabla 3).

Tabla 3. Producción de queso de cabra en toneladas

Países	2008	2009	2010
Europa	198369	197575	197657
América	21152	20477	23980
África	143075	144068	147021
Asia	107824	112298	26565
Océano	-	-	-
Todo el Mundo	477620	481247	492726
España	41500	43000	43000
España/ mundo (%)	8,69	8,69	8,73
España/Europa (%)	20,92	20,92	21,75
Región de Murcia	388,08	345,47	335,24

Fuente: FAO, 2012

En España hay más de 35 quesos de la leche de cabra (mezcla o solo cabra) y 6 de ellos llevan la Denominación de Origen Protegida (Tabla 4).

Tabla 4. Quesos de cabra de D.O.P elaborados en España en 2011

Queso	Región	Leche utilizada	La raza caprina	Tipo de coagulación	Maduración
Camerano P.D.O	La rioja	Cabra	Serrana o montesa	-	Fresco y Curado
Ibores P.D.O	Extremadura	Cabra	Verata,Serrana, Retinta	-	Curado
Majorero P.D.O	Islas de canarias	Cabra	Majorera	-	Fresco y curado
Murcia P.D.O	Murcia	Cabra	Murciano-Granadina	Enzimática	Fresco y curado
Murcia al Vino P.D.O	Murcia	Cabra	Murciano-Granadina	Enzimática	Semicurado
Palmero P.D.O	Islas de Canarias	Cabra	Palmera	Enzimática	Fresco y curado

Fuente: Martínez *et al.*, 2011

A mediados del siglo XIX, la explotación del ganado caprino supuso una fuente importante de beneficios para los campesinos murcianos debido al uso y aprovechamiento de la cabra en aquella época: leche, carne, piel y estiércol, localizándose preferentemente en las montañas de Caravaca (para la producción de carne) y en los valles del Guadalentín y alto Segura (para la producción de leche). Mientras que a finales de dicho siglo y a medida que aumentaba la población, se inicia un proceso de especialización lechera de la cabra, que tiene su mayor amplitud en torno a las principales ciudades de la región: en las huertas de Murcia y Lorca, en el campo de Cartagena y en la comarca vitivinícola del Altiplano. Finalmente en las primeras décadas del siglo XX, el crecimiento demográfico y de renta provocó en España un aumento del consumo de leche, abastecido por la vaca en el norte y por la cabra en el sur (Consejo Regulador de los Quesos de Murcia y Murcia al Vino, 2007).

En la Región de Murcia, existen dos quesos de cabra bajo la Denominación de Origen Protegida: “Queso de Murcia” y “Queso de Murcia al Vino”. Una Denominación de Origen Protegida es una figura de protección comunitaria que se aplica a los productos agrícolas y alimentarios (ICEX, 2004) y que diferencia al producto por el origen de la materia prima utilizada para su fabricación, por el método de elaboración empleado, las características exclusivas o específicas, etc.

El paso inicial en la fabricación de la mayoría de los quesos es la coagulación de la caseína, inducida mediante la acción combinada de enzimas proteolíticas y fermentos lácticos. Este proceso se divide fundamentalmente en dos fases: la fase primaria o enzimática y la fase secundaria o de agregación, aunque algunos autores incluyen como una tercera fase la sinéresis o expulsión de lactosuero, así como la conformación estructural de la red proteica.

El Queso de Murcia al Vino (QMV) se define como un queso graso, de pasta prensada, lavada y no cocida, elaborado a partir de leche de cabra de la raza Murciano-Granadina (M-G), que se comercializa a partir de los 45 días después de su elaboración y de 30 días en las piezas pequeñas. Su corteza es lisa, sin grabados, muy ligera y está lavada con vino tinto de doble pasta, que le confiere un color granate-rojizo característico, su sabor es agradablemente ácido, poco salado y su aroma suave. El Consejo Regulador de los Quesos de Murcia al Vino determina un contenido de extracto seco (ES) mínimo de 55% y un contenido graso mínimo de 45% sobre el ES, las proteínas un mínimo del 32% sobre el ES, con un pH mínimo de 5 a partir de la salida de la salmuera, el QMV se ha convertido en el segundo queso más exportado de España, siendo Estados Unidos es el principal país importador de este queso (181.063 kg, 61.32%) en el año 2010 (Consejo Regulador de los D.O.P de Quesos de Murcia y Murcia al Vino, 2010).

II. OBJETIVO

El objetivo de la presente tesis es valorar el efecto de la suplementación de la alimentación de cabras Murciano-Granadina con sub-productos del romero y tomillo en la calidad de la leche y Queso de Murcia al Vino, así como la influencia de la maduración y el establecimiento elaborador en el mismo. Para la consecución de este objetivo es necesario alcanzar los siguientes objetivos secundarios:

1. Influencia de la maduración en el perfil físico-químico, proteolítico y lipolítico del Queso de Murcia al Vino. Influencia del establecimiento elaborador.
2. Estudio del efecto de la suplementación de la dieta de cabras M-G con hojas de romero destiladas en la calidad fisicoquímica y tecnológica de la leche así como en los parámetros físico-químicos y propiedades sensoriales del Queso de Murcia al Vino elaborado.
3. Estudio del efecto de la suplementación de la dieta de cabras M-G con hojas de tomillo destiladas o sin destilar en la calidad fisicoquímica y tecnológica de la leche así como los parámetros físico-químicos, perfil de textura y propiedades sensoriales del Queso de Murcia al Vino elaborado.

III. ANTECEDENTES

III. 1. Aprovechamiento de los subproductos de la industria agro-alimentaria en la alimentación animal

La nutrición animal tiene un papel determinante en la calidad de los productos derivados, al mismo tiempo que los costes de la alimentación ejercen un efecto marcado (la alimentación en el ganadero lácteo representa entre el 50 al 90% del coste total de la leche producida en la Unión Europea) en la tasa total de la producción (Morand-Fehr *et al.*, 2007; Abbeddou *et al.*, 2011). La alimentación de rumiantes en régimen de producción intensiva o semi-intensiva se caracteriza por su dependencia de una mezcla de cereales y alimentos proteicos, materias primas que pueden competir con el consumo humano, donde el aumento de los precios de estos cereales afecta negativamente a la producción del ganado. La mayoría de los agricultores, particularmente los ubicados en zonas marginales o rurales, no pueden subsistir con estos elevados costos, para hacer frente a este problema, es necesario la adopción de nuevas estrategias cuyo objetivo sea la introducción a los sistemas de producción, de nuevas materias primas para obtener dietas más económicas (Boucqué y Fiems, 1988; Vasta *et al.*, 2008; Abbeddou *et al.*, 2011).

Por otro lado la industria de producción y procesamiento de alimentos es la actividad más importante de la industria europea, alcanzando un 16% (según las estadísticas de la FAO, 2012) de la facturación total, con un valor que supera los 956.200 millones de euros. En la actualidad cuenta con 274.000 empresas en la UE-27.

La industria alimentaria española ocupa el quinto puesto y representa el 48,7% del total de la producción del país (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, MAGRAMA, 2012). Estas industrias se caracterizan por la variedad de materias primas y productos finales que elaboran, así como por la capacidad para generar diferentes subproductos o residuos de naturaleza orgánica y biodegradables, que a veces pueden alcanzar un porcentaje del 86% del peso de la materia prima recibida. La Tabla 5 recoge los subproductos o residuos de algunas de las principales materia primas utilizadas en alimentación animal.

Tabla 5. Porcentaje de residuos o subproductos de la industria alimentaria

Materias primas	Mínimo (%)	Máximo (%)
Azúcar (caña)	86	86
Queso	80	90
Patata	80	80
Pescado ahumado	50	75
Crustáceos	50	60
Trigo	50	50
Maíz	41	43
Aceites vegetales	40	70
Conservas de pescado	30	65
Zumo de frutas y vegetales	20	60
Moluscos	20	50
Vino blanco	20	30
Vino tinto	20	30
Conservas de frutas y vegetales	5	30
Yogur	2	6

Fuente: Ben Salem y Nefzaoui, 2003; Fava *et al.*, 2013

Estos subproductos, necesitan un tratamiento específico para su eliminación, que obliga a las empresas a la adopción de estrategias medioambientales encaminadas a la

regeneración, reciclaje o valoración de los residuos o subproductos, siendo uno de los sistemas de aprovechamiento su inclusión en alimentación animal. La Unión Europea estima que más de 85 millones de toneladas de estos subproductos se destinan a la alimentación animal, cumpliendo la legislación que regula la producción de piensos y la alimentación animal. De estos, 60 millones de toneladas se destinan para la fabricación de piensos y 25 millones se utilizan directamente para la alimentación animal (MAGRAMA, 2012).

Esta estrategia según Grasser *et al.* (1995) tiene muchas ventajas, ya que constituye una fuente más económica de nutrientes para la alimentación animal, debido a la capacidad que tienen los rumiantes para digerir elaborados ricos en fibra. Por otra parte, de este modo se alivia la dependencia de los ganaderos de los cereales y elimina la necesidad de costosos programas de gestión de residuos, mientras que la venta de los subproductos también puede generar ingresos adicionales a los productores. Por lo tanto, es interesante centrar los recursos alimentarios en la búsqueda de materias primas alternativas a los granos, tales como subproductos de las industrias alimentarias (Vasta *et al.*, 2008; Jaramillo *et al.*, 2010).

La composición química y el valor energético de los subproductos de la industria alimentaria dependen de cada materia prima procesada. En la Tabla 6 se detalla la composición química y los valores energéticos de algunos subproductos usados en la alimentación animal.

Tabla 6. Composición química de algunos subproductos usados en alimentación animal

Materias primas	Ratio de subproducto/ producto	Materia seca (g.kg ⁻¹)	Proteína (g.kg ⁻¹)	Fibra (g.kg ⁻¹)	Calcio (g.kg ⁻¹)	Fosforo (g.kg ⁻¹)	Energía metabolizable (Mcal.kg ⁻¹)	Proteína digestible (%)
Pulpas de naranja	-	880	85	100	7,1	1,1	10,6	-
Semilla de algodón	-	930	249	180	1,5	7,3	-	-
Pulpas de cítricos	0,40-0,60	155	67	148	12,6	1,1	3,11	611
Malta	-	913	260	169	4,6	1,9	2,66	705
Orujo de uvas	0,06-0,94	422	109	325	4,7	2,4	1,08	0
Melazas	-	761	56	0	7,5	0,5	2,46	25
Tarta de olivas	0,37-0,63	876	66	412	5,6	0,9	1,23	0
Tarta de olivas (extracción con solventes)	0,29-0,71	834	82	407	7,9	0,9	-	-
Residuos de sésamo	1,00-2,00	920	457	63	21,1	12,9	3,28	90
Pulpa de remolacha azucarera	0,25-0,75	889	98	206	13,0	1,0	2,73	54
Pulpas de tomate	0,07-0,93	270	189	423	4,0	5,5	1,85	75

Tabla 6. (Continuación)

Materias primas	Ratio de subproducto/ producto	Materia seca (g.kg ⁻¹)	Proteína (g.kg ⁻¹)	Fibra (g.kg ⁻¹)	Calcio (g.kg ⁻¹)	Fosforo (g.kg ⁻¹)	Energía metabolizable (Mcal.kg ⁻¹)	Proteína digestible (%)
Residuos de dátiles de palma	-	876	32	-	-	-	-	-
Paja de trigo	-	877	167	118	1,7	10,4	2,43	72
Paja para piensos	-	864	160	66	1,2	7,4	3,19	82
Harina de pescado	-	90-93	40-70	-	2,5-8,5	1,8-4	2,7-3,7	-
Tarta de maní	-	93	52	-	-	-	3,2	-
Cascara de arroz	-	92	3,3	-	0,1	0,08	0,1	-
Caña de azúcar	-	15	7,6	-	-	-	2,27	-
Tubérculos o raíces	-	12-23	9-12	-	0,2-0,4	0,2-0,4	3,1-3,3	-

Fuente: Mirzaei-Aghsaghali y Maheri-Sis, 2008; Ben Salem y Nefzaoui, 2003

Algunos subproductos, por lo general, tienen un alto valor energético o elevado contenido proteico, por lo que pueden constituir alternativas competitivas a las fuentes de energía o proteína más tradicionales empleadas en la alimentación animal (Westendorf, 2000). Durante los últimos años, el estudio del valor nutritivo de los subproductos o residuos agro-industriales ha sido uno de los principales campos de investigación en la nutrición de rumiantes, particularmente en los países tropicales. Referencias bibliográficas consultadas demuestran que los residuos agro-industriales pueden reemplazar alimentos concentrados en las dietas de animales, sin afectar a las características del producto final (leche, queso, yogur, carne y productos cárnicos) con mejores resultados económicos (Morand Fehr, 2005; Fava *et al.*, 2013).

Los subproductos se pueden clasificar en base de su valor nutricional (Ørskov, 1980), a la humedad y el contenido de materia orgánica fermentable (Preston, 1981) o su origen (Boucqué y Fiems, 1988).

III. 1. 1. Subproductos de origen vegetal

El procesamiento de frutas y cereales ha aumentado considerablemente durante los últimos 25 años, derivado de los estudios epidemiológicos que han asociado el aumento del consumo de frutas, fibras y cereales en la dieta con una disminución de la mortalidad, del cáncer o enfermedades cardiovasculares (Fava *et al.*, 2013). Este aumento de la producción genera grandes volúmenes de residuos y subproductos (entre 20 y 60%, p/p de la fruta y cereales procesada), con altos costes de eliminación. Los subproductos y residuos del procesamiento de frutas, verduras y cereales son típicamente ricos en proteínas, azúcares, lípidos además de compuestos fenólicos, por lo tanto son fuentes importantes de nutrientes (Vasta *et al.*, 2008).

La producción mundial de cítricos alcanzó casi 90 millones de toneladas en la campaña 2011-12. Brasil sigue siendo el principal productor de cítricos con 20 millones de toneladas, principalmente naranjas, seguido por Estados Unidos, con cerca de 11 millones toneladas, siendo la zona del Mediterráneo la tercera productora del mundo, con 10 millones de toneladas. Alrededor de un tercio de la

producción mundial de cítricos se destina al procesamiento (alrededor de 27 millones de toneladas en la campaña 2011-12) y más del 80% se destina a la producción de zumos, por lo que los residuos derivados de su procesado están constituidos principalmente por cáscaras, que son casi la cuarta parte de toda la masa de frutas, semillas y pulpas de fruta restante después de la extracción del zumo y aceites esenciales, que corresponde aproximadamente al 50-60% de la masa original procesada. La eliminación de estos residuos está convirtiéndose en un problema importante para muchas industrias del ramo (FAO, 2012).

En los últimos años, el uso de los subproductos de cítricos en la alimentación animal se aplicó como una estrategia para reducir los costes de alimentación y también para hacer frente al reciclado de materiales de desecho, con coste de eliminación elevado (Bampidis y Robinson, 2006). Estos autores señalan que los subproductos de cítricos son generalmente bien aceptados por la mayoría de los rumiantes y no modifica la digestibilidad en el rumen, además de ser altamente biodegradables.

Las semillas, pulpas y cáscaras de frutas que quedan como residuos después de la extracción de zumos y aceites esenciales, se han utilizado durante mucho tiempo en la alimentación animal. Las formas de su inclusión en la dieta de animales son varias, como la pulpa fresca de cítricos, ensilaje de cítricos, pulpa de cítricos deshidratada, harina de cítricos y melaza de cítricos. Sin embargo, las cáscaras poseen una gran variedad de compuestos bioactivos que podrían ser considerados como fuentes potenciales de componentes con un valor añadido a las dietas (Bath *et al.*, 1980; Grasser *et al.*, 1995; Fava *et al.*, 2013).

Las fibras de cítricos se consideran como de mayor calidad que los de cereales debido a su mejor equilibrio en el contenido de fibra dietética soluble e insoluble y otra ventaja adicional de estas fibras es su contenido en compuestos bioactivos (flavonoides y vitamina C) con propiedades antioxidantes, que pueden ejercer un rol importante en la salud del animal. El potencial antioxidante del limón es el más elevado de las frutas cítricas, siendo su fibra es la más adecuada para la prevención de enfermedades cardiovasculares (Gorinstein *et al.*, 2001).

La pulpa de cítricos fresca se caracteriza por su alto contenido en agua (842 g.kg^{-1}), contenido de azúcar ($487 \pm 85 \text{ g.kg}^{-1} \text{ MS}$) y pectinas ($195 \pm 54 \text{ g.kg}^{-1} \text{ MS}$) así como por su facilidad de degradación en el rumen (Piquer *et al.*, 2009). Su inclusión en la alimentación de ovejas fue realizada por Todaro *et al.* (2004) que incluyen residuos de limón humedecidos en la dieta de ovejas de la raza Valle del Belice. Las ovejas suplementadas aumentaron su rendimiento lechero ($0,89 \text{ kg.día}^{-1}$ frente a $0,72 \text{ kg.día}^{-1}$) y aunque se observó una disminución del contenido proteico de leche ($52,6 \text{ g.L}^{-1}$ frente a $55,7 \text{ g.L}^{-1}$), no se modificó el contenido de grasa de la misma. Jaramillo *et al.* (2009) estudiaron la influencia de la inclusión de subproductos de cítricos a la dieta de ovejas, sobre las características de leche y los cambios bioquímicos durante la maduración de los quesos elaborados. Para la realización de este estudio se planteó la sustitución de diferentes porcentajes de cebada y pulpas de remolacha por subproductos de cítricos. Los autores determinaron que los parámetros de coagulación de la leche y el rendimiento quesero no se modifican con esta suplementación. No obstante, se observaron diferencias estadísticamente significativas a los 60 días en el contenido de sólidos totales en quesos procedente de leche de cabras cuya dieta que incluía un 30% de subproductos de cítricos. La proteólisis de los quesos elaborados, determinados en base al contenido de aminoácidos libres no se modifica con la suplementación. Por otro lado, si se observa un incremento en el contenido de ácidos grasos libres de cadena media y larga. Como conclusión, los autores confirman que la inclusión de subproductos de cítricos a la dieta de ovejas lactantes hasta niveles del 30% no afecta negativamente las propiedades de la leche ni a las características bioquímicas y sensoriales de los quesos.

A pesar del uso frecuente de los subproductos de cítricos frescos, su manipulación siempre es complicada (dificultad de transporte, alto contenido de agua y vida útil corta), por lo que es necesario desarrollar estrategias encaminadas a reducir el contenido de agua en los residuos así como facilitar su inclusión en la mezcla de raciones en la dieta de animales. En uno de los trabajos realizados en este sentido, Fegeros *et al.* en 1995 investigaron la inclusión de pulpas de cítricos secas con una concentración aproximadamente de 110 g.kg^{-1} de materia seca en la

dieta, como sustitución de harina de soja en ovejas lecheras, no influyendo su inclusión en el rendimiento lechero ni la concentración de grasa, proteína y lactosa de la leche, pero si se observaron modificaciones en el perfil de ácidos grasos totales. Belibasakis y Tsirgogianni (1996) reemplazan granos y ensilaje de maíz de las dietas de vacas lecheras con 20 y 30% de pulpas de cítricos secas, concluyendo que la suplementación de la dieta de vacas con pulpas de cítricos no afecta el rendimiento, el contenido de proteínas, lactosa y sólidos totales de leche, mientras que el contenido graso se incrementa. Otros investigadores, Rojas-Bourrillón *et al.* (2001), estudiaron el efecto de la sustitución del maíz de la dieta de vacas lecheras con pulpas de cítricos secas a diferentes porcentajes, determinándose un incremento significativo de la grasa, con una concentración de pulpa del 30% así como un aumento de sólidos totales y proteínas.

Con el objetivo de mejorar el valor nutricional y la degradabilidad de los subproductos de cítricos Volanis *et al.* (2004) estudian el empleo de subproductos de naranjas en un ensilaje de cítricos y su utilización en la dieta de ovejas sustituyendo el maíz (concentración de 400 g.kg⁻¹ de materia seca de la dieta). Así demostraron que la inclusión del ensilado de naranjas disminuye el rendimiento lechero y la concentración de proteína pero incrementa la concentración de grasa en la leche.

Los residuos de la industria cítrica, actualmente son ampliamente utilizados en alimentación animal, ya sea fresco ó seco, de las referencias consultadas sobre su aplicación en alimentación de rumiantes se concluye que el uso de estos subproductos constituye una estrategia que minimiza la contaminación medioambiental al mismo tiempo que disminuirá el coste de la alimentación del ganado, los subproductos de cítricos frescos se consumen fácilmente por el ganado lechero, pero tienen problemas de transporte, almacenamiento y manipulación. En efecto, la pulpa de cítricos frescos es generalmente transportada sólo a distancias cortas debido a su alto contenido de humedad y los elevados costes de transporte, por lo que debe ser utilizada rápidamente por su alto contenido de azúcares que favorecen la fermentación secundaria y/o crecimiento de moho. Además, su naturaleza húmeda y pegajosa

dificulta su almacenamiento en cobertizos, depósitos o silos. Otro inconveniente del uso de los subproductos de cítricos en la nutrición animal es el desequilibrio en el contenido en Ca:P, que puede provocar una mayor incidencia de fiebre láctea en vacas lecheras en o poco después del parto. Algunos informes han indicado que la alimentación con altas cantidades de pulpa de cítricos pueden aumentar el riesgo de la acidosis láctica en vacas lecheras. Las diferencias en el contenido de fibras neutras entre los cereales y subproductos de cítricos pueden provocar cambios relevantes en las características de la degradación ruminal. De hecho, se han realizado numerosos estudios con objeto de determinar el efecto de la degradación de los carbohidratos en dieta que incluye subproductos de cítricos, ya que estos subproductos tienen un gran impacto en la función del rumen y la productividad de los animales (Ben-Ghedalia *et al.*, 1989; Ariza *et al.*, 2001; Guedes y Dias da Silva, 2005; Villarreal *et al.*, 2006; Piquer *et al.*, 2009).

La descomposición no controlada de los residuos de origen agro-industrial da lugar a la contaminación medioambiental provocando problemas potencialmente graves. La industria de extracción de aceite de oliva produce una variedad de productos secundarios, que se han estudiado como ingrediente de piensos de rumiantes (Cannas y Dattilo, 1991). La torta de oliva se caracteriza por su alta concentración de agua residual (25-30%) y un elevado porcentaje de fibra cruda (27-41%) con predominio de lignina, además de importante porcentaje de aceite, que alcanza un 18-25% en la torta cruda, representando un suplemento energético válido e interesante por su alto nivel de ácido oleico para la alimentación humana por sus efectos beneficiosos sobre el colesterol sanguíneo y otras evidencias relacionadas con la salud humana (Chiofalo *et al.*, 2004). Además, y teniendo en cuenta las características de los ácidos grasos vegetales, la administración de subproductos del aceite de oliva en la dieta de los rumiantes es importante para limitar los efectos negativos sobre la fermentación ruminal (Devendra y Lewis, 1974; Hansen y Cheong, 2007), estudios realizados por Yáñez-Ruiz *et al.* (2004), indican que el ganado caprino puede estar mejor adaptado, desde el punto de vista digestivo, al uso de dietas que incluyen orujos de aceituna.

La presencia de estos subproductos en la dieta de animales fue revisada por varios investigadores como Giozelgiannis *et al.* (1978) que no determinaron diferencias significativas en la ganancia de peso ni en la calidad de la carne de la canal entre corderos alimentados con una dieta control y otros con dieta sustituida por 0,15-0,25 kg del orujo bruto de olivas. Además Al-Jassim *et al.* (1997) que utilizaron orujo tratado con urea (50 g de urea.kg⁻¹ materia seca) como alternativa a la cebada (200 g.kg⁻¹) en dietas de corderos de engorde no obtuvieron ninguna diferencia en la ganancia de peso vivo. Hadjipanayiotou (1999) demostró la ventaja práctica de utilizar ensilado de orujo bruto en dietas para ovejas Chios, cabras Damasco y vacas Frisona. En las tres especies, la sustitución parcial de la fibra convencional (heno y paja de cebada) por ensilado de orujo no afectó a la producción de leche. Chiofalo *et al.* (2004) estudiaron el efecto de la administración de la torta de olivas en combinación con vitamina E en la dieta de ovejas sobre el rendimiento y la composición de leche. La administración de la torta de olivas con la vitamina E aumenta significativamente la producción de leche con una disminución del contenido proteico y de caseínas de la leche, concluyeron además que el tiempo de coagulación y las células somáticas disminuyen significativamente en leches suplementadas. En relación con los ácidos grasos totales saturados el contenido más elevado se determina en la leche control y los monoinsaturados y poliinsaturados fueron similares en los diferentes grupos. Los resultados obtenidos por estos autores demuestran la posibilidad de administrar torta de olivas en la alimentación de ovejas, ya que mejora la composición química y las propiedades de coagulación de la leche, además mejorar las características dietético-nutricionales justificadas por el incremento de la proporción de ácidos grasos insaturados/saturados y la disminución de la aterogénicidad y de los índices trombogénicos. Lo anteriormente mencionado proporciona soluciones a los ganaderos debido a la influencia positiva en la producción de leche sin afectar la composición química y las propiedades de coagulación de la leche.

Otros subproductos de la industria de extracción de aceite de oliva son las hojas que representan un porcentaje del 5% del peso de las aceitunas recogidas.

Su inclusión en la dieta de animales todavía es limitada, Fegeros *et al.* (1995) compararon el efecto de la inclusión de hoja de olivo tratada con amoníaco como alternativa al empleo de heno de alfalfa y no determinaron diferencias en el rendimiento lechero, aunque se observó un aumento de las concentraciones del ácido oleico y linoleico de leches suplementadas en comparación con la leche del grupo control. La digestibilidad de las hojas de olivo es baja, se reduce con la desecación y se mejora con algunos tratamientos tales como el tratamiento con amoníaco o con polietilenglicol (Yáñez-Ruiz y Molina-Alcaide, 2008).

Otra forma de aprovechar los residuos de la industria de extracción de aceite de oliva, según describen Aguilera *et al.* (1991) es la utilización de melazas de olivas para sustituir una parte de la harina de girasol y grano de cebada, en la dieta de ovejas al final del embarazo y lactancia. Las leches resultantes de ambos grupos fueron similares, mientras que el rendimiento en canal fue más alto para los corderos de engorde alimentados con estos subproductos del olivar.

Otros derivados de la industria de extracción de aceites que pueden ser utilizados como fuentes de nutrientes y, para reemplazar los granos en las dietas de muchos animales es el caso de las semillas de lino. Nudda *et al.* (2006) estudiaron el efecto de la administración del pastel de semilla de lino como suplemento en la dieta de cabras para valorar el efecto en las concentraciones de ácido linoleico conjugado (CLA) y ácido vaccénico (AV) en la grasa de leche. El diseño experimental de este trabajo se efectúa empleando treinta cabras lecheras divididas en tres grupos. El porcentaje de grasa y el rendimiento de leche no se modificó en las dietas suplementadas, pero la composición de ácidos grasos se modificó significativamente en aquellos leches procedentes de animales suplementados con torta de semillas del lino. La inclusión de estas tortas en la dieta no alteró la concentración de ácidos grasos de C_{6:0} a C_{12:0}, pero sí modificó de forma significativa las concentraciones del C_{14:0} y C_{16:0} con una disminución de sus concentraciones en la grasa de leche procedentes de cabras suplementadas con una alta concentración de la torta del lino y se acompaña un incremento en las concentraciones del ácido vaccénico y cis-9, trans-11 CLA y C_{18:3 n-3}. Estos autores confirman la posibilidad de la administración de subproductos de semillas

de lino en la dieta de cabras para reducir la concentración de ácidos grasos saturados responsables de enfermedades cardiovasculares y aumentar el contenido de ácidos grasos insaturados, con efecto beneficio para la salud. Józwick *et al.* (2010) demostraron modificaciones en el perfil de ácidos grasos en leche de cabra, cuando aplican la suplementación a la dieta de los animales con torta de semillas de lino, se incrementa significativamente el contenido MUFA (ácidos grasos de cadena mediana), disminuyendo el contenido de SFA (ácidos grasos de cadena corta) en la grasa de leche. Además el contenido de CLA en dicha grasa se incrementa hasta diez veces en relación con el control, acompañado con una disminución de los ácidos grasos saturados (C₁₂-C₁₆) hasta dos veces. Mughetti *et al.* (2012), incluyen tortas de semilla de lino en la dieta de ovejas para evaluar su efecto en las características fisicoquímicas, sensoriales y nutricionales del queso Pecorino, determinando que dicha suplementación afecta a la composición fisicoquímica del queso obtenido y al perfil de ácidos grasos (se observa que los quesos procedentes de leche suplementada contienen un alto porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados y un nivel bajo de ácidos grasos saturados en comparación con el queso control). El perfil sensorial de los quesos obtenidos con tortas de semillas de lino alcanzó mejores puntuaciones para el sabor y la textura.

Los subproductos de la industria de procesamiento de la soja, pueden utilizarse en la dieta de animales (Ipharraguerre y Clark, 2003). Los granos se separan en carne y cáscara (Rhee, 2000), siendo las cáscaras altamente digestivas según Titgemeyer (2000). Cavani *et al.* (1990), utilizaron cascarilla de soja para sustituir un concentrado rico en almidón en dieta de ovejas y determinaron que el rendimiento lechero y la concentración de grasa en la leche aumentan y disminuye el contenido de proteína en comparación con la leche control. Esta misma tendencia, aumento del rendimiento lechero y la concentración de grasa y disminución del contenido proteico en la leche, se observa cuando los granos de maíz y trigo se reemplazan por cascarilla de soja y pulpa de remolacha en las dietas de ovejas lactantes (Cannas *et al.*, 1998). En 2004 Nudda *et al.* demostraron que la sustitución de maíz y harina de cebada por subproductos de soja disminuye

el contenido de C₄-C₁₂, aumentando el contenido de ácidos esteárico y oleico en la leche de oveja. En el mismo ensayo, la leche obtenida procedente de ovejas alimentadas con subproductos de soja contienen cantidades inferiores de isómeros *trans* C_{18:1}, *trans* 10 y *trans* 11 cis 9 de CLA.

La vasta población de cabras y ovejas y las condiciones climáticas agresivas en las aéreas áridas de los países mediterráneos pueden minimizar los alimentos para rumiantes, lo que permite la entrada de alimentos alternativos locales. España es bien conocida como uno de los líderes europeos en la industria alimentaria, produciendo muchos residuos o subproductos de la transformación de materias primas. Romero-Huelva *et al.* (2012) investigan el aprovechamiento de los residuos de la industria agraria, y determinan los efectos de la sustitución de 35% de cereales con residuos de tomate o de pepino en la dieta de cabras Murciano-Granadinas. En este trabajo, los autores demostraron que el valor de la energía metabolizable no es afectado por la sustitución de los cereales de la dieta. La grasa de leche de cabras alimentadas con dietas que incluyen tomate y pepino contienen mayor concentración de ácido linoleico, linolénico en relación con las cabras alimentadas con dieta control. Estos investigadores, argumentan que los subproductos de tomate y pepino podrían reemplazar los cereales de la dieta de cabras lecheras hasta un 35% que reduciendo los costes de la producción animal, y mejorando la calidad nutricional de la grasa de leche. Jaramillo *et al.* (2010) estudian el efecto de la adición de ensilaje de alcachofa en la dieta de ovejas con diferentes porcentajes (de 0 hasta 30%) para valorar las características bioquímicas del queso semi-curado durante la maduración. Los resultados obtenidos demostraron que, ni la producción ni la composición de leche se modifica por la inclusión de subproductos de alcachofa, sin embargo un aumento en los dosis de subproductos afectan positivamente la firmeza del queso y parámetros sensoriales.

Otro ejemplo de la inclusión de subproductos locales en la alimentación de animales, se encuentra lo publicado por Modaresi *et al.* (2011) que estudian los efectos del suministro de pasta de semilla de granada en el rendimiento, composición y perfil de ácidos grasos de leche de cabra. Las dietas de cabras

fueron suplementadas incluyendo 0, 6 y 12% de subproductos de semillas de granada durante un período de 45 días. Las dietas se formularon como isonitrogenadas e isocalóricas. La suplementación con los subproductos de granada no afectó el rendimiento, contenido proteico y sólidos totales y se determina un aumento de la concentración de grasa en leches de cabras suplementadas con 6 y 12% de este subproducto. En este estudio la alimentación con subproductos de semillas de granada modificó el perfil de ácidos grasos de leche, incluyendo un incremento en las concentraciones de CLA y ácido vaccénico.

Otros investigadores han intentado aprovechar los subproductos ricos en almidón en la dieta de animales como fuente alternativa a los granos de cereales, como el caso de la yuca (*Manihot esculenta*) que se caracteriza principalmente por su raíz rica en almidón. El heno de hojas de yuca es un producto derivado de la cosecha de la raíz de yuca que contiene $24\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ de taninos. Estos subproductos, se utilizan en diferentes concentraciones como una sustitución de cantidades equivalentes de paja de arroz tratada con urea en la dieta de cabras lactantes. Se determinó que el rendimiento, concentración de grasa y proteínas de leche aumentan en leches procedentes de animales suplementados (Dung *et al.*, 2005). Estos autores concluyen que el heno de hojas de yuca tiene mejor calidad nutricional que la paja de arroz, mientras Mouro *et al.* (2002) encontraron que la sustitución parcial ó total de harina de maíz con subproductos de yuca en dietas de cabras lactantes no causó variaciones en el rendimiento, contenido proteico, urea y el contenido de grasa de la leche producida.

La melaza de azúcar es otro subproducto usado en la alimentación animal. Se trata de un derivado de la industria azucarera, caracterizado por su riqueza en azúcares y fibras que tienen un rol muy importante en la alimentación de animales con bajos coste. En este sentido, Broderick y Radloff (2004) intentan de mejorar la producción de leche en vacas con la adición de melazas de azúcar, en 48 vacas lecheras de la raza Holstein, los resultados obtenidos para la producción, proteínas de leche, concentración de la grasa lechera no fueron diferentes

significativamente. Además Murphy *et al.* (1999) publican que las melazas de azúcar pueden incorporarse en la alimentación de animales con cantidades limitadas (menos del 10% de la dieta), determinando en vacas Holstein y Friesian, un aumento lineal significativo en el rendimiento y concentración de proteína y caseína de leche a medida que se incrementa el nivel de melaza en la dieta. Sin embargo el rendimiento de grasa de leche no se modifica significativamente en este estudio.

III. 1. 2. Subproductos de origen animal

Los subproductos de la industria de la conserva de productos del mar son una fuente rica de proteínas y ácidos grasos insaturados como CLA omega 3 y 6. La harina de pescado es un subproducto de la elaboración de conservas de pescados, cuyos desechos representan una fuente de proteína de alta calidad y una grasa rica en ácidos grasos ω_3 , ω_6 y CLA y otros ácidos grasos esenciales. La proteína de la harina de pescado tiene una alta proporción de aminoácidos esenciales en una forma altamente digerible, particularmente (Abu-Ghazaleh *et al.*, 2001; Avramis *et al.*, 2003; Twibell *et al.*, 2012).

En los rumiantes, la harina de pescado aporta proteína dietética y grasa que puede provocar un menor cambio en el rumen a diferencia de otras materias primas. La incorporación de harina de pescado en la dieta de rumiantes debe realizarse a partir de un correcto balance de las fracciones degradables y no degradables de la proteína y en función del requerimiento de los animales. Su inclusión en la dieta de vacas lecheras se caracteriza en general por una mayor producción de leche (con un incremento promedio de 1 a 2 litros por día), incrementan además su contenido en proteína (generalmente 0,1 a 0,2%) y una disminución de la grasa de la leche (Dirandeh *et al.*, 2013).

La inclusión de este subproducto en la alimentación animal fue investigado por numerosos autores. Abu-Ghazaleh *et al.* (2002) estudian el afecto de la adición de la harina de pescado en la dieta de vacas lecheras y sus efectos en las propiedades de la leche y en el contenido de CLA y ácido vaccénico (AV) en la

grasa de leche producida. Los resultados publicados en este trabajo confirman una disminución de los porcentajes de la grasa y proteína y un incremento en las concentraciones de *cis*-9, *trans*-11 CLA en la grasa de leche y un incremento muy significativo del ácido vaccénico (AV) en comparación con la leche control. Estos autores comentan que la administración harina de pescado a la dieta de vacas tiene un efecto positivo en la composición de ácidos grasos (CLA y AV). Otros autores como Avramis *et al.* (2003) en leche y queso de vacas demostraron una disminución del contenido de grasa de leche. Sensorialmente, la leche obtenida no muestra diferencias en porcentaje de color y olor y no exhibe un sabor oxidado. El queso Cheddar obtenido por la suplementación después de 6 meses de maduración manifiesta un olor característico del queso Cheddar más intenso y una textura más suave y lisa que del queso control.

Otro subproducto de origen animal que puede valorarse para su inclusión en la dieta de animales es el suero procedente de la fabricación del queso. Contiene una elevada variedad de nutrientes de alta calidad tales como; albúmina, lactosa, vitaminas y minerales. Este producto genera grandes inconvenientes para su eliminación en las queserías, debido a su contenido de agua (94%). La administración de suero de quesería en la dieta de rumiantes fue investigado entre otros por Pinchasov *et al.* (1982) que evaluaron el efecto de su empleo en la dieta de vacas lecheras. Las vacas suplementadas con suero incrementan el volumen producido significativamente en relación con los animales control. También se incrementan el contenido en sólidos totales y grasa mientras que la proteína no varía. De forma contraria a lo señalado por estos autores, Schingoethe *et al.* (1983) no determinaron variaciones significativas en el volumen producido y contenido proteico mientras que la grasa disminuye en relación con el lote control. En el caso de cabras, Rapetti *et al.* (1995) estudió el efecto de la inclusión del lactosuero en la dieta de cabras lecheras para evaluar la composición fisicoquímica, células somáticas y el tiempo de coagulación de la leche obtenida, determinando que el rendimiento y el contenido de materia grasa de la leche se incrementa en la leche obtenida de cabras suplementadas con el suero lácteo aunque se observa una disminución en el tiempo de coagulación de la misma.

Ben Salem y Smith (2008), publican que el procesado de alimentos genera grandes cantidades de subproductos, pero sólo algunos de ellos se integraron con éxito en la alimentación de ganado. Además, los problemas derivados de su manejo y de su reducida vida útil podría ser otra razón para limitar el uso de estos subproductos. Las tortas de oliva, tomate, pulpa de remolacha, hollejo de cítrico y orujo de uva son ricos en humedad (500 a 850 g en cada kg de subproducto). Otros autores, han intentado tratar los subproductos con productos químicos para mejorar su valor nutritivo como por ejemplo: mejorar los orujos, mediante tratamiento con urea y tratamientos con hidróxido de sodio (Sansoucy *et al.*, 1985); tratamiento de subproductos de la uva con glicol polietileno para desactivar taninos. Petit *et al.* (2002), Alipour y Rouzbehan (2007), investigan la suplementación de la dieta de vacas con subproductos de semillas de lino tratados con formaldehído, sin efecto en las características de la leche. También Bernard *et al.* (2005), estudiaron la alimentación de cabras de la raza Alpina con una dieta suplementada con semilla de lino tratada con formaldehído a diferentes concentraciones, determinando una disminución en el rendimiento lechero en las cabras suplementadas, mientras que el contenido de materia grasa de leche no se vio afectado, esta suplementación afecta de manera significativa al perfil de ácidos grasos, se determina una disminución de 23% de la producción de los ácidos grasos C₁₀ y C₁₇ en comparación con el control y un aumento en las concentraciones de los ácidos grasos *cis*-9 C_{18:1} y *cis*-9, *trans*-11 C_{18:2} y el contenido de C_{18:3}. Aunque estos tratamientos son eficientes para mejorar el valor nutritivo de algunos subproductos, su adopción por los agricultores continúa siendo limitada debido a los elevados costes, disponibilidad o riesgo de manipulación de productos químicos. Por otra parte, algunos agricultores encuentran problemas de intoxicación entre sus animales alimentados con subproductos tratados con urea (Ben Salem y Smith, 2008). Recientemente nuevas tecnologías en la fabricación de piensos, pueden ofrecer soluciones rentables para la integración de subproductos en suplementos para rumiantes; como por ejemplo el caso de la formación de pellets de piensos con subproductos de la destilación de plantas aromáticas con paja de cereales (Nieto *et al.*, 2010, 2011 y 2012; Jordán *et al.*, 2010).

III.2. Influencia de suplementación de la dieta animal en la calidad de la leche y queso

La leche de rumiantes y sus elaborados son un alimento completo de la dieta humana desde la antigüedad, hoy en día la leche es un producto que se consume como parte de una dieta sana y equilibrada (Michaelidou, 2008). La calidad de la leche de rumiantes depende de números factores tales como; especie, raza del animal, periodo o número de lactación y el tipo de alimentación suministrada (López *et al.*, 1999; Pulina *et al.*, 2006).

La alimentación animal es uno de los factores determinantes en la producción y composición de la leche de rumiantes. Varios factores nutricionales afectan la concentración de grasa y el rendimiento lechero, por ejemplo en ovejas, los más importantes son el balance energético, la ingesta y la fuente de fibra dietética, carbohidratos no fibrosos, tamaño de las partículas de los alimentos, así como la cantidad y composición de ácidos grasos de los suplementos grasos en la dieta. El contenido de grasa de la leche se relaciona negativamente con el balance de energía, mientras que el contenido de proteína se correlaciona positivamente con la misma. Una alimentación con alto contenido energético, generalmente disminuye el contenido de grasa en leche e incrementa ligeramente el porcentaje de proteína. Por lo tanto el empleo de concentrados para aumentar el nivel de energía en la dieta, genera un descenso en el contenido de grasa y incrementa el contenido proteico de la leche, ya que produce un cambio de dirección del flujo de energía orientado hacia la formación de grasa corporal (Bocquier y Caja, 2001; Pulina *et al.*, 2006).

Los dos principales sistemas de alimentación en el ganado de pequeños rumiantes son el pastoreo y los sistemas intensivos. En los ganados ovino y caprino, los sistemas del pastoreo pueden variar según las condiciones agroclimáticas, en países del norte de Europa, las ovejas y cabras se dejan en pastoreo después del inicio del crecimiento de la vegetación, mientras que en los países del sur de Europa, los animales están en pastoreo dependiendo de la disposición de la vegetación, donde la vegetación es pobre en épocas de sequedad

o en zonas áridas. El aumento de la duración del pastoreo diario de las ovejas de 4 a 7 h, cuando no hay otras fuentes de forrajes disponibles, puede inducir a un aumento en el contenido de grasa, proteína y el rendimiento lechero. La calidad de pastos depende de la biomasa disponible en las zonas del pastoreo, así que la leche de cabras o de ovejas demostró una amplia variabilidad en la composición de ácidos grasos según la composición de dichos pastos (Morand-Fehr *et al.*, 2007). Chilliard *et al.* (2007) en su revisión confirma que los pastos disminuyen el contenido de los ácidos grasos saturados y aumenta los ácidos grasos (poliinsaturados y CLA) en leches de vaca y de cabra, en comparación con las dietas basadas en ensilado de maíz y concentrados. Algunos estudios demostraron que las dietas basadas en el empleo de forrajes naturales, mejoran las propiedades nutricionales y sensoriales de los productos lácteos obtenidos al mismo tiempo que mejoran la imagen de la grasa láctea frente al consumidor (Grappin y Coulon, 1996; Chilliard *et al.*, 2007). Las modificaciones de las propiedades sensoriales de los quesos en base al tipo de forraje utilizado en alimentación animal son reconocidas tanto por los agricultores como por los fabricantes de queso. Los efectos del tipo de forraje como ensilado de maíz, heno, ensilado de hierba, pastos son bien conocidos (Martin *et al.*, 2005), el uso de heno produce quesos con colores amarillos, menos firme, más cremosos y elásticos (Agabriel *et al.*, 2004; Coulon *et al.*, 2004; Martin *et al.*, 2005).

Coppa *et al.* en 2011 comparan los perfiles de ácidos grasos de leche y la textura y apariencia del queso Cantal obtenidos de vacas que han pastado en pastos con diferente composición (diversificado de 74 especies) frente a un grupo control alimentado con una dieta basada en heno. Dichos autores determinan un incremento en el porcentaje de ácidos grasos saturados en la leche control y un aumento de los ácidos grasos mono y poli-insaturados en leche procedente de animales en pastoreo. Los quesos control son más firmes, menos cremosos, menos elásticos, y menos amarillos que los derivados de animales en pastoreo, además de exhibir olores más intensos según el análisis sensorial realizado. Carpino *et al.* (2004) estudian también el efecto de la alimentación de vacas lecheras con dos dietas (dieta constituida por el total de mezcla de raciones (TMR) y otra con una

mezcla de raciones y pastos de plantas nativas locales, determinando que los quesos producidos con leche de vacas alimentadas con plantas nativas son más ricos en olores intensos (estér, aldehído y componentes terpenoides) que aquellos alimentadas solo con TMR. Los mismos investigadores demuestran que las plantas nativas contienen un elevado nivel de acetato geranilo y de jasmonato de metilo en el campo donde pastorean las vacas del estudio.

A pesar de los buenos resultados nutricionales y sensoriales de los quesos elaborados con leche cuyos animales han pastado, este tipo de alimentación tiene algunos inconvenientes como los planteados en los países mediterráneos ya que las condiciones climáticas desfavorables que deja crecer el pasto sólo en períodos de tiempo cortos (Vasta *et al.*, 2008).

Actualmente, los consumidores muestran una clara preferencia por el consumo de alimentos que contienen componentes/composición beneficiosos para la salud humana tales como productos ricos en CLA, ω_3 ó ω_6 , en definitiva muestran una clara tendencia por el consumo de productos ricos en ácidos grasos poliinsaturados y bajos en saturados. Las grasas son un grupo de compuestos muy variados, que tienen efectos diversos. Por ejemplo el ácido linoleico conjugado (CLA) tiene efecto anticancerígenos, anti-aterogénicos y anti-diabéticos (Pariza, 2004), mientras que los ácidos grasos saturados y *trans* están relacionados con enfermedades cardiovasculares. La dieta de los rumiantes puede modificar la composición de estos ácidos grasos en la leche (y queso) en cierta medida. Varios investigadores, han realizado en los últimos 20 años, estudios relacionados con el incremento de la concentración de ácidos grasos de efectos positivos para la salud, mediante la modificación de la composición de las dietas de los animales con el objetivo de disminuir el porcentaje de ácidos grasos saturados en los alimentos (Jenkins y McGuire, 2006). Según Bauman y Griinari (2001), la grasa de leche contiene más de 400 ácidos grasos, de los cuales solo once tienen importancia. Uno de los principales ácidos grasos es el ácido linoleico, que a su vez tiene números isómeros (28) que constituyen la familia de los ácidos linoleicos conjugados (CLA) y se encuentra principalmente en la carne y productos lácteos

procedentes de rumiantes, pero los más importantes son el ácido ruménico (*cis*-9, *trans*-11) y *trans*-10, *cis*-12 CLA. Estos isómeros son conocidos por sus propiedades anticancerígenas y representan entre el 75- 85% de CLA de la grasa de leche de vaca y 78-89% en la grasa de la leche de oveja (Wright *et al.*, 2003; Nudda *et al.*, 2006). La suplementación de la dieta de rumiantes con granos, aceites o subproductos de semillas oleaginosas (semillas de lino) han sido estudiados por diferentes autores con resultados beneficiosas a la salud humana (incremento en los ácidos grasos insaturados, CLA y disminución de los ácidos grasos saturados) (Nudda *et al.*, 2006).

AlZahal *et al.* (2008) estudian la adición de aceite de soja en la ración de vacas lecheras con el fin de evaluar los efectos en el perfil de ácidos grasos, determinando que el tratamiento con aceite de soja incrementa el total de *trans*-C_{18:1} así como la concentración de los CLA incluyendo el *cis*-9, *trans*-11 C_{18:2}; *trans*-9, *cis*-11 C_{18:2} y *trans*-10, *cis*-12 C_{18:2}. Otros autores publican resultados en leche con alto contenido de CLA, concretamente el ácido vaccénico, en la grasa de leche, cuando se incluye aceite de oliva en la dieta de vacas lecheras (Secchiari *et al.*, 2003). Además, Dhiman *et al.* (2000) obtienen leche de vaca rica en CLA después de una suplementación en la dieta con 3,6% de aceite de soja (una concentración de 2,10% de CLA en la grasa de leche frente a 0,39% en leche control); en el mismo estudio obtiene leches con 1,63 y 1,58% de CLA en la grasa de leche tras una suplementación de la dieta en vacas con 2,2 y 4,4% de aceite de semilla del lino.

Estudios similares relevados por Gómez-Cortés *et al.* (2008) demuestran que la adición del aceite de soja a la dieta de ovejas produce cambios en el perfil de ácidos grasos con una disminución significativa en las concentraciones de C₆ hasta C_{16:0} y un incremento estadístico en las concentraciones de C_{18:0}, C_{18:1} y CLA. Las proporciones de CLA y ácido vaccénico alcanzan niveles entre 1,04-3,44% y de 2,08-6,2% de ácidos grasos totales. También señalan que la concentración de CLA en la grasa de leche de ovejas aumenta hasta tres veces con la adición de aceite de soja. Resultados similares han sido determinados por Mir *et al.* (1999) en leche de cabra cuando se suplementan la dieta con aceite de canola.

Otros autores mejoran la calidad de leche mediante el empleo de otras fuentes alimentarias, tales como algas marinas. Franklin *et al.* (1999), obtienen leches con altos contenidos en CLA y ácido vaccénico, suplementando la alimentación de vacas lecheras con algas marinas, sin modificar el perfil sensorial de la leche. Reynolds *et al.* (2006) estudian la influencia de la adición de acetites de algas marinas y aceite de soja en la composición y perfil de ácidos grasos de leche de ovejas y observan un incremento en el contenido de la grasa y la proteína así como un incremento en los CLA totales especialmente un incremento en el total de *trans*-C_{18:1} y C_{22:6 ω -3} en las ovejas suplementadas con aceite de algas.

Shingfield *et al.* (2003) determinan en la leche un incremento en el contenido de ácidos grasos *trans*-11 C_{18:1}, *trans*-C_{18:1}, *cis*-9 *trans*-11 CLA, C_{18:2} (n-6) y el total de C_{18:2} cuando suplementan dietas de vacas lecheras con aceite de pescado.

La calidad de la leche independientemente de la especie juega un rol determinante en la calidad final del queso. Allred *et al.* (2006) estudian el efecto de la suplementación con aceite de palma ó pescado individualmente o en combinación con aceites de soja en el perfil de ácidos grasos, rendimiento quesero, calidad sensorial de leche y queso Cheddar determinados mediante un panel de jueces entrenados y no obtienen diferencias significativas en el rendimiento ni en composición fisicoquímica de leche. Sin embargo, el contenido de los ácidos grasos *cis*-9 C_{18:2}, *trans*-11 y *trans* C_{18:1} aumentó en la leche procedente de animales cuya alimentación reciben una combinación de aceite de palma-aceite de pescado y aceites de soja, aunque no se observó modificación en el contenido de CLA de los quesos elaborados. Los jueces entrenados no han detectado diferencias significativas en el sabor de leche ni en el queso Cheddar, a la excepción del sabor ácido observado en quesos procedentes de animales suplementados. Zheng *et al.* (2005) obtienen un mayor rendimiento lechero en vacas que reciben dietas ricas en aceites de semilla de lino en comparación con el lote control. Estos autores determinan un menor porcentaje de grasa en la leche suplementada, manteniéndose el resto de parámetros invariables. He y Armentano

(2011), determinan una menor concentración de grasa y proteína en leche de vacas suplementadas con aceite de palma y aceite de girasol y aceite de arroz. Benchaar *et al.* (2012), suplementan la dieta de vacas lecheras con aceite de semilla del lino para estudiar la influencia en las características y el rendimiento de la leche, observan diferencias significativas para la producción de leche y la concentración de grasa.

Castro *et al.* (2009) estudian el efecto de la adición de aceites vegetales como el aceite de girasol y aceite de palma hidrogenada en la dieta de ovejas lecheras, determinando un incremento en la producción de leche para ovejas alimentadas con aceites de palma hidrogenadas, mientras que el contenido de la grasa y proteína no se modifica con ninguno de las suplementaciones. Li *et al.* (2012) estudió el efecto de la suplementación en cabras lecheras de aceites vegetales de semillas, tales como lino y aceite de girasol demostrando un incremento en la cantidad de la leche producida así como en el contenido de grasa.

En los alimentos, la oxidación de los lípidos ha sido reconocida como un deterioro importante que afecta tanto a la calidad sensorial como nutricional. Las vacas lecheras de alta producción (dieta rica en grasas) están predispuestas al estrés oxidativo, situación que puede agravarse en determinadas condiciones ambientales, fisiológicas y dietéticas (Lohrke *et al.*, 2005). La formación de radicales libres durante la peroxidación de los ácidos grasos esenciales en las membranas de lípidos puede dañar las células y poner en peligro la producción y el estado sanitario del animal (Miller y Brezeinska- Slebodizinska, 1993).

La alimentación con dietas en rumiantes con alto contenido de grasa no sólo aumenta la concentración de peróxidos en el animal, sino que también puede afectar negativamente a la fermentación del rumen, debido a la reducción de la síntesis de proteínas microbianas (Vázquez y Jenkins, 2007). El efecto negativo de la alimentación animal con dietas ricas en grasa está parcialmente solventado mediante la inclusión de antioxidantes en estas dietas, que también aumenta la digestibilidad de la fibra, lo que sugiere un efecto positivo de los antioxidantes en la microflora del rumen (Frankel, 1996).

Existen dos tipos de sustancias antioxidantes: las sintéticas y las naturales, dentro de los antioxidantes naturales: vitaminas E, C y β -caroteno, son potentes antioxidantes que reaccionan directamente y podrían mejorar la protección de la salud contra los radicales libres como un intento de prevenir el daño causado por el proceso de oxidación (Bendich, 1993; Mardalena *et al.*, 2011). Los antioxidantes, tales como α -tocoferol y ácido ascórbico, juegan un papel decisivo en la prevención o retraso de la oxidación y han sido tenidos en cuenta como aditivos alimentarios (Madhavi *et al.*, 1996). El α -tocoferol es un antioxidante primario, que actúa en la terminación de la cadena de radicales libres, actúan mediante la cesión de electrones a los radicales libres convirtiéndolos en elementos más estables. El ácido ascórbico es un antioxidante secundario que puede ser ampliamente clasificado como un eliminador de oxígeno, ya que reacciona con el oxígeno libre, provocando la inhibición de este elemento activo (Madhavi *et al.*, 1996). El builhidroxianisol (BHA) y el butilhidroxitolueno (BHT), son dos antioxidantes sintéticos muy utilizados en los alimentos, que se caracterizan por sus bajos costes y elevada eficacia en la mayoría de los alimentos. Los tocoferoles son mucho menos eficaces que BHA o BHT como antioxidantes en los alimentos (Chen *et al.*, 1992).

Las reacciones oxidativas en la leche son perjudiciales, ya que reducen su valor nutricional contribuyendo a la disminución de la vida útil. La oxidación de la leche puede catalizarse por ciertos metales, exposición a la luz y puede ocurrir espontáneamente tanto en la grasa de la leche como en las proteínas con capacidades de oxidarse. La auto-oxidación de lípidos insaturados por la exposición a la luz, origina la destrucción de varios nutrientes claves en productos lácteos como la riboflavina y ácido ascórbico dando lugar a sabores no deseables (Van Aardt *et al.*, 2005). Los cambios oxidativos de proteínas y aminoácidos también dan paso al desarrollo de sabores extraños así como la destrucción de aminoácidos esenciales como histidina, cisteína, metionina, triptófano, y tirosina que se oxidan en presencia de luz y oxígeno activo (Jadhav *et al.*, 1996).

Varios autores han intentado resolver el problema de la oxidación de la grasa mediante la suplementación de la dieta de los animales con antioxidantes para preservar los ácidos grasos de la leche contra estas reacciones. Bell *et al.* (2006), estudiaron el efecto de la inclusión de aceite de cártamo ó de lino en combinación con la monensina ó vitamina E en la dieta de vacas y sus efectos en el perfil de ácidos grasos. Estos autores llegaron a concluir que la combinación de aceite de cártamo con la monensina fue efectivo para aumentar el contenido de CLA en la grasa de la leche y que la adición de la vitamina E en la dieta disminuye la oxidación de la leche procedentes de animales suplementados con semillas oleaginosas, pero no tiene un efecto significativo sobre la concentración de CLA. Otros estudios dirigidos a minimizar la oxidación de leche, incluyen tratamientos antes del ordeño tales como la inyección de α -tocoferol en los músculos de las vacas lecheras, con el objeto de evitar la aparición de modificaciones en el sabor derivados de la oxidación espontanea de leche (Charmley y Nicholson, 1993), o la adición de α -tocoferol a la alimentación, Focant *et al.* (1998) estudiaron la suplementación de la dieta de vacas lactantes con aceites de colza extruido y semillas de lino en combinación con la vitamina E para cuantificar sus efectos en los perfiles de ácidos grasos de la leche y la susceptibilidad de la grasa de la leche a la oxidación. El suplemento dietético de la vitamina E aumentó la concentración de α -tocoferol en la leche en un 45%, los autores concluyen que esta cantidad fue suficiente para impedir la oxidación de la leche. Jung *et al.* (1998), concluyen que el disulfuro de dimetilo era el responsable principal de los sabores desagradables de la leche oxidada, pero la suplementación con diferentes concentraciones del ácido ascórbico (entre 200 a 1.000 ppm) disminuye la oxidación y el desarrollo de dichos sabores.

Los antioxidantes sintéticos son una buena herramienta para reducir el deterioro de la calidad sensorial y nutricional de alimentos, pero su uso ha disminuido debido a su baja estabilidad y su relación con enfermedades cancerígenas (Milos y Makota, 2012). Por lo tanto, algunos autores han estudiado el empleo de antioxidantes naturales como una alternativa a los antioxidantes sintéticos, tales como extractos de plantas (Parejo *et al.*, 2002).

Los compuestos fenólicos representan un ejemplo interesante de moléculas bioactivas derivadas de plantas, estas moléculas tienen posibilidades de aplicación en la alimentación animal. Los compuestos fenólicos son un grupo diverso de compuestos químicos (más de 8000 compuestos), que tienen características comunes: la presencia del anillo arilo en el que al menos hay un grupo hidroxilo. Los polifenoles son producidos como metabolitos secundarios por la mayoría de las plantas, en las que probablemente actúan como antimicrobianos o antioxidantes naturales (O'Connell y Fox, 2001; Silanikove *et al.*, 2010). Los polifenoles juegan un papel muy importante en los atributos sensoriales de muchos productos alimenticios (Vasta y Luciano, 2011).

Los árboles y arbustos forrajeros y especies herbáceas son una fuente muy importante de alimento para el ganado, sobre todo en las regiones desérticas y semi-desérticas, la mayoría de las especies son dicotiledóneas que contienen grandes cantidades de polifenoles, muchos de ellos son compuestos taníferos (Silanikove *et al.*, 2001). Actualmente, existe un interés creciente en los compuestos secundarios presentes en estas plantas como herramientas para la mejora de algunos aspectos de la calidad de la leche o carne. Este es el caso de los compuestos fenólicos, taninos condensados, saponinas y aceites esenciales ricos en terpenos (Vasta y Luciano, 2011).

Las plantas aromáticas, frutas y verduras tienen diferentes usos industriales y se aplican en diferentes sectores tales como medicina, nutrición, bebidas, perfumes, cosméticos, tabaco. Desde tiempos prehistóricos, las hierbas fueron la base de todos los medicamentos terapéuticos (Zheng y Wang, 2001). Las plantas aromáticas contienen grandes cantidades de antioxidantes diferentes a la vitamina C, la vitamina E y carotinoides.

En medicina veterinaria oriental el uso de plantas aromáticas, hierbas o sus extractos siempre se han administrado de forma terapéutica en animales por los pequeños agricultores. En la actualidad, desde tiempos remotos los investigadores tienden a volver a practicar este tipo de tratamiento debido a los altos precios de los medicamentos sintéticos unida a la eficacia de las plantas. La Tabla 7 detalla

algunas plantas usadas en veterinaria china y sus funciones según detalla Mirzaei-Aghsaghali (2012).

Tabla 7. Plantas aromáticas y hierbas usadas en la veterinaria china

Hierbas o plantas	Parte usada	Compuesto activo	Función terapéutica
La nuez moscada	Semilla	Sabinene	Estimulación de la digestión, anti-diaria
Canela	Corteza	Cimetaldehido	Antiséptico, apetito y estimulación de la digestión
Clavos	Clavos	Eugenol	Antiséptico, apetito y estimulación de la digestión
Cardamomo	Semilla	Cíñelo	Apetito y estimulación de la digestión
Cilantro	Hoja y semillas	Linalol	Estimulación de la digestión
Comino	Semilla	Cuminaldehido	Digestión
Anis	Semilla	Anetol	Estimulación de la digestión
Apio	Hojas y semillas	Phtalides	Estimulación de la digestión y apetito
Perejil	Hojas	Apiol	Antiséptico
Alholva	Semilla	Trigonellina	Estimulación de la digestión
Pimienta	Semilla	Piperina	Estimulación de la digestión
Rábano picante	Raíz	Alil isotiocranato	Estimulación del apetito
Mostaza	Semilla	Alil isotiocranato	Estimulación de la digestión
Jengibre	Raíz	Zingerona	Estimulación gástrica
Ajo	Bulbo	Alicina	Estimulación de la digestión, antiséptico
Romero	Hojas	Carvacrol	Estimulación de la digestión, antiséptico, antioxidante
Tomillo	Planta entera	Timol	Estimulación de la digestión, antiséptico, antioxidante
Salvia	Hojas	Cíñelo	Estimulación de la digestión, antiséptico
Laurel	Hojas	Cíñelo	Estimulación de la digestión y apetito, antiséptico
Menta	Hojas	Mentol	Estimulación de la digestión y apetito, antiséptico

Fuente: Mirzaei-Aghsaghali, 2012.

El efecto antioxidante de estas plantas aromáticas/hierbas se debe principalmente a los componentes fenólicos, tales como flavonoides, compuestos fenólicos y diterpenos (Wang, 2003). En las últimas décadas, los extractos o aceites esenciales de plantas aromáticas han sido de gran interés para el fin de prolongar el almacenamiento y la estabilidad de los alimentos mediante el empleo de compuestos naturales. Los antioxidantes sintéticos se utilizan para el procesamiento industrial, aunque los toxicólogos y especialistas en nutrición, argumentan efectos secundarios de algunos antioxidantes sintéticos utilizados en procesamiento de alimentos tales como BHT y BHA. Por lo tanto, existe un interés creciente en los estudios del empleo de aditivos naturales como antioxidantes. Muchas fuentes de antioxidantes de origen vegetal se han estudiado en los últimos años, de muchas plantas aromáticas y especias han demostrado ser eficaces en el retraso del proceso de peroxidación de lípidos en los aceites y los alimentos grasos y han ganado el interés de muchos grupos de investigación (Zheng *et al.*, 2005). Algunas plantas aromáticas de los países mediterráneos han sido ampliamente estudiadas debido a su actividad antioxidante tales como romero, tomillo, salvia y orégano (Jordán *et al.*, 2009). Otras especies se han estudiado por el mismo motivo en diferentes países del mundo, tal como se refleja en la Tabla 8 que detalla algunas especies investigadas por sus propiedades antioxidantes así como el contenido de compuestos fenólicos de cada una de ellas.

Tabla 8. Contenido de fenoles totales y la capacidad de absorción de radicales de oxígeno en algunas plantas en el mundo

Nombre común	Nombre botánico	Uso	Fenoles totales (mg GAE/g del peso fresco)	capacidad de absorción de radicales de oxígeno (μmol de TE/peso fresco)
Pera de bálsamo	<i>Momordica charantia</i>	Medicinal	0,43 \pm 0,08	3,43 \pm 0,11
Serpol	<i>Thymus praecox ssp. arcti</i>	Medicinal	1,81 \pm 0,04	13,40 \pm 0,12
	<i>Cus</i>			
Manzanilla	<i>Tanacetum parthenium</i>	Medicinal	0,87 \pm 0,06	10,07 \pm 0,15
Salvia	<i>Salvia officinalis</i>	Medicinal	1,34 \pm 0,09	13,28 \pm 0,40
Tomillo	<i>Thymus vulgaris</i>	Medicinal	2,13 \pm 0,11	19,49 \pm 0,21
Vinca de Madagascar	<i>Catharanthus roseus</i>	Medicinal	2,85 \pm 0,11	22,30 \pm 0,54
Ginkgo	<i>Ginkgo biloba</i>	Medicinal	1,57 \pm 0,05	13,18 \pm 0,24
toronjil de menta	<i>Mentha piperita</i>	Medicinal	2,26 \pm 0,16	15,84 \pm 0,42
pericón silvestre	<i>Hypericum perforatum</i>	Medicinal	2,78 \pm 0,12	16,77 \pm 0,22
ajenjo dulce	<i>Artemisia annua</i>	Medicinal	1,54 \pm 0,06	15,69 \pm 0,37
aloe de Barbados	<i>Aloe vera</i>	Medicinal	0,23 \pm 0,00	1,88 \pm 0,05
Valeriana	<i>Valerian officinalis</i>	Medicinal	1,78 \pm 0,12	15,82 \pm 0,61
Alcaravea	<i>Carum carvi</i>	Culinario	1,05 \pm 0,00	10,65 \pm 0,29
Cebolla de hoja o ciboulette	<i>Allium schoenoprasum</i>	Culinario	1,05 \pm 0,05	9,15 \pm 0,28
Orégano francés	<i>Plectranthus amboinicus</i>	Culinario	0,34 \pm 0,00	4,71 \pm 0,14

Tabla 8. (Continuación)

Nombre común	Nombre botánico	Uso	Fenoles totales (mg GAE/g del peso fresco)	capacidad de absorción de radicales de oxígeno (μmol de TE/peso fresco)
Diente de león	<i>Taraxacum officinale</i>	Culinario	0,26 \pm 0,02	2,35 \pm 0,14
Eneldo	<i>Anethum graveolens</i>	Culinario	3,12 \pm 0,06	29,12 \pm 0,29
Lavanda	<i>Lavandula angustifolia</i>	Culinario	1,50 \pm 0,13	16,20 \pm 0,11
Hinojo	<i>Foeniculum vulgare</i>	Culinario	0,68 \pm 0,00	5,88 \pm 0,09
Orégano Greco	<i>Origanum vulgare ssp</i>	Culinario	11,80 \pm 0,60	64,71 \pm 1,05
Mejorana	<i>Origanum majorana</i>	Culinario	11,65 \pm 0,29	71,64 \pm 1,25
Citronela	<i>Melissa officinalis</i>	Culinario	1,26 \pm 0,04	9,54 \pm 0,23
Tomillo limonero	<i>Thymus citriodorus</i>	Culinario	1,78 \pm 0,03	13,28 \pm 0,33
Cedrón	<i>Aloysia triphylla</i>	Culinario	1,55 \pm 0,10	17,38 \pm 0,35
Levístico	<i>Levisticum officinale</i>	Culinario	2,63 \pm 0,05	21,54 \pm 0,35
Orégano Méjico	<i>Poliomintha longiflora</i>	Culinario	17,51 \pm 0,22	92,18 \pm 0,72
Menta acuática	<i>Mentha aquatica</i>	Culinario	2,26 \pm 0,10	19,80 \pm 0,43
Perejil	<i>Petroselinum crispum</i>	Culinario	1,12 \pm 0,01	11,03 \pm 0,13
Salvia de piña	<i>Salvia elegans</i>	Culinario	1,31 \pm 0,08	11,55 \pm 0,42
Alegría (dulce Mexicano)	<i>Amaranthus cruentus</i>	Culinario	3,41 \pm 0,11	28,92 \pm 0,21
Geranio	<i>Pelargonium graveolens</i>	Culinario	7,34 \pm 0,36	38,75 \pm 0,61

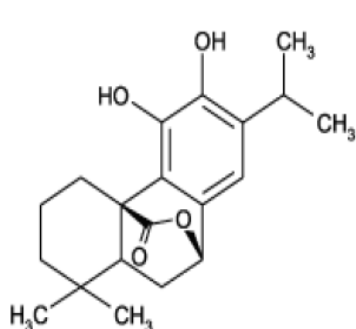
Tabla 8. (Continuación)

Nombre común	Nombre botánico	Uso	Fenoles totales (mg GAE/g del peso fresco)	capacidad de absorción de radicales de oxígeno (μmol de TE/peso fresco)
Romero	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Culinario	2,19 \pm 0,15	19,15 \pm 0,63
Pimpinela menor	<i>Sanguisorba minor</i>	Culinario	0,99 \pm 0,07	8,33 \pm 0,13
Tulbaghia	<i>Tulbaghia violácea</i>	Culinario	1,03 \pm 0,10	7,50 \pm 0,60
Hierbabuena	<i>Mentha spicata</i>	Culinario	0,94 \pm 0,15	8,10 \pm 0,26
Albahaca	<i>Ocimum basilicum</i>	Culinario	2,23 \pm 0,15	14,27 \pm 0,45
Laurel	<i>Laurus nobilis</i>	Culinario	4,02 \pm 0,90	31,70 \pm 0,97
Lágrimas de David	<i>Polygonum odoratum</i>	Culinario	3,09 \pm 0,12	22,30 \pm 0,68
Ajedrea	<i>Satureja montana</i>	Culinario	3,16 \pm 0,02	26,34 \pm 0,17
Cúrcuma	<i>Curcuma longa</i>	Culinario	1,72 \pm 0,12	19,50 \pm 0,45

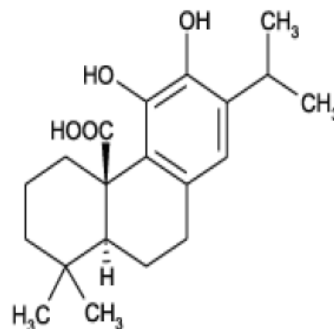
Fuente: Zheng y Wang, 2001; Wojdyło *et al.* (2007) TE: Equivalente de micromoles de Trolox, GAE : equivalente de ácido gálico

La aplicación de compuestos secundarios derivados de plantas aromáticas en la alimentación de rumiantes, ha sido un éxito para mejorar la calidad de carne y leche y sus derivados (Savoini *et al.*, 2003; Nieto *et al.*, 2010, 2011, 2012; Chiofalo *et al.*, 2012; Vasta *et al.*, 2013). Estas estrategias de alimentación son una solución para cumplir las exigencias de los consumidores, que cada vez demandan productos más saludables y seguros.

El Romero (*Rosmarinus officinales* L), es una de las plantas aromáticas que tienen mucho interés para varios investigadores por sus efectos antioxidantes, antimicrobianos, antifúngicos y antiinflamatorios observados tanto en estudios “*in vitro*” e “*in vivo*”. Esta planta aromática es una especie del género *Rosmarinus* spp. cuyo hábitat natural es el área mediterránea, sur de Europa y norte de África. En España se encuentra en la mayor parte de Cataluña, hasta los Pirineos en Aragón y Navarra, Castilla-La Mancha, Castilla y León, La Rioja, Madrid, Región de Murcia, Extremadura, en las zonas montañosas de la Comunidad Valenciana, Andalucía e islas Baleares (Santos *et al.*, 2012). Las hojas de romero se utilizan comúnmente como especias y agentes aromatizantes. El uso del extracto de hojas de romero como antioxidante fue señalado por primera vez por Ostric-Matijasevicen en 1955 (Yanishlieva-Maslarova y Heinonen, 2001). El extracto del romero contiene compuestos polifenólicos, siendo los componentes más activos en esta especie el carnosol, ácido carnósico, rosmanol y otros compuestos fenólicos. El ácido carnósico es el componente principal en las hojas de romero con una actividad antioxidante tres veces superior al carnosol y siete veces superior al BHT (Moñino *et al.*, 2008). La Figura 2 muestra la estructura de los compuestos fenólicos principales en el romero.



Estructura del carnosol



Estructura del ácido carnósico

Figura 2. Estructura química de los componentes antioxidantes más importantes en el romero

Los efectos beneficiosos de la adición directa de antioxidantes de extractos de romero, en los alimentos se han estudiado extensivamente. Se han realizado estudios en una carne y productos cárnicos (Djenane *et al.*, 2002; Sánchez-Escalante *et al.*, 2003; Fernández-López *et al.*, 2005) y productos lácteos (Foda *et al.*, 2010; El Din *et al.*, 2010), mientras que el estudio del uso de las plantas o sus extractos como suplementos en la dieta de animales es limitado. Estudios, que abordan el empleo del romero o sus subproductos en la dieta de animales fueron publicados por Moñino *et al.* (2008) que estudian la introducción de subproductos del romero en la dieta de ovejas que permite la transferencia de antioxidantes y componentes activos a la carne del cordero, sin perjuicio de la productividad de los animales. El análisis cromatográfico permitió la identificación de 11 componentes polifenólicos, entre ellos, el ácido rosmarínico, carnosol y ácido carnósico, que fueron los componentes fenólicos que aumentaban de forma significativa en la carne de cordero de las ovejas madres alimentadas con subproductos de romero, cuando se compara con el grupo control. La incorporación de estos subproductos en la dieta de los animales favorece la capacidad antioxidante de las muestras de carne de cordero. Nieto *et al.* (2010),

suplementaron la dieta de ovejas con hojas destiladas de romero para evaluar su efecto en la calidad de carne fresca y cocinada, los resultados de la carne de corderos alimentados con hojas destiladas de romero tienen niveles menores de oxidación lipídica, un menor recuento de bacterias aeróbicas mesófilas y una gran estabilidad del color durante 21 días de almacenamiento. Los resultados observados en la carne cocinada obtenida de corderos alimentados con hojas destiladas de romero presentan un menor grado de oxidación durante el almacenamiento, mayor estabilidad en el color y vida útil más larga.

O'Grady *et al.* (2006) estudian el efecto de la suplementación de las dietas de terneros con extracto de té y de romero en carne y productos cárnicos. Estos autores no se observan diferencias significativas en el estado antioxidante total del plasma, ni en las concentraciones de α -tocoferol, pH, color, estabilidad lipídica y propiedades sensoriales de la carne fresca almacenadas aeróbicamente o en envases de atmósfera modificada. Del mismo modo la suplementación no mejora las propiedades sensoriales y la estabilidad lipídica de filetes cocidos, almacenados aeróbicamente durante 11 días a 4°C. En el mismo trabajo los autores suplementaron hamburguesas con extracto de té y romero han obtenido una mejora estabilidad lipídica y del color a los 8 días en hamburguesas almacenadas en atmosfera modificada.

La influencia de la suplementación con romero en las características de la leche y sus derivados fue estudiado por Savoini *et al.* (2003), que suplementan la dieta de cabras Saneen con extractos de romero a diferentes porcentajes para evaluar su efecto en la producción y calidad de leche e infección mamarias. Los resultados confirman que no hay cambios en la cantidad de leche producida ni en el contenido de proteínas, lactosa y células somáticas de la leche, mientras que el porcentaje de la grasa disminuye con una alta concentración del extracto de romero en la dieta. Se determina un incremento del porcentaje de neutrófilos y una disminución de macrófagos en la leche después de la inclusión del extracto de romero, mientras que el número de linfocitos no se modifica. La alimentación de cabras con extracto de romero conduce a una reducción de las infecciones. Jordán

et al. (2010) se estudió la influencia de la inclusión de subproductos de romero en la transferencia de compuestos fenólicos y aromáticos en la leche con la suplementación de la dieta de cabras con hojas destiladas del romero, los resultados observados confirman que no hay diferencias significativas en la producción de leche y si se observa un incremento de la concentración de los siguientes compuestos flavonoides en la misma: hesperidina, naringina y genkwanin y compuestos fenólicos: ácido gálico, carnosol y ácido carnósico.

Chiofalo *et al.* (2012) estudian el efecto de la inclusión del extracto de romero en la dieta de ovejas Valle del Belice en las características de la leche. Los resultados demuestran que la producción, el contenido proteico, las caseínas y la grasa de leche se incrementan con la suplementación de dietas con romero y las células somáticas disminuyen. El aumento de la concentración de proteínas en leche puede estar relacionado con el hecho de que en el reticulorumen (que tiene un pH de 6,0-7,0), los polifenoles interactúan con las proteínas, inhibiendo la utilización de las proteínas en el rumen por micro-organismos endógenos (se ha estimado que la microflora reticulorumen degradan hasta un 75% de la proteína ingerida) pero una vez el complejo polifenol-proteína pasa al abomaso (pH 2.5 hasta 3.5), el complejo se descompone y libera proteínas, que posteriormente se degradan y se utilizan por el rumiante (O'Connell y Fox, 2001).

El tomillo es otro tipo de planta aromática interesante en la península Ibérica debido a sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas. El género *Thymus* corresponde a la familia de la *Labiatae* (*Lamiaceae*), originario de los países de la cuenca mediterránea occidental. El tomillo rojo o *Thymus zygis subsp gracilis* es una de las plantas aromáticas medicinales encontradas en la Península Ibérica, y su aceite esencial se ha convertido en uno de los más ampliamente utilizados en la industria alimentaria. Su importancia económica proviene de las grandes cantidades de aceites esenciales que contiene (Jordán *et al.*, 2009). Rota *et al.* (2008), estudia la variabilidad del contenido de aceite esencial de esta especie, con más de 60 compuestos bioactivos siendo los más comunes son el timol y linalol. Las actividades antioxidantes in vitro de los aceites esenciales y extractos de tomillo han sido señalados por Tepe *et al.* (2011).

El efecto de la adición directa de los aceites esenciales del tomillo en alimentos comerciales fue reportado por Harpaz *et al.* (2003); Tanabe *et al.* (2002) estudian el empleo de extracto del tomillo para mejorar la calidad de la carne de cerdo.

Nieto *et al.* (2011) investigaron si la inclusión de hojas de tomillo (sin destilación) en la dieta de ovejas gestantes influye en las características sensoriales y en la estabilidad oxidativa de la carne de cordero cocida. La incorporación del tomillo en la dieta de los animales favorece una alta capacidad antioxidativa de las muestras de carne de cordero cocinada. La carne cocinada de corderos suplementados con hojas de tomillo mostró menor niveles de TBARS y de hexanal, mientras que el análisis sensorial determina una disminución en el olor y el sabor rancio en comparación con las muestras control.

El tomillo genera un exceso de residuos (hojas destiladas de tomillo) después de la destilación de las hojas para la extracción de aceites esenciales. El efecto de la suplementación en las dietas de animales con derivados del tomillo en la calidad de la carne ha sido estudiado por Nieto *et al.* (2012) donde investigan el efecto de la inclusión de subproductos del tomillo procedente de la destilación en la dieta de ovejas gestantes y su efecto en la calidad final de carne de cordero, que se evaluó durante el almacenamiento de carne en atmósfera modificada. Un total de 36 ovejas fueron divididas aleatoriamente en tres grupos homogéneos. Un grupo fue alimentado con una dieta basal, mientras que la dieta de los otros dos grupos era modificado mediante la sustitución de 10% y 20% de la dieta basal con pellets a partir de 50% de cebada, 50% de hojas de tomillo destilados. En general, la dieta suplementada con hojas destiladas del tomillo inhibe la oxidación de lípidos, reduciendo el contenido de psicótrofos y los productos de oxidación secundaria (TBARS), mientras que el grado de enrojecimiento (valores de a^*) fue significativamente mayor a los 7 y 14 días de almacenamiento. Según estos autores podemos confirmar que los subproductos de tomillo se podrían utilizar como una fuente de antioxidantes naturales y antimicrobianos en la alimentación para las ovejas.

Otras plantas con compuestos secundarios que pueden usarse como fuente de suplementación de la dieta de cabras fueron publicados por Zhong *et al.* (2009), que investigan el efecto de la incorporación de los extractos del té en la dieta de cabritos para examinar su efecto en la oxidación de lípidos de la carne fresca, determinando una inhibición de la oxidación de lípidos y una mejora de la estabilidad del color de la carne. Baruah (1997) investigó la suplementación de la dieta de vacas lecheras con residuos de té descafeinado (contiene un elevado nivel de polifenoles) y determinan que la suplementación tiene un efecto positivo sobre la producción y las características de leche.

Botsoglou *et al.* (2002) investigaron el efecto antioxidante de la suplementación de la dieta con aceites esenciales de orégano en la estabilidad oxidativa del músculo del muslo de pollo durante el almacenamiento en comparación con lote control. Los resultados demostraron que la suplementación de la dieta de pollos con aceite esencial de orégano ejerce efectos antioxidantes y la suplementación es más eficaz para retrasar la oxidación de lípidos en la carne cruda y cocida. Estos autores en 2003, estudiaron la suplementación de la dieta de pavos con aceite esencial de orégano y sus efectos en la oxidación de la carne cruda y cocida durante el almacenamiento. Los resultados mostraron que los tratamientos con aceite esencial de orégano aumento la estabilidad oxidativa de la carne de pavo tanto cruda como cocinada en comparación con la carne del lote control. La concentración más eficaz en el retraso de la oxidación de lípidos fue la concentración de 200 mg. kg⁻¹ del aceite de orégano.

Kraszewski *et al.* (2004) ha estudiado los efectos de la suplementación de la dieta de vacas por una mezcla de plantas aromáticas contiene: la hierbabuena (*Mentha piperita* L.), pensamiento silvestre (*Viola tricolor* L.), manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.), ortiga (*Urtica dioica* L.), Milenrama (*Achillea millefolium* L.) y el tomillo (*Thymus vulgaris* L.) determinando resultados positivos en el rendimiento lechero, composición fisicoquímica y tecnológica de la leche. Cuchillo *et al.* (2010) ha estudiado las actividades antioxidantes y los contenidos en polifenoles totales en quesos obtenidos de la leche de cabras que han pastado en pastos en zonas ricas en plantas aromáticas en comparación con

quesos producidos de cabras alimentadas con una mezcla de raciones. Los resultados confirman que los quesos resultados de la leche de cabras alimentadas en campos de vasta vegetación presentan un mayor contenido de compuestos fenólicos totales y flavonoides y una mayor protección frente la oxidación en comparación con los quesos control. Tekippe *et al.* (2011) estudian los efectos de la suplementación en dietas de vacas lecheras con hojas del orégano (*Origanum vulgare* L) y evalúan su efecto en producción y composición de ácidos grasos de la leche. La producción, composición fisicoquímica y el perfil de ácidos grasos no fueron modificadas por esta suplementación a la excepción del contenido de urea en la leche que se disminuye.

El éxito del empleo de antioxidantes en la dieta de animales fue confirmado por muchos autores como una herramienta para mejorar la calidad de productos y derivados y por sus beneficios en la sanidad animal, aunque la administración de estos antioxidantes tienen que ser controlada por la cantidad y el tipo de antioxidante administrado, ya que el uso frecuente de los compuestos fenólicos en la dieta de vacas puede ejercer el aborto o intoxicación (Sharma *et al.*, 1998).

IV. METODOLOGÍA

IV.1. Efecto de la suplementación de la dieta de cabras con plantas aromáticas en la calidad de leche y queso

IV. 1. 1. Diseño experimental y tratamiento de las dietas

Se seleccionan 36 cabras de la raza Murciano-Granadina (en cada experimento) según su edad y el rendimiento lechero (3,2 años y 2,2 L.día⁻¹ respectivamente), durante el periodo de lactación, se dividen en tres grupos homogéneos de 12 cabras en cada grupo, el grupo control y grupos alimentados con piensos “unifeed” con 10% y 20% de suplementación con hojas destiladas de romero o tomillo (DRL1, DRL2 y DTL1, DTL2 respectivamente) y 3,75% y 7,50% de hojas de tomillo sin destilar (TL1 y TL2 respectivamente).

Las cabras del grupo control se alimentan con una dieta basal de 2,3 kg.día⁻¹ por cada animal, preparada y balanceada por la empresa Cargill Animal Nutrition S. A, con el uso de los siguientes ingredientes: melaza de caña (1,00%), aditivos vitamínicos y minerales (1,04%), paja para piensos (26,65%), carbonato de calcio (1,49%), harina de maíz (3,67%), miel de alubias (4,16%), aceite de girasol (7,00%), centeno (6,99%), raicilla malta (8,00%), cebada (15%) y cascarilla de soja (25,00%). La composición química de esta dieta se detalla en la Tabla 9.

Tabla 9. Composición química de la dieta control

Nutriente	Concentración (g.kg ⁻¹ de materia seca)
Nitrógeno no proteico	0,50
Selenio (mg/kg)	0,72
Metionina total	2,60
Vitamina D (IU/g)	3,10
Magnesio	3,40
Fósforo	5,70
Lisina total	6,70
Calcio	10,00
Vitamina A (IU/g)	14,90
Fibra neutro detergente digestible	25,00
Grasa	30,90
Vitamina E (IU/g)	32,40
Total soluble RDP	43,30
Proteína no degradable en el rumen	55,60
Proteína degradable en el rumen	64,70
Ceniza	76,00
Almidón total ajustado	90,70
Zinc (mg/kg)	154,00
Proteína cruda	175,00
Fibra ácido detergente	190,00
Fibra no carbohidrato	267,00
Fibra neutro detergente	366,00

Fuente: Datos calculados por Cargill Animal Nutrition S. A. Torre Pacheco (Murcia, España)

Las dietas de los grupos DRL1, DRL2, DTL1 y DTL2 fueron modificadas con la sustitución de 10% y 20% de la dieta control con pellets constituidos con 50% de cebada y 50% de hojas destiladas de romero o de tomillo. La Tabla 10, muestra las cantidades de cebada y hojas destiladas de romero o de tomillo en el pienso.

Tabla 10. Raciones suministrados a cabras con hojas destiladas de romero y tomillo

Denominaciones	Unifeed (g)	Pienso hoja destilada (g)	Cebada (g)
Control	1.000	---	300
DRL1, DTL1	870	260 (130 hoja destiladas + 130 cebada)	170
DRL2, DTL2	740	520 (260 hoja destiladas + 260 cebada)	40

DRL1 y DRL2: Dietas suplementadas con 10% y 20% de hojas destiladas de romero, DTL1 y DTL2: Dietas suplementadas con 10% y 20% de hojas destiladas de tomillo

La Tabla 11 muestra las cantidades usadas de cebada y hojas de tomillo sin destilar en el pienso.

Tabla 11. Raciones suministrados a cabras de hojas con tomillo sin destilar

Denominaciones	Unifeed (g)	Pienso hoja sin destilar (g)	Cebada (g)
Control	1000	---	300
TL1	950	200 (50 hoja de tomillo + 150 cebada)	150
TL2	900	400 (100 hoja de tomillo + 300 cebada)	---

TL1: Dietas suplementadas con 3,75% de hojas de tomillo sin destilar, TL2: Dietas suplementadas con 7,5% de hojas de tomillo sin destilar

El diseño experimental de estos piensos fue diseñado por el grupo del departamento de plantas aromáticas de IMIDA (Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario), las plantas aromáticas fueron recogidas por la empresa Nutrafur-Furfural Español S. A. Murcia, las dietas suplementadas fueron balanceadas con grasas y proteínas para que fueron isoenergéticas.

IV.1.2. Recolección de muestras de leche de cabra

Durante el estudio de cada experimento se obtienen muestras de leche de cada grupo de animales de un periodo semanal, se introducen en frascos de plásticos estériles de 50 mL codificados.

IV.1.3. Análisis fisicoquímicos de leche

Los análisis fisicoquímicos de leche de cabra se realizan en el Laboratorio Agrario y Sanidad Animal de la Región de Murcia (LAYSA). La materia grasa, materia seca, punto creoscopico, el contenido proteico, lactosa y células somáticas se analizan según la norma IDF (141B; 1996), empleando un equipo Milko Skan Combi Foss 5000, Foss Electric, Hillerod, Denmark).

IV.1.4. Determinación del tiempo de coagulación

El tiempo de coagulación es el tiempo necesario para obtener los primeros granos de la cuajada, su determinación se realiza según la norma IDF (132; 1997).

IV.1.5. Determinación de la concentración de ácidos grasos totales (AGT)

La composición de ácidos grasos totales en la grasa de leche se determina según la norma UNE en ISO (5508; 1996), se realiza previamente una extracción lipídica, y posteriormente se procede a la derivatización de los ácidos grasos, previa a la identificación y cuantificación mediante cromatografía gaseosa.

IV.1.5.1. Extracción de la fracción lipídica

La extracción lipídica se realiza según el método de Röse-Gottlieb, la mezcla de solventes orgánicos (éter etílico, éter de petróleo y amoniac) y la leche se mezclan y dejan en reposo en embudos de decantación, los solventes orgánicos de la fase polar se evaporan mediante un rotavapor Büchi (011, Suiza), la temperatura de evaporación se controla a través de un baño termostático Büchi (461, Suiza) y un equipo de refrigeración Heto (Comfort, Barcelona). Se extrae la materia grasa y se congela a -80°C hasta su derivatización.

IV.1.5.2. Derivatización de los ácidos grasos

Se pesa $0,03 \text{ g} \pm 10\text{mg}$ de grasa de la muestra, en un matraz esférico y se añade $5,7 \text{ }\mu\text{L}$ del patrón interno (éster del ácido undecanoico) (Sigma U 0250; Sigma-Aldrich Química S. A, Madrid, España), se agrega 3 mL de metilato sódico $0,2\text{N}$, la mezcla se calienta lentamente, después de 5 min se adiciona 3 mL de solución ácido sulfúrico-metanol (3%) y se calienta otra vez con agitación, después de 5 min se deja enfriar y luego se añade 3 mL de hexano y se calienta otra vez durante $1 \text{ ó } 2 \text{ minutos}$. Se vierte el contenido del balón en un matraz aforado de 10 mL , se deja el contenido en reposo hasta la separación de las fases (fase superior: muestra + hexano). Se retira la fase superior y se coloca en un vial de $1,5 \text{ mL}$ y se mantiene en refrigeración (máximo 2 h) hasta realizar el análisis cromatográfico.

IV.1.5.3. Identificación y cuantificación de los ácidos grasos

La identificación se realiza mediante el empleo de ácidos grasos estándares previamente metilados (Sigma-Aldrich Química SA, Madrid, España), identificados por los tiempos de retención durante la cromatografía de gases empleando un equipo marca Fisons Instruments (GC8000 series, Italia) con un detector de ionización de llama (FID-80). Se utiliza una columna capilar con 5% de Fenil Metil Siloxano entrecruzado, 30 m de longitud, $0,25 \text{ mm}$ de diámetro interno y $0,25 \text{ }\mu\text{m}$ de espesor de película Hewlett-Packard, que trabajan según las siguientes condiciones:

- Gas portador: Helio
- Flujo de columna: $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$
- Flujo de aire: $300 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$
- Flujo de hidrógeno: $30 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$
- Divisor: 10^{-2}
- Temperatura del inyector: 270°C
- Temperatura del detector: 280°C

Rampas de temperatura: 60°C a 160°C con un incremento de 5°C min⁻¹ 160°C a 180°C con un incremento de 2°C min⁻¹ 180°C a 240°C con un incremento de 5°C min⁻¹, manteniendo esta temperatura final durante 10 minutos. Cada ácido graso caracterizado por su tiempo de aparición, se compara con los tiempos de retención de los estándares obtenidos de las muestras para caracterizar cada ácido graso.

El análisis cuantitativo se basa en determinar la concentración (%) de ácidos grasos totales presentes en la muestra, para lo cual se requiere conocer el área de pico de cada uno de los ácidos grasos previamente identificados y relacionarlos con concentraciones conocidas a través de una ecuación de regresión lineal, que son obtenidas de la curva patrón para cada ácido graso estándar.

IV.1.6. Elaboración de quesos experimentales

Las elaboraciones del Queso de Murcia al Vino se realizó en la planta piloto del Departamento de Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Veterinaria (Universidad de Murcia), bajo el control de un responsable técnico del Consejo Regulador de la D. O. P del Queso de Murcia al Vino.

Después de la pasteurización de la leche, se calienta hasta una temperatura de alrededor de 33-34°C, luego se agregan los cultivos iniciadores y se espera, durante veinte minutos hasta que la leche alcanza un pH aproximado de 6,58 (los cultivos iniciadores utilizados son una mezcla liofilizada de *Lactococcus lactis* subs. *lactis* y *cremoris* y *Streptococcus thermophilus*), los cultivos se añaden en una proporción de 0,13 g de liofilizado DOM 3 (CSL, Caseario Sperimentale Lattiero, Italia) y 0,24 g de liofilizado STA-IDC 12 (CSL) por cada 50 L de leche. Se añaden una disolución comercial de CaCl₂ (48,78% p/v), (Betelgeux, S. A. Gandía, Valencia) a un porcentaje de 0,3 w/v y se añade 0,3%, w/v de cuajo de ternera comercial. Cuando transcurre el tiempo necesario para obtener la firmeza de la cuajada (40-45 min), se realiza un primer corte durante 1 minuto y se deja la cuajada en reposo durante 4 minutos. Se realiza un segundo corte del gel hasta obtener un tamaño de grano de 6-8 mm. El lavado de la cuajada se realiza

mediante la eliminación del 15% del volumen total del suero, que se sustituye por agua potable a 37°C y el trabajo del grano se hace con palas hasta obtener un tamaño y textura adecuados (granos de arroz). Ulteriormente, se procede a moldear la cuajada en moldes de plástico cilíndrico, que se presan a 1 atm de presión manométrica (98-103 Pa) durante 1 h. Se incrementa la presión hasta 2 atm (196-203 Pa) durante la siguiente hora. Los quesos se introducen en salmuera (17°Bé, 8°C) durante 15 h y los quesos se maduran en una cámara de refrigeración a 12°C y 85% de humedad. Luego se sumergen en baños de vino tinto de doble pasta de forma semanal. El diagrama de flujo de la elaboración del Queso de Murcia al Vino se detalla en la Figura 3, donde se refleja el diagrama de flujo del proceso.

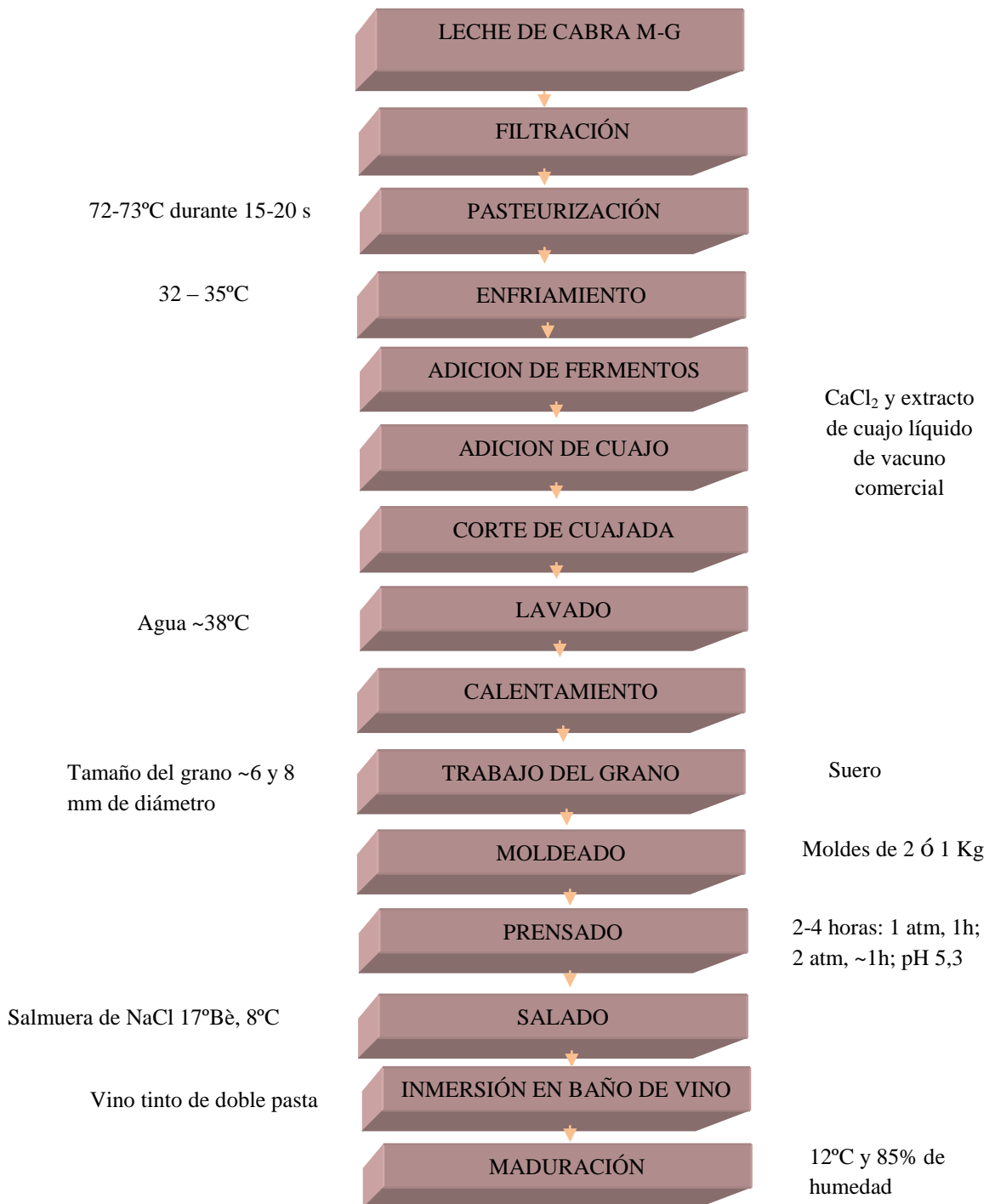


Figura 3. Diagrama de flujo de la fabricación del queso de Murcia al Vino

IV.1.7. Determinación de parámetros fisicoquímicos de los Quesos de Murcia al Vino

IV.1.7.1. Preparación de muestras

Los parámetros fisicoquímicos de los quesos se realizan después de 45 días de maduración, en el laboratorio del Área de Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia.

Se cortan trozos de queso de ~150 g y se envasan en bolsas de plásticos a vacío de 0,98 atm manométricas (104 Pa) en una cámara de envasado INELVI (500, Barcelona, www.inelvi.com) y se congelan a -80°C . Se procede a una previa descongelación de los quesos a una temperatura de refrigeración ($3-4^{\circ}\text{C}$) durante 24h, se elimina la corteza (± 5 mm) y luego se trituran en una picadora Moulinex (España, www.moulinex.com).

IV.1.7.2. Determinación de pH

Después de la trituración de la muestra se pesan $5 \text{ g} \pm 0,01 \text{ g}$ en una balanza (Gram Precisión AHZ-3000, Barcelona) y se disuelve en un vaso de precipitado con 30 mL de agua destilada, se agita en un multiagitador magnético Selecta (Agimatic-N, Barcelona) durante 10 minutos, y se procede a la determinación de pH, la cual se realiza mediante un pH-metro Crison® (micropH 2001, Barcelona, www.crison.it) conectado a un electrodo combinado de vidrio Crison® (52-02). El pH-metro previamente se ajusta a dos puntos con soluciones estándar de pH 7,00 y 4,00 (Crison®) a temperatura ambiente y las medidas de pH se realizan a la misma temperatura por duplicado.

IV.1.7.3. Determinación del extracto seco total

Se pesan $3 \text{ g} \pm 0,1 \text{ mg}$ de la muestra de queso triturado y se mezclan con 10 g de arena de mar lavada y previamente desecada en una cápsula de porcelana mediante el empleo de una estufa de convección DVE (Heraeus D6450, Madrid,

www.heraeus.es) a $105^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ hasta peso constante según la norma IDF (4A; 1982). Las muestras se analizan por duplicado.

IV.1.7.4. Determinación del contenido proteico

La determinación de la concentración de nitrógeno total se realiza a partir de $0,5 \text{ g} \pm 0,1\text{mg}$ de muestra mediante el método Kjeldahl, según la norma IDF (17837; 2008). La digestión de nitrógeno se hace en un digestor entre 6-8. La destilación, se lleva a cabo en un destilador automático Büchi (323, Suiza, www.buchi.com). La valoración se completa mediante un valorador automático Metrohm 20 (702 SM Titrino, Suiza). Las mediciones para cada muestra de queso se realizan por duplicado. El contenido en proteína se obtiene mediante la siguiente ecuación:

$$\%N = (V \cdot 0,14) / P$$

$$\%PB = \%N \cdot 6,38$$

N: nitrógeno total, P: peso de la muestra, PB: proteína bruta, V: volumen del ácido clorhídrico 0,1N gastado en la muestra.

IV.1.7.5. Determinación de grasa

La determinación de la grasa total se realiza mediante la digestión de la muestra del queso con ácido sulfúrico en caliente y tratamiento con alcohol isoamílico, empleando el butirómetro de Van Gulik-Gerber según la Norma ISO (3433; 2008 b). Los butirómetros se centrifugan 10 minutos mediante una centrífuga Gerber Orto-Alresa (Lacter, España) equipada con control automático de temperatura. La lectura del butirómetro se realiza con una precisión de 0,25% y la lectura se realiza por duplicado.

IV.1.7.6. Determinación de la actividad de agua (a_w)

La actividad de agua (a_w) del queso se realiza mediante el equipo Novasina® (TH 200, Suiza) calibrado por disoluciones salinas saturadas (LiCl·H₂O 11%, KCH₃COO 23%, MgCl₂·6H₂O 33%, Mg (NO₃)₂·6H₂O 53%,

NaCl 75%, BaCl₂·2H₂O 90% y K₂CrO₇ 98%). La muestra se coloca triturada en la celda del aparato y se espera a que la lectura se estabilice (~1h). Esta determinación se realiza por duplicado de cada muestra de queso.

IV.1.8. Determinación de la concentración de polifenoles totales

Los polifenoles totales se determinan según la técnica utilizada por Capannesi *et al.* (2000). El conjunto de los fenoles totales del queso se oxidan por el reactivo de Folin Ciocalteu (mezcla de ácido fosfotúngstico y ácido fosfomolibdico en un medio alcalino) y son reducidos por acción de los polifenoles dando lugar a la formación de óxidos de tungsteno y molibdeno de color azul. La coloración azul producida posee una absorción máxima cercana a los 765 nm, proporcional al contenido en compuestos fenólicos.

Para la realización de la curva patrón, se prepara una mezcla de metanol: agua (80:20 v/v), en una probeta, mezclando muy bien con una varilla. Se pesa 35 mg de ácido gálico, que se disuelven en un matraz aforado de 50 mL, enrasado con la mezcla de metanol: agua (80:20), así se obtiene una disolución madre de 0,7 mg de ácido gálico.mL⁻¹, a partir de la cual se elabora la curva patrón.

A 5 mL de la disolución de ácido gálico se le añade 2,5mL de Reactivo Folin Ciocalteu y 5 mL de disolución de 7,5% (p/v) de Na₂CO₃ en agua, la cual se prepara, para obtener un volumen final de 100 mL (tomando 7,5 g de Na₂ CO₃ y se enrasando con agua destilada hasta 100 mL).

A continuación, se enrasa hasta los 50 mL con agua destilada, se tapa, se agita y se deja los matraces en oscuridad durante 90 minutos, finalmente se determina la absorbancia a 765 nm de longitud de onda en el espectrofotómetro de luz visible (Unicam Ltd.,Cambridge, Reino Unido), en la posición fija.

A partir de la recta de calibrado se determina la concentración de fenoles totales en cada muestra.

IV.1.9. Determinación de las sustancias reactivas con el ácido 2-Tiobarbitúrico (TBARs)

La determinación de TBARs en los quesos se realiza mediante el método de destilación según el procedimiento de Tarladgis *et al.* (1960).

Se pesan 10 g de muestra en un vaso de precipitado de 50mL y se añade 49mL de agua destilada y 1mL de disolución al 7% de Butil-Hidroxi-Anisol (BHA) en etanol (98%). La mezcla se homogeneiza durante 1 min con ultraturra (Silent Crusher) y se vierte el contenido en un matraz esférico de 1L. Se añade 45mL de agua destilada al vaso de precipitado para recuperar los restos que hayan quedado. Se vierte el contenido al matraz esférico y añaden 2,5 mL de HCl (4N); se agregan 5-10 perlitas al matraz esférico para evitar que se pegue la muestra durante el calentamiento. Se inicia la destilación a 130°C, se coloca una probeta de 50 mL para recoger el destilado, quitándose la muestra cuando se hayan recogido 50mL de destilado.

Los 50 mL del destilado se filtran y se añaden 2,5 mL del filtrado con 2,5 mL de disolución de Ácido 2-Tiobarbitúrico al 0,8% (TBA) disuelto en agua de 10 mL. Para la muestra control o el blanco se mezclan 5 mL de agua destilada y 5 mL de TBA (0.8%) en un tubo con tapón rosca de 10 mL. Todos los tubos se agitan y se calientan en agua hirviendo durante 35 min. Después se enfrían en hielo durante 10 min, observándose que la disolución adquiere un color rosa característico. Las lecturas se hacen empleando un espectrofotómetro (Unicam Ltd.,Cambridge, Reino Unido) a una absorbancia de 532 nm.

Los valores de TBARs se expresan en mg MDA.Kg⁻¹ de muestra, el valor de la absorbancia a 532 nm se debe multiplicarse por una constante de destilación (k) según indica el protocolo de Tarladgis *et al.* (1960). Esta constante de destilación (k) tiene un valor experimental de 7,8 cuando se utiliza un volumen de destilado de 5 mL para llevar a cabo la reacción con 5 mL de TBA, cuando el peso de la muestra es exactamente de 10 g además se tiene en cuenta que el rendimiento de la destilación es del 68%.

$$C \text{ (mg MDA.Kg}^{-1} \text{ de queso)} = A_{532} \cdot k$$

La expresión de la constante de destilación (k) es la siguiente:

$$k(\text{destilación}) = \frac{\text{concentración en mol/ 5mL del destilado}}{\text{densidad optical}} \times \text{mol.peso del malonaldehido} \times \frac{10^7}{\text{peso de la muestra}} \times \frac{100}{\% \text{ recuperado}}$$

El valor del primer término de la curva estándar es $7,4 \times 10^{-8}$, cuando la muestra es 10 g y 68% recuperado: $k=7,8$

IV.1. 10. Análisis sensorial de los quesos experimentales

Los análisis sensoriales de los quesos se realizan en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia, con la participación de expertos catadores del departamento de tecnología de los alimentos, Facultad de Veterinaria, junto con expertos catadores del Consejo Regulador de los quesos de Denominación de Origen de Murcia y Murcia al Vino con un total de 10 catadores. La sala de cata reúne las características especificadas en la norma UNE-EN ISO (8589, 2010).

IV.1.10.1. Preparación de muestras

De cada grupo de los quesos de 45 días de maduración, se eligen aleatoriamente una pieza completa a una temperatura estable de 15°C. Cada pieza se corta en dos mitades quedando una completa y la otra mitad se corta en forma de cuñas de ~8 mm de espesor que se sirven en platos de plásticos identificados con 3 dígitos.

IV.1.10.2. Análisis descriptivo cuantitativo

Se solicita a los catadores rellenar la ficha de cata (detallada en la Figura 4). Para la primera etapa se presenta a los catadores las mitades completas de los

quesos para la realización de la fase visual donde se evalúa la forma, corteza, color de la pasta así como el número y distribución de los ojos.

En la segunda etapa se determinan las propiedades organolépticas y olfato-gustativas en trozos de cada queso (se determinan los siguientes parámetros: olor, sabor, textura y gusto residual).

Las puntuación se hace mediante el uso de una escala hedónica de 9 puntos, donde 1 punto significa que los quesos son defectuosos, 5 puntos indica quesos normales, y 9 puntos se corresponde con quesos de muy buena calidad organoléptica. Los catadores disponen de agua mineral y manzanas Granny-Smith para eliminar el gusto residual entre muestras.

Análisis sensorial de los quesos de Murcia al Vino				
Fecha		Nombre del catador		
Numero de muestra: ...				
Nota	1	5	9	Puntuación total
Características				
Forma	Muy irregular	Regular	Perfecta Cantos Cilíndrico	
Corteza	Heterogénea muy enmohecida	Homogénea Limpia	Muy homogénea Muy limpia Color granate oscuro	
Color de la pasta	Heterogéneo	Normal	Perfecto	
Ojos	+ 60 granos	Hasta 60 granos Tamaño irregular	Max 30 granos de arroz	
Textura	Muy blanda Muy dura	Flexible	Perfecta	
Olor	No característico	Franco	Muy bueno	
Sabor	No característico	Bueno	Muy bueno	
Gusto residual	Desagradable	Agradable	Muy agradable	
Gracias por su colaboración				

Figura 4. Ficha de cata para análisis sensorial de Quesos de Murcia al Vino

IV.1.11. Análisis de microbiológicos

Los análisis microbiológicos de los quesos de cada muestra suplementada o control se determinan mediante los recuentos de los siguientes parámetros microbiológicos.

La Tabla 12 se detalla los microorganismos investigados y la metodología aplicada para los recuentos así como las normas aplicadas.

Tabla 12. Microorganismos investigados en los quesos experimentales, normas aplicadas y algunos detalles técnicos empleados

Microorganismo	Medio de cultivo	Temperatura de incubación (°C)	Tiempo de incubación (h)	Tipo de siembra	Norma que aplica
<i>Aerobios mesófilos</i>	Plate count agar (PCA)	30,0 ± 1,0	72	En masa	ISO 2003a estándar 4833
<i>Enterobacteriaceae</i>	agar Biliado-Rojo Violeta- Glucosa (VRBG)	37,0 ± 1,0	24-48	En masa (doble capa)	ISO 2004 estándar 21528-2
<i>Escherichia coli</i>	RAPID E.Coli 2	44,0 ± 0,1	24	En masa	ISO 2000 estándar 9308-1.
<i>Salmonella</i> spp.	Rappaport-Vasiliadis (RV)	37,0	16-20	Preenriquecimiento	ISO 2012 estándar 6579-2
<i>Staphylococcus aureus</i>	Baird Parker + (yema de huevo con telurito)	37,0 ± 1,0	48	En superficie	ISO 1999 estándar 6888-2.

Tabla 12. (Continuación)

Microorganismo	Medio de cultivo	Temperatura de incubación (°C)	Tiempo de incubación (h)	Tipo de siembra	Norma que aplica
<i>Clostridium</i> sulfito-reductores	Agar Sulfito Polimixina Sulfadiacina (SPS)	37,0	24	En masa	ISO 2003b estándar 15213
<i>Listeria</i> <i>Monocytogenes</i> ,	Caldo de Fraser sobre un agar (PALCAM)	37,0 ± 1,0	24	En superficie	ISO 1998 estándar 11290
levaduras y mohos:	Oxytetracycline Glucose Yeast Extract (OGYE)	18,0-20,0	120	En masa	ISO 2008a estándar 21527-1

IV.1.12. Análisis de textura

Las propiedades de la textura de los quesos se determinan mediante un analizador de textura TATX2 (State Micro System, Survey, Reino Unido) dotado de una célula de carga de 245 N y con una sonda PI00 (plato circular de 100 mm de diámetro). Las muestras de queso se mantienen a una temperatura de 20°C durante 3 h antes de someterlas al ensayo. Se extraen muestras cúbicas de 1 cm³ de cada una de los quesos de 45 días de maduración. Cada muestra se somete a una deformación longitudinal unitaria $\varepsilon = 0,01$ durante 3 minutos empleando una geometría de compresión cilíndrica que aplica una carga de 245 N sobre la muestra a una velocidad de 200 mm.min⁻¹. Los parámetros de análisis de textura registrados fueron dureza, adherencia, gomosidad, masticabilidad, cohesividad y elasticidad medido por el software de compresión a 40% con velocidad pre-test 1,0 mm.s⁻¹, velocidad de prueba 0.4 mm.s⁻¹, puesto velocidad de ensayo 0,4 mm.s⁻¹ y un descanso de 5 s entre dos ciclos (Ferrandini, 2006).

Los datos obtenidos a partir de la curva de fuerza de relajación fueron utilizados para calcular la fuerza máxima y residual, mientras que los datos obtenidos a partir de la curva se utilizaron para el cálculo de los parámetros de textura. Entre los parámetros de textura, se expresó como dureza en la fuerza máxima de la primera compresión, mientras que adhesividad se expresó como el área de la fuerza negativa para la primera mordedura o el trabajo necesario para sacar la compresión del émbolo lejos de la muestra. La cohesividad es una medida del grado de dificultad de la descomposición de la estructura molecular interna. La cohesión y elasticidad se informaron como cocientes entre las zonas bajas entre el segundo y primera fuerza de compresión y la altura recuperada por la muestra durante el tiempo que transcurre entre el final de la primera incisión y la iniciación de la segunda (Buffa *et al.*, 2001; Ferrandini, 2006).

IV.2. Influencia de la maduración y el establecimiento elaborador en la proteólisis y lipólisis del Queso de Murcia al Vino

IV.2.1. Diseño experimental

Se recogen quesos de diferentes días de maduración de diferentes establecimientos elaboradores de quesos registradas bajo el Consejo Regulador de los Quesos de Murcia y Murcia al Vino. La Tabla 13 detalla los días de maduración de los quesos y sus fabricantes. Las piezas de queso se separan según su origen y procedencia así como los días de maduración e intervalo de maduración.

Tabla 13. Muestras de quesos analizadas

Muestras	Productor	Días de maduración	Intervalo de maduración
1	A	94	2
2	A	93	2
3	B	70	1
4	B	71	1
5	B	69	1
6	B	70	1
7	C	79	1
8	C	95	2
9	C	90	2
10	C	91	2
11	D	100	2
12	D	99	2
13	E	89	2
14	E	60	1
15	E	66	1
16	E	64	1

A, B, C, D, E: establecimientos elaboradores de Quesos de Murcia al Vino registradas bajo el Consejo Regulador de los Quesos de Murcia y Murcia al Vino, 1: de 60 a 80, 2: de 80 a 100 días de maduración.

IV.2.2. Determinación de las fracciones nitrogenadas

A partir del nitrógeno total contenido en las muestras de queso, se estudian las fracciones nitrogenadas solubles siguientes según la norma FIL-IDF (25; 1964), (Bütikofer *et al.*, 1993):

- Fracción soluble en agua (WSN)
- Fracción soluble en ácido tricloroacético (TCA) al 12% *p/v* (TCASN 12%)
- Fracción soluble en ácido fosfotúngstico (PTA) al 5% *p/v* (PTASN 5%)

Todas las determinaciones se realizan por duplicado para cada una de las muestras de queso analizadas.

IV.2.2.1. Fracción nitrogenada soluble en agua (WSN)

Se pesan en una balanza analítica 25 g ($\pm 0,1$ mg) de queso triturado y se introducen en una bolsa plástica conteniendo 125 mL ($\pm 0,01$ mL) de agua destilada a 40°C. Luego se homogeniza la mezcla en un triturador mecánico IUL Instruments (Masticator, Barcelona) durante 5 min. A continuación se introduce en un baño termostatzado durante 1 h a 40°C. El contenido de la bolsa, se centrifuga durante 43 min a 8.200 r.p.m. y 4°C mediante una centrífuga Selecta (Medifriger-BL, Barcelona).

El líquido sobrenadante, de aspecto ligeramente turbio, se filtra a través de lana de vidrio y el filtrado (WSN) se utiliza para determinar el contenido de nitrógeno.

IV.2.2.2. Fracción nitrogenada soluble en TCA 12% (TCASN 12%)

Para obtener esta fracción soluble se mezclan en un Erlenmeyer, volúmenes iguales de WSN y de una disolución acuosa de TCA al 24% *p/v*. Después de agitar se deja reposar durante 2 h a temperatura ambiente. Pasado este

tiempo se filtra mediante papel Whatman N° 40 y el líquido transparente obtenido (TCASN) se utiliza para determinar su contenido de nitrógeno.

IV.2.2.3. Fracción nitrogenada soluble en ácido fosfotúngstico al 5% p/v (PTASN)

Esta fracción nitrogenada soluble, se obtiene mezclando en un Erlenmeyer 5 mL de WSN con 3,5 mL de H₂SO₄ 3,95 M y 1,5 mL de disolución acuosa de ácido fosfotúngstico de 33,3% p/v. Se agita la mezcla y se deja reposar durante toda la noche a 4°C. Al día siguiente se filtra con papel Whatman N° 40 y el filtrado obtenido (PTASN) se emplea para determinar su contenido en nitrógeno.

IV.2.3. Determinación de aminoácidos libres (AAL)

A partir de la fracción WSN de cada una de las muestras de queso se realiza una precipitación selectiva según la técnica publicada por Jones *et al.* (1981), empleando ácido sulfosalicílico al 10%, se refrigera a 1°C 17 horas y filtra (poro 0,2 mm). El filtrado se derivatiza en una columna con oftaldialdehído (OPA) según el mismo autor. Luego se mezclan 25 mg de OPA en 625 µL de metanol absoluto, 25 µL de 2-mercaptoetanol y 5,6 mL de borato sódico 0,4 M. Se deja en oscuridad 24 horas antes de su uso y se adiciona 5 µL de 2-mercaptoetanol cada dos días para mantener la fuerza del reactivo. La “Precolumn derivatization” se realiza mezclando 25 µL de muestra + 25 µL de solución de sodio dodecil sulfato (SDS) al 2% en borato sódico 0,4M (pH= 9,5) + 25 µL de solución de OPA, se deja reaccionar 1 min y la reacción se detiene con 50µL del buffer fosfato potásico 0,1M (pH 4,6). El volumen de inyección de la mezcla es de 20 µL.

Para la separación cromatográfica se utiliza una columna eclipse XDB-C18 (5µ/4,6x250m/m), acondicionada a 30°C. La configuración del detector de fluorescencia (RF-10A XL) es la siguiente: excitación: 340 nm, emisión: 450 nm, respuesta: 0,5 s, ganancia: x1 y sensibilidad: media.

El gradiente de elución usado para la separación de los derivados del OPA fue: solvente A: tetrahidrofurano: metanol: acetato sódico 0,05 M y pH 5,9 (1:19:80), y solvente B: metanol: acetato sódico 0,05 M y pH 5,9 (80:20). El programa de gradientes fue definido de la forma siguiente: composición inicial 0 % B, paso isocrático a 0% de B durante 1 minuto, paso lineal hasta 14 % de B en 5 minutos, paso isocrático de 14 % de B durante 5 minutos, paso lineal hasta 50 % de B en 5 minutos, paso isocrático de 50 % de B durante 4 minutos, paso lineal hasta 100 % de B en 12 minutos, paso isocrático de 100 % B durante 8 minutos. El flujo de operación se fijó en 1,2 mL.min⁻¹.

Finalmente los aminoácidos libres son identificados de acuerdo a sus tiempos de retención mediante comparación con el cromatograma de la solución estándar. En este estudio la muestra se inyecta una vez y por lo tanto los AAL no se estudian estadísticamente.

IV.2.4. Determinación de ácidos grasos libres (AGL)

Los ácidos grasos libres en la grasa de quesos se determinan mediante el método detallado por Chávarri *et al.* (1997).

A 1 g de queso se triturado se le agregan 3g de sulfato sódico anhidro luego se le adicionan 0,3 mL de H₂SO₄ 2,5 M y finalmente añadieron 1 mL de la solución del patrón interno. La solución del estándar interno constituido por ácidos pentanoico (C_{5:0}), nonanoico (C_{9:0}) y heptadecanoico (C_{17:0}). Los lípidos fueron extraídos tres veces con 3 mL de éter dietílico- heptano (1:1 v/v). Después de cada extracción, la solución fue clarificada por centrifugación. Las fases orgánicas fueron recolectadas e introducidas en una columna de fase aminopropil-consolidado, previamente equilibrada con 10 mL de heptano. Los triglicéridos (TG) se eluyeron con 10 mL de cloroformo propanol (2:1, v/v) y los ácidos grasos libres (AGL) se eluyeron con 5 mL de éter dietílico que contiene 20 mL de ácido fórmico. La separación de los TG de los AGLs en el eluyente fue realizada por capa cromatografía fina en placas de gel de sílice, usando trihexadecanoín, ácidos octanoico y hexadecanoico como estándares. La fracción de AGL de la columna

de fase aminopropil-unida se inyecta directamente en el cromatógrafo de gases (modelo 5890, serie II, equipado con detector de llama de ionización (Hewlett Packard, E-28230, Las Rozas, Madrid, España). Los AGLs individuales no derivatizados se separaran en una columna capilar de sílice fundida (25 m x 0,32 mm) revestida con una película de polietilenglicol de 0,52 μm de espesor. La velocidad de flujo de gas (helio) fue de 2 mL.min⁻¹, la temperatura se incrementó desde 65 hasta 240°C con 10°C.min⁻¹, después se mantiene a 240°C durante 20 min. Se determinaron los factores de respuesta para cada ácido graso individualmente con los ácidos grasos libres C_{5:0}, C_{9:0} y C_{17:0} como estándares introducidos.

IV.3. Análisis estadístico

El programa estadístico empleado ha sido el Minitab software (versión 16, Minitab Inc. USA) y análisis de ANOVA para el análisis de variaciones significativas entre muestras y estudios, test de Tukey para los niveles menores a 0.05 y análisis de contrastes del software STATISTIX.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Influence of ripening on proteolysis and lipolysis of Murcia al Vino cheese

Khalid Boutoial, Yanilka Alcántara, Silvia Rovira, Víctor García, Eduardo Ferrandini, M^a Belén López

International Journal of Dairy Technology (2013^a), 66: 366-372

Doi: 10.1111/1471-0307.12024

ABSTRACT:

The aim of this study was to evaluate the influence of five different manufacturers and two ripening periods on the proteolysis and lipolysis patterns of Murcia al Vino goat cheese. The manufacturers significantly affected the water activity (a_w), pH, dry matter and fat content, several nitrogen fractions: water soluble nitrogen (WSN), trichloroacetic acid (12% w/v) soluble nitrogen (TCASN) and phosphotungstic acid (5% w/v) soluble nitrogen (PTASN); also the free amino acid (FAA) and free fatty acid (FFA) contents, with the exception of C_{4:0}, C_{16:0} and C_{18:0}. Different ripening periods significantly affected the dry matter content, WSN and PTASN and all FAA, except serine.

En el presente artículo he sido responsable de la preparación de muestras, los análisis fisicoquímicos y el tratamiento de datos mediante el análisis estadístico de los resultados bajo de la supervisión del Dr. Eduardo Ferrandini. Asimismo, he redactado el manuscrito con la ayuda de Dra. Silvia Rovira y bajo de la supervisión de Dra. M^a Belén López Morales, y he realizado las modificaciones propuestas por los revisores y el editor de la revista International Journal of Dairy Technology.

Coautores:

Dña Yanilka Alcántara

- Alumna de Máster de Tecnología de los Alimentos
- *Dirección:* Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo E-30071, Murcia, España
- *e-mail:* yanilka.alcantara@hotmail.com
-

Dra. Silvia Rovira

- Becaria del ministerio de Educación, Cultura y Deporte
- *Dirección:* Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo E-30071, Murcia, España
- *e-mail:* silvia.rovira@um.es

D. Victor García

- Doctorando de la Universidad de Murcia
- *Dirección:* Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo E-30071, Murcia, España
- *e-mail:* victor.garcia1@um.es

Dr. Eduardo Ferrandini

- Profesor contratado doctor de la Universidad de Murcia
- *Dirección:* Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo E-30071, Murcia, España
- *e-mail:* eferrand@um.es

Dra. M^a Belén López

- Profesora Titular de la Universidad de Murcia
- *Dirección:* Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo E-30071, Murcia, España
- *e-mail:* mbelen@um.es

Effect of feeding goats with rosemary (*Rosmarinus officinalis* spp.) by-product on milk and cheese properties

Khalid Boutoial, Eduardo Ferrandini, Silvia Rovira, Víctor García, M^a Belén López

Small Ruminant Research (2013^b), 112: 147-153
<http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.12.002>

ABSTRACT:

The aim of this work was to study the influence on the physicochemical composition and somatic cells count (SCC) of pasteurized goat milk and Murcia al Vino cheese from supplements goat feed with different levels (10 and 20%) of distilled *Rosmarinus officinalis* spp. leaves. The 20% of rosemary supplementation reduced the milk clotting time, dry matter and lactose milk content. The 10% of rosemary supplementation decreased the percentage of C₁₄ and increased the C_{18:2} and PUFA content, while the 20% rosemary supplementation decreased the C₁₀ and C₁₄ content, and increased the percentage of C₁₇, C_{18:2} and PUFA. Significant differences were observed for the protein content, pH and aw of cheeses from the 20% rosemary supplementation. No significant differences were determined for cheese yield, microbiological count and sensory parameters, except for odor between the control and the cheese manufactured with milk from the 10% supplementation group. It is concluded that the milk obtained after rosemary supplementation can be regarded as healthier and shows greater technological suitability for cheese making.

En el presente artículo, he realizado los análisis fisicoquímicos de la leche y quesos así como la expresión de los resultados y análisis estadísticos con la ayuda del profesor Eduardo Ferrandini y Dra. Silvia Rovira, he sido el responsable de la redacción del manuscrito bajo de la dirección de la Dra. M^a Belén López Morales. Realizando todas las modificaciones que los revisores propuesto para la aceptación de este artículo a la publicación en la revista Small Ruminant Research.

Coautores:

Dr. Eduardo Ferrandini

- Profesor contratado doctor de la Universidad de Murcia
- *Dirección:* Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo E-30071, Murcia, España

- *e-mail*: eferrand@um.es

Dra. Silvia Rovira

- Becaria del ministerio de Educación, Cultura y Deporte
- *Dirección*: Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo E-30071, Murcia, España
- *e-mail* :silvia.rovira@um.es

D. Víctor García

- Doctorando de la Universidad de Murcia
- *Dirección*: Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo E-30071, Murcia, España

e-mail: victor.garcia1@um.es

Dra. M^a Belén López

- Profesora Titular de la Universidad de Murcia
- *Dirección*: Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo E-30071, Murcia, España
- *e-mail*: mbelen@um.es

**Effect of feeding goats with distilled and non distilled thyme leaves
(*Thymus zygis subsp gracilis*) on milk and cheese properties**

Khalid Boutoial, Victor García, Silvia Rovira, Eduardo Ferrandini, Abdelkhalek
Oussama and María Belén López

Journal of Dairy Research (2013^c), 80: 448–456

Doi: 10.1017/S0022029913000459

ABSTRACT:

The aim of this study was to evaluate the effect of feeding goats with distilled and non distilled thyme leaves (*Thymus zygis subsp gracilis*) on the physicochemical composition and technological properties of pasteurized goat milk, and on the physicochemical composition, phenolic content, oxidative stability, microbiology, sensory and texture profile of Murcia al Vino goat cheese. One group of goats was fed the basal diet (control), the second and third groups were fed with different levels of distilled (10 and 20%) or non distilled (3.75 and 7.5%) thyme leaves. Goat milk physicochemical composition was significantly affected by the substitution of 7.5% of basal goat diet with non distilled thyme leaves (increase in fat, protein, dry matter and PUFA content), while goat milk clotting time was increased significantly by the introduction of 20% distilled thyme leaves, which reduces its technological suitability. Microbiology, sensory and texture profiles were not affected by the introduction of distilled thyme leaves. The introduction of distilled and non distilled thyme leaves as an alternative feed to diet can lead to an inhibition of lipids oxidation. The introduction of distilled and non distilled thyme leaves into goat's diet can be successfully adopted as a strategy to reduce feeding costs and to take advantage of the waste from the production of essential oils, minimizing waste removing costs and the environmental impact.

En el presente artículo, mi participación ha estado centrada en la realización de los análisis físicoquímicos de la leche y los quesos, así como en el tratamiento de los datos obtenidos relacionados a la leche con la ayuda del profesor Eduardo Ferrandini y Dra. Silvia Rovira que también han participado en la expresión de los resultados y análisis estadísticos realizados. La redacción del manuscrito lo he realizado bajo de la dirección de la Dra. M^a Belén López Morales y Dr. Oussama Abdelkhalek. Siendo responsable de realizar las modificaciones que los revisores han propuesto para la aceptación de este artículo a la publicación en la revista Journal of Dairy Research.

Coautores:

D. Víctor García

- Doctorando de la Universidad de Murcia
- *Dirección:* Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo E-30071, Murcia, España
- *e-mail:* victor.garcia1@um.es

Dra. Silvia Rovira

- Becaria del ministerio de Educación, Cultura y Deporte
- *Dirección:* Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo E-30071, Murcia, España
- *e-mail* :silvia.rovira@um.es

Dr. Eduardo Ferrandini

- Profesor contratado doctor de la Universidad de Murcia
- *Dirección:* Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo E-30071, Murcia, España
- *e-mail:* eferrand@um.es

Dr. Oussama Abdelkhalek

- Profesor Titular de la Faculté des Sciences et Techniques de Beni mellal Université Sultan Moulaye Slimane
- Département de Chimie et Environnement Faculté des Sciences et Techniques de Beni mellal Université Sultan Moulaye Slimane. Beni Mellal- Marruecos
- *e-mail:* oussamaabdelkhalek@yahoo.fr

Dra. M^a Belén López

- Profesora Titular de la Universidad de Murcia
- *Dirección:* Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo E-30071, Murcia, España
- *e-mail:* mbelen@um.es

Influence of feeding goats with thyme and rosemary extracts on the physicochemical and sensory quality of cheese and pasteurized milk

Khalid Boutoial, Silvia Rovira, Víctor García, Eduardo Ferrandini, M^a Belén López

Nova Science Publisher, Goats: Habitat, Breeding and Management, Diego E. Garrote and Gustavo J. Arede (2012):125-136.

ISBN: 978-1-61942-932-1

ABSTRACT:

The use of natural antioxidants and flavonoids from byproducts derived from aromatic plants can be considered as an alternative to using synthetic antioxidants in the food and pharmaceutical industries. In this sense, feeding goats with aromatic plant byproducts constitutes an interesting option for goat husbandry which increase the quality of the final products while reducing feeding costs. In this chapter feeding goats with *Thymus zygis* spp. and *Rosmarinus officinalis* spp. by-products was studied to determine the influence on the physicochemical composition (dry matter, fat and lactose content), cryoscopic point, somatic cells count of pasteurized goat milk, and on the physicochemical composition, microbiology and sensorial analysis of Murcia al Vino cheese as a goat-derived product. In milk significant differences were observed in dry matter, protein and lactose contents while no significant differences were showed in fat, somatic cell count or cryoscopic point. In Murcia al Vino goat cheese no significant differences were determined in any of the physicochemical and microbiological parameters, although significant differences were observed after the sensory analysis, mainly in texture, taste and overall acceptance. The cheese produced with goat milk supplemented with *Thymus zygis* spp by-products showed higher overall acceptance. Both products can be considered of interest for contributing to the range of healthy foods increasingly demanded by consumers.

En el presente artículo participe en el diseño experimental, puesta a punto de la metodología y en la realización de análisis físicoquímicos a los quesos elaborados. He procesado y analizando las estadísticas de datos obtenidos en colaboración con Dra Silvia Rovira y Víctor García, realicé el conjunto del análisis experimental con la colaboración del doctor Eduardo Ferrandini, el análisis estadístico y su interpretación. Redacción del manuscrito bajo la

supervisión de la Dra. M^a Belén López Morales y realicé todas las modificaciones que los editores del libro solicitaron.

Coautores:

Dra. Silvia Rovira

- Becaria del ministro de educación
- *Dirección:* Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo E-30071, Murcia, España
- *e-mail:* silvia.rovira@um.es

D. Víctor García

- Doctorando de la Universidad de Murcia
- *Dirección:* Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo E-30071, Murcia, España
- *e-mail:* victor.garcia1@um.es

Dr. Eduardo Ferrandini

- Profesor contratado doctor de la Universidad de Murcia
- *Dirección:* Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo E-30071, Murcia, España
- *e-mail:* eferrand@um.es

Dra. M^a Belén López

- Profesora Titular de la Universidad de Murcia
- *Dirección:* Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo E-30071, Murcia, España
- *e-mail:* mbelen@um.es

VI. RESUMEN GLOBAL

El Queso de Murcia al Vino es uno de los quesos de cabra más significativos de España, esta afirmación se confirma por el elevado volumen de exportación en los últimos años. Según el informe del Consejo Regulador de los Quesos de Murcia y Murcia al Vino, en el año 2011 la cifra de exportación fue de 244.616 kg, siendo Estados Unidos el mayor importador de este tipo de queso (71,36% de la producción total). Estas cifras son un exponente de la calidad alcanzada por este queso de cabra, que se define como un queso tierno, cremoso, con aroma láctico, suave y corteza característica violácea debido a los baños de vino tinto doble pasta que recibe. Desde su inicio el Consejo Regulador de las Denominaciones de Origen ha tenido como objetivo la mejora de la calidad para lo que ha contado con la colaboración de la Universidad de Murcia, concretamente del Grupo de Investigación E-098-04, fruto de esta colaboración es la presente Memoria de Tesis Doctoral.

Uno de los primeros estudios realizados constituye el primer artículo de esta Memoria de Tesis Doctoral (Boutoial *et al.*, 2013^a) donde se analizan los resultados derivados del análisis de la influencia de la maduración y el establecimiento elaborador en los parámetros fisicoquímicos, proteólisis y lipólisis del Queso de Murcia al Vino. Los resultados del estudio determinan que el establecimiento elaborador modifica significativamente el contenido de materia seca, pH, grasa y a_w , no variando el contenido en proteína. Se observa una gran heterogeneidad en los valores de los parámetros fisicoquímicos estudiados, que puede ser debida a las variaciones de la materia prima utilizada y a modificaciones tecnológicas del proceso de elaboración. El pH más alto observado en los quesos objeto de este estudio puede ser debido a la baja actividad fermentativa de la flora microbiana ó a un intenso lavado de la cuajada. No obstante los valores de pH observados en este estudio son inferiores a los determinados por Tejada *et al.* (2008) para el mismo tipo de queso después de 60 días de maduración.

En relación con la proteólisis, el establecimiento elaborador condiciona los resultados obtenidos para las fracciones nitrogenadas (solubles en agua, ácido tricloroacético y en ácido fosfotúngstico). Los elevados valores de la fracción soluble en agua (WSN) pueden estar relacionados con la actividad residual del cuajo así como con la acción de proteinasas endógenas de la leche en la matriz del

queso, indicando que valores elevados de WSN reflejan una mayor actividad proteolítica en el queso (Ferrandini *et al.*, 2011).

Se observa que el nivel de maduración influye significativamente en los valores de la fracción soluble en agua (WSN) y ácido fosfotúngstico (PTASN), no influyendo en los valores alcanzados de la fracción soluble en ácido tricloroacético (TCASN). Los niveles de WSN, TCASN y PTASN obtenidos en este estudio no difieren de los publicados por López *et al.* (2012) para el mismo queso de 45 días de maduración. Asimismo, se ha observado que no hay modificación de los parámetros indicadores de proteólisis hasta los 80 días, con un contenido de aminoácidos libres similares a los obtenidos para el mismo queso por Abellán *et al.* (2012). No obstante una vez que se superan los 80 días de maduración, aumenta la actividad proteolítica en los quesos, que favorece la generación de sabores y texturas no deseadas para este tipo de queso. En este sentido, se observa un incremento de las concentraciones de aminoácidos libres, particularmente aquellos responsables del sabor amargo como la histidina.

En relación con el perfil de ácidos grasos de los quesos analizados en este estudio, se determina que el establecimiento elaborador influye significativamente en el contenido de los ácidos grasos libres (AGL) con la excepción de C₄, C₁₈ y C_{16:1}. El establecimiento elaborador modifica significativamente el contenido de los ácidos grasos de cadena media (AGCM) y de cadena larga (AGCL), no modificando el contenido en ácidos grasos de cadena corta (AGCC) e insaturados (AGI). El grado de maduración de los quesos influye significativamente en el contenido de ácidos grasos de cadena corta, la concentración más elevada de estos ácidos grasos se alcanza entre los 80-100 días de maduración, modificando el perfil sensorial de los quesos obtenidos ya que da lugar a la aparición de un sabor picante no característico de esta variedad de quesos.

Actualmente, existe un interés creciente en la incorporación de compuestos secundarios presentes en plantas aromáticas como herramientas para mejorar la calidad de la leche y la carne. A esta nueva tendencia hay que unirle el aumento de la demanda de alimentos saludables de los consumidores, que al mismo tiempo

rechazan el empleo/incorporación de antioxidantes sintéticos en los mismos, por los efectos perjudiciales que los mismos puedan ejercer en la salud humana. En la Región de Murcia el Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (IMIDA) ha realizado estudios de caracterización de plantas aromáticas y en colaboración con la Universidad de Murcia plantearon un proyecto de investigación centrado en la introducción de subproductos y hojas frescas de plantas aromáticas en la dieta de cabras de raza Murciano-Granadina para evaluar el efecto en la leche y el queso elaborado a partir de las mismas, dicho estudio ha constituido el pilar sobre el que se han sustentado los artículos restantes de esta Memoria de Tesis Doctoral.

La inclusión de plantas aromáticas y/o sus subproductos ha sido aplicado con éxito en la alimentación animal con el objetivo de mejorar la calidad de productos alimentarios (Savoini *et al.*, 2003; Jordán *et al.*, 2010; Nieto *et al.*, 2010-2011-2012; Chiofalo *et al.*, 2012). Además, la Región de Murcia se caracteriza por una elevada producción de aceites esenciales de plantas aromáticas, cuyos subproductos derivados de la destilación generan grandes problemas medioambientales. Por este motivo se plantea la reutilización de dichos subproductos con el fin de mejorar la calidad de la leche y proporcionar un valor añadido a la leche y Queso de Murcia al Vino.

El segundo objetivo de esta Tesis Doctoral (Boutoial *et al* 2013^b) consiste en evaluar la influencia de la sustitución de 10% y 20% de la dieta basal de cabras (Murciano-Granadina en sus periodos de lactación) con subproductos del romero (*Rosmarinus officinales* spp.) en leche pasteurizada y Queso de Murcia al Vino. En este estudio se determinan los siguientes parámetros fisicoquímicos y tecnológicos: punto crioscópico, rendimiento quesero y tiempo de coagulación, recuento de células somáticas, ácidos grasos totales en leche, análisis fisicoquímicos y sensoriales del queso. Se determina que el contenido de proteína y grasa de la leche pasteurizada de cabra no se modificó por la introducción del subproducto de romero en la dieta. Estos resultados coinciden por lo señalado por Savoini *et al.* (2003), cuando suplementan la dieta de cabras de la raza Saanen con extracto de romero (6% y 12% en la dieta basal) aunque difieren en el

comportamiento de la materia grasa de la leche procedente de dicha suplementación. El contenido de materia seca y lactosa de leche disminuyen por la suplementación de la dieta con 20% de subproducto de romero.

El recuento de células somáticas (SCC) no se modifica por la suplementación de la dieta con subproducto de romero, obteniendo en este estudio valores inferiores a los determinados por las organizaciones internacionales (FDA; Food and Drug Administration). No obstante, se determina un menor tiempo de coagulación en la leche obtenida de la suplementación de la dieta de cabras con un 20% de subproducto de romero al 20%, por lo que da lugar a una cuajada más firme que el resto de muestras de leche (control y 10% de suplementación). Según Chiofalo *et al.* (2012) la suplementación con un mayor porcentaje de romero se relaciona con menor tiempo de coagulación de la leche, que puede proporcionar una mayor aptitud tecnológica de la leche para la elaboración de queso, ya que según Calvo *et al.* (2003) el proceso de coagulación de la leche es uno de los principales parámetros a considerar durante la fabricación del queso.

La suplementación de la dieta de cabras con subproductos de romero (10% y 20%) no modificó el contenido de ácidos grasos saturados (SFA), pero incrementó el contenido de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA). Estos resultados coinciden con los resultados publicados por Zhao *et al.* (2008), que introdujo la vitamina E como antioxidante en la dieta de vacas Holstein. Asimismo, Gillian *et al.* (2008), explican que las dietas que tienen un nivel más alto de ácidos grasos saturados pueden estar asociados con enfermedades cardiovasculares, siendo recomendable el consumo de dieta ricas en ácidos grasos poliinsaturados. En este trabajo se concluye que la suplementación de la dieta de cabras con subproductos del romero proporciona un valor añadido a la leche obtenida y supone un beneficio para el consumidor.

En relación con la composición fisicoquímica de los quesos obtenidos después de la suplementación de la dieta con subproductos del romero, se determina que la suplementación con ambas concentraciones no modifica el

contenido graso del Queso de Murcia al Vino, modificando los valores de pH, proteínas y a_w . El valor de pH más elevado se determina en los quesos elaborados con leche procedente de dietas suplementadas, resultado que pueden estar relacionado con un menor grado de fermentación resultado de la actividad antimicrobiana de los compuestos polifenólicos del romero, lo que reduce la concentración de ácido láctico retenida en la cuajada del queso. Sin embargo, la administración del romero en la dieta de cabras no afecta los parámetros microbiológicos estudiados del queso ya que no se observan diferencias significativas entre los quesos control y los derivados de la leche obtenida tras la suplementación.

El análisis sensorial de los quesos a través de un panel de cata entrenado y observó que la dureza de los quesos elaborados con leche obtenida tras el 10% de la suplementación de la dieta fue superior a la alcanzada por los quesos control y aquellos derivados de una dieta suplementada con 20% de subproducto de romero, esta mayor dureza observada difiere de las características texturales que deben de poseer el Queso de Murcia al Vino, que se caracteriza por una textura elástica y cremosa (Abellán *et al.*, 2012). El sabor residual del queso producido tras suplementar la dieta con 10% de subproducto de romero se puntuó más alto en comparación con el queso control y derivado tras suplementar la dieta con 20%, que confirma el fuerte sabor residual percibido por los panelistas en el queso elaborados con leche cuya dieta ha sido suplementada con 10% de romero, este resultado difiere del obtenido por El-Din *et al.* (2010), donde las puntuaciones más elevadas se obtuvieron en quesos que habían sido suplementados con extracto de romero.

El tercer objetivo de esta Tesis Doctoral se alcanza con los resultados derivados del tercer artículo (Boutoial *et al.*, 2013^c), donde se evalúa el efecto de la suplementación de la dieta de cabras de la raza Murciano-Granadina con hoja de tomillo (*Thymus zygis* subsp *gracilis*) destiladas (10% y 20%) o frescas (3,75% y 7,5%) sobre parámetros fisicoquímicos, tecnológicos y perfil de ácidos grasos totales de la leche así como los parámetros fisicoquímicos, sensoriales, textura y la estabilidad oxidativa del Quesos de Murcia al Vino elaborados. En este trabajo

se determina que todas las suplementaciones con hojas de tomillo destilado o sin destilar afectan a todos los parámetros fisicoquímicos de las leches producidas, obteniendo diferencias estadísticamente significativas en el tiempo de coagulación de la leche entre el control y las leches derivadas de dietas suplementadas. Las leches producidas por cabras alimentadas con dietas suplementadas con hojas de tomillo destiladas exhiben un tiempo de coagulación menor que la leche control y que aquellas suplementadas con hojas de tomillo sin destilar y por lo tanto se concluye que la suplementación con hojas destiladas de tomillo da lugar a la obtención de leche que exhibe una mayor aptitud tecnológica para la elaboración de queso.

Los valores de ácidos grasos poliinsaturados son significativamente superiores en leche de cabras alimentadas con dietas suplementadas frente a la leche control. Los resultados coinciden con lo señalado por Kraszewski *et al.* (2004), que introdujo una mezcla de hierbas (hierbabuena (*Mentha piperita* L.), pensamiento silvestre (*Viola tricolor* L.), manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.), ortiga (*Urtica dioica* L.), milenrama (*Achillea millefolium* L.) y tomillo francés (*Thymus vulgaris* L.)) ricas en antioxidantes en la dieta de vacas lecheras. La introducción del tomillo en la dieta podría inhibir la oxidación de los dobles enlaces de los ácidos grasos poliinsaturados de la leche, posiblemente debido a la acción de los compuestos fenólicos del tomillo transferidos de la dieta.

De forma similar a la leche, la suplementación de la dieta de cabras con hojas destiladas o sin destilar del tomillo modifica estadísticamente los parámetros fisicoquímicos de los quesos obtenidos. En comparación con otros trabajos realizados (Foda *et al.*, 2010; Abbeddou *et al.*, 2011) se puede afirmar que la inclusión de hojas de tomillo fresco en las dietas de cabra tiene un efecto diferente al obtenido aplicando aceites esenciales o plantas aromáticas. Se determina además que la suplementación con tomillo no afecta a los parámetros microbiológicos del queso analizados. Los resultados de este trabajo difieren con los resultados publicados por Smith *et al.* (2001) que determinan la inhibición del crecimiento de algunos microorganismos como resultado de una suplementación con aceites esenciales del *Thymus vulgaris* en queso de pasta blanda.

Se determinan diferencias significativas en el contenido de compuestos fenólicos totales (expresados en mg equivalentes de ácido gálico) donde el valor superior se determina en el queso suplementado con 7,5% de hojas de tomillo sin destilar. Jordán *et al.* (2010) determinan la transferencia de los compuestos fenólicos del romero procedentes de la dieta de cabras a la leche, que coincide por lo valores determinados en nuestro estudio ya se observa que los compuestos fenólicos del tomillo pasan de la dieta a la leche y posteriormente al queso elaborado a partir de las mismas.

Otros estudios realizados con extractos o aceites esenciales de tomillo confirman el poder de estos componentes como antioxidantes y antimicrobianos (retrasan la formación de radicales libres) (Rota *et al.*, 2008; Nieto *et al.*, 2012). Los resultados derivados de nuestro estudio muestran diferencias significativas en el contenido de ácido tiobarbitúrico (TBARs) en todos los quesos suplementados, en comparación con el queso control, indicando que los polifenoles que se transfieren de la dieta de cabras a la leche y al queso retrasan la formación de radicales libres que disminuye la oxidación del queso. Además, se determina que la mayor protección del queso frente a la oxidación se alcanza en aquellos quesos que tienen un elevado nivel de polifenoles y que proceden de una suplementación de la dieta de cabras con 7,5% de tomillo sin destilar. Por lo tanto, es posible administrar el tomillo destilado y sin destilar como una alternativa a los granos en la dieta de cabras con el fin de aumentar la estabilidad oxidativa del Queso Murcia al Vino.

El análisis sensorial de los Quesos de Murcia al Vino suplementados y el control fueron analizados por un panel entrenado y los resultados demostraron que el queso mejor valorado por los panelistas fue el queso producido a partir de leche suplementada con 20% de hojas de tomillo destilado, con mayores puntuaciones en la fase olfato-gustativa. Aunque, los quesos producidos tras la suplementación de la dieta con 7,5% del tomillo sin destilar tenían una mayor estabilidad a la oxidación y mejor perfil fisicoquímico fue el menos valorado por el panel de cata.

El cuarto artículo de esta Memoria de Tesis Doctoral (Boutoial *et al.*, 2012) compara la influencia de la suplementación de la dieta de cabras de la raza Murciano-Granadina con subproductos de la extracción del romero (*Rosmarinus officinales*) y el tomillo (*Thymys zygis* sub *gracilis*) en la leche y Queso de Murcia al Vino. No se determinan diferencias estadísticamente significativas en los parámetros fisicoquímicos estudiados de leche derivada de la suplementación de la dieta, sin embargo la incorporación de subproductos derivados del tomillo disminuye el extracto seco y materia grasa de la leche. La suplementación de la dieta no modifica las características fisicoquímicas y microbiológicas estudiadas en los Quesos de Murcia al Vino elaborados.

El análisis sensorial realizado de los quesos observamos que no existen diferencias significativas en los atributos sensoriales estudiados, excepto para la textura y sabor alcanzando los quesos obtenidos con la leche de animales suplementados con subproductos del tomillo valores más elevados en dichos atributos, al igual que en la valoración global de los mismos. Podemos concluir que en base a la aceptación general el queso procedente de la leche derivada de la suplementación de la dieta con subproducto del tomillo es el queso más apreciado por los expertos catadores.

VII. CONCLUSIONES

PRIMERA: El establecimiento elaborador del Queso de Murcia al Vino influye significativamente en la composición físico-química, excepto en el contenido de proteína, así como en la proteólisis y lipólisis de los quesos estudiados.

SEGUNDA: La evolución de los parámetros fisicoquímicos, proteólisis y lipólisis durante la maduración del Queso de Murcia al Vino, indica que un periodo de maduración de 80 días no modifica el perfil fisicoquímico de los quesos estudiados, mientras que un tiempo de maduración superior da lugar a la aparición de aminoácidos y ácidos grasos libres responsables de sabores desagradables en el queso.

TERCERA: La suplementación de la dieta de cabras de raza Murciano-Granadina con 20% de subproductos de romero modifica el perfil lipídico de la leche, incrementando el contenido de ácidos grasos poliinsaturados y aumentando la adaptabilidad tecnológica de dicha leche.

CUARTA: El Queso de Murcia al Vino elaborado a partir de leche de cabras alimentadas con dieta suplementada con subproducto del romero, muestra diferencias en las características organolépticas de los quesos elaborados, alcanzando mejores puntuaciones en la valoración global los quesos elaborados con leche procedente de animales suplementados con 20% de subproductos derivados del romero frente al 10% de suplementación.

QUINTA: La suplementación de la alimentación de cabras de raza Murciano-Granadina con hojas de tomillo destilado o sin destilar modifica los parámetros fisicoquímicos estudiados e incrementa el contenido de compuestos fenólicos en la leche.

SEXTA: La inclusión de hojas de tomillo sin destilar en la dieta de cabras de raza Murciano-Granadina produce leche con mayor contenido en ácidos grasos poliinsaturados, mejorando la aptitud tecnológica de la leche al suplementar con

subproductos destilados del tomillo siendo los quesos derivados de esta suplementación los mejor valorados por el panel de catadores.

SÉPTIMA: La suplementación de la dieta de cabras de raza Murciano-Granadina con subproductos del tomillo ó de romero influye en la composición físico-química de la leche pero no en los parámetros fisicoquímicos del queso elaborado a partir de la misma. Se determina que el queso más apreciado por los expertos catadores es aquel derivado de la suplementación de la dieta con subproductos del tomillo.

OCTAVA: La suplementación de la dieta de cabras Murciano-Granadina con subproductos de tomillo y/o romero es un posible estrategia a adoptar por el sector productivo para reducir costes de alimentación animal así como para la obtención de productos con valor añadido para el consumidor.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Abbeddou, S., Rischkowsky, B., Richter E. K., Hess, H. D., Kreuzer M (2011). Modification of milk fatty acid composition by feeding forages and agro-industrial byproducts from dry areas to Awassi sheep. *Journal of Dairy Science*, 94: 4657–4668.
- Abellán, A., Tejada, L., Pino, A., Martínez-Cachá, A., Salazar, E., Cayuela, J. M (2012). Free amino acid content of goat's milk cheese made with animal rennet and plant coagulant. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92: 1657–1664.
- Abu-Ghazaleh, A. A., Schingoethe, D. J., Hippen, A. R (2001). Blood amino acids and milk composition from cows fed soybean meal, fish meal, or both. *Journal of Dairy Science*, 84: 1174–1181.
- Abu-Ghazaleh, A., Schingoethe, D. J., Hippen, A. R., Whitlock, L. A (2002). Feeding fish meal and extruded soybeans enhances the conjugated linoleic acid (CLA) content of milk. *Journal of Dairy Science*, 85: 624-631.
- Agabriel, C., Martin, B., Sibra, C., Bonnefoy, J. C., Montel, M. C., Didiene, R., Hulin, S (2004). Effect of dairy production system on the sensory characteristics of Cantal cheeses: A plant-scale study. *Animal Research*, 53: 221–234.
- Aguilera, J. F., Molina, E (1991). Utilisation des sous-produits de l'olivier dans l'alimentation des ovins. In: *Fourrages et sous-produits méditerranéens*. Ed. CIHEAM, Zaragoza, pp. 163-166.
- Alipour, D., Rouzbehan, Y (2007). Effects of ensiling grape pomace and addition of polyethylene glycol on *in vitro* gas production and microbial biomass yield. *Animal Feed Science and Technology*, 137: 138–149.

Al-Jassim, R. A. M., Awadeh, F. T., Abodabos, A (1997). Supplementary feeding value of urea-treated olive cake when fed to growing Awasi lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 64: 287–292.

Allred, S. L., Dhiman, T. R., Brennand, C. P., Khanal, R. C., McMahan, D. J., Luchini, N. D (2006). Milk and cheese from cows fed calcium salts of palm and fish oil alone or in combination with soybean products. *Journal of Dairy Science*, 89: 234–248.

AlZahal, O., Odongo, N. E., Mutsvangwa, T., Or-Rashid, M. M., Duffield, T. F., Bagg, R., Dick, P., Vessie, G., McBride, B. W (2008). Effects of monensin and dietary soybean oil on milk fat percentage and milk fatty acid profile in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91: 1166–1174.

Ariza, P., Bach, A., Stern, M. D., Hall, M. B (2001). Effects of carbohydrates from citrus pulp and hominy feed on microbial fermentation in continuous culture. *Journal of Animal Science*, 79: 2713–2718.

Avramis, C. A., Wang, H., McBride, B. W., Wright, T. C., Hill, A. R (2003). Physical and processing properties of milk, butter, and cheddar cheese from cows fed supplemental fish meal. *Journal of Dairy Science*, 86: 2568–2576.

Bampidis, V. A., Robinson, P. H (2006). Citrus by-products as ruminant feeds:

A review. *Animal Feed Science and Technology*, 128: 175–217.

Baruah, K. K (1997). Effect of supplementation of decaffeinated tea waste on the yield and composition of milk in lactating crossbred cows. *Indian Veterinary Journal*, 74: 80–482.

Bath, D. L., Dunbar, J. R., King, J. M., Berry, S. L., Leonard, R. O., Olbrich, S. E (1980). By-products and unusual feedstuffs in livestock rations. Western Regional Extension Publication No. 39. USDA-ARS, Washington, DC, USA.

Bauman, D. E., Griinari, J. M (2001). Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livestock production science*, 70: 15-29.

Belibasakis, N. G., Tsirgogianni, D (1996). Effects of dried citrus pulp on milk yield, milk composition and blood components of dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 60: 87-92.

Bell, J. A., Griinari, J. M., Kennelly J. J (2006). Effect of safflower oil, flaxseed oil, monensin, and vitamin E on concentration of conjugated linoleic acid in bovine milk fat. *Journal of Dairy Science*, 89: 733–748.

Ben Salem, H., Nefzaoui, A (2003). Review: Feed blocks as alternative supplements for sheep and goats. *Small Ruminant Research*, 49: 275–288.

Ben Salem, H., Smith, T (2008). Feeding strategies to increase small ruminant production in dry environments. *Small Ruminant Research*, 77: 174–194.

Benchaar, C., Romero-Pérez, G. A., Chouinard, P. Y., Hassanat, F., Eugene, M., Petit, H. V., Côrtes, C (2012). Supplementation of increasing amounts of linseed oil to dairy cows fed total mixed rations: Effects on digestion, ruminal fermentation characteristics, protozoal populations, and milk fatty acid composition. *Journal of Dairy Science*, 95: 4578–4590.

Bendich, A (1993). Physiological role of antioxidants in the immune system. *Journal of Dairy Science*, 76: 2789-2794.

Ben-Ghedalia, D., Yosef, E., Miron, J., Est, Y (1989). The effects of starch- and pectin-rich diets on quantitative aspects of digestion in sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 24: 289–298.

Bernard, L., Rouel, J., Leroux, C., Ferlay, A., Faulconnier, Y (2005). Mammary lipid metabolism and milk fatty acid secretion in Alpine goats fed vegetable lipids. *Journal of Dairy Science*, 88: 1478–1489.

Bidat, E., Rancé, F., Baranés, T., Goulmhoussen, S (2003). Goat's milk and Sheep's milk allergies in children in the absence of cow's milk allergy. *Revue Française D'allergologie et D'immunologie Clinique*, 43: 273-277.

Bocquier, F., Caja, G (2001). Production et composition du lait de brebis: effets de l'alimentation. *INRA Production Animal*, 14 (2): 129-140.

BOE (1985). Orden de 29 noviembre de 1985. Bulletin Oficial de Estado, 292, 6.12.85.

Botsoglou, N. A., Christaki, E., Fletouris, D. J., Florou-Paneri, P., Spais, A. B (2002). The effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage. *Meat Science*, 62: 259-265.

Botsoglou, N. A., Grigoropoulou, S. H., Botsoglou, E., Govaris, A., Papageorgiou, G (2003). The effects of dietary oregano essential oil and α -tocopheryl acetate on lipid oxidation in raw and cooked turkey during refrigerated storage. *Meat Science*, 65: 1193–1200.

Boucqué, C. H. V., Fiems, L. O (1988). Vegetable by-products of agro-Industrial origin. *Livestock and Production Science*, 19: 97-135.

Boutoial, K., Rovira, S., Garcia, V., Ferrandini, E., López, M. B (2012). Influence of feeding goats with thyme and rosemary extracts on the physicochemical and sensory quality of cheese and pasteurized milk. In: *Goats: Habitat, Breeding and Management*. Ed. Nova Science Publisher, New York, USA., pp. 125–136.

Boutoial, K., Alcántara, Y., Rovira, S., Garcia, V., Ferrandini, E., López, M. B (2013^a). Influence of ripening on proteolysis and lipolysis of Murcia al Vino cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 66: 336-372.

Boutoial, K., Ferrandini, E., Rovira, S., Garcia, V., López, M. B (2013^b). Effect of feeding goats with rosemary (*Rosmarinus officinalis* spp.) by-product on milk and cheese propertie. *Small Ruminant Research*, 112: 147-153.

Boutoial, K., García, V., Rovira, S., Ferrandini, E., Oussama, A., López, M. B (2013^c). Effect of feeding goats with distilled and non distilled thyme leaves (*Thymus zygis* subp *gracilis*) on milk and cheese properties. *Journal of Dairy Research*, 80: 448–456.

Boyazoglu, J., Hatziminaoglou, I., Morand-Fehr, P (2005). The role of the goat in society: Past, present and perspectives for the future. *Small Ruminant Research*, 60: 13-23.

Broderick, G. A., Radloff, W. J (2004). Effect of molasses supplementation on the production of lactating dairy cows fed diets based on alfalfa and corn silage. *Journal of Dairy Science*, 87: 2997–3009.

Buffa, M. N., Trujillo, A. J., Pavia, M., Guamis, B (2001). Changes in textural, microstructural, and colour characteristics during ripening of cheeses made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goats' milk. *International Dairy Journal*, 11: 927-934.

Bütikofer, U., Rüegg, M., Ardö, Y (1993). Determination of nitrogen fractions in cheese: evaluation of a collaborative study. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie*, 26: 271-275.

Calvo, M. M (2002). Influence of fat, heat treatments and species on milk rennet clotting properties and glycomacropptide formation. *European Journal of Food Research and Technology*, 214: 182–185.

Cannas, A., Dattilo, M (1991). Fibrous agroindustrial by-products: characteristics and improvement. In: *Production and Utilization of Lignocellulosics*. Elsevier Applied Science, London, UK, pp. 427–441.

Cannas, A., Pes, A., Mancuso, R., Vodret, B., Nudda, A (1998). Effect of dietary energy and protein concentration on the concentration of milk urea nitrogen in dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, 81: 499–508.

Capannesi, C., Palchetti, I., Mascini, M., Parenti, A (2000). Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. *Food Chemistry*, 71: 553-562.

Carpino, S., Mallia, S., La Terra, S., Melilli, C., Licitra, G., Acree, T. E Barbano, D. M., Van Soest, P. J (2004). Composition and aroma compounds of ragusano cheese: Native pasture and total mixed rations. *Journal of Dairy Science*, 87: 816-830.

Castro, T., Manso, T., Jimeno, V., Del Alamo, M., Mantecón, A. R (2009). Effects of dietary sources of vegetable fats on performance of dairy ewes and conjugated linoleic acid (CLA) in milk. *Small Ruminant Research*, 84: 47-53.

Cavani, C., Bianconi, L., Mongardi, D (1990). Soybean hulls and cereal distillers in dairy sheep feeding. In: Proc. 9th Natl. *Congres SIPAOC*, Grado, Italia, pp. 609-610.

Charmley, E., Nicholson, J. W. G (1993). Injectable α -tocopherol for control of oxidized flavor in milk from dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science*, 73: 381-392.

Chávarri, F., Virto, M., Martõn, C., Nájera, A. I., Santisteban, A., Barrón, L. J. R., De Renobales, M (1997). Determination of free fatty acids in cheese: comparison of two analytical methods. *Journal of Dairy Research*, 64: 445-452.

Chen, Q., Shi, H., Ho, C. T (1992). Effects of rosemary extracts and major constituents on lipid oxidation and soybean lipoxygenase activity. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 69: 999-1002.

Chilliard, Y., Glasser, F., Ferlay, A., Bernard, L., Rouel, J., Doreau, M (2007). Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *European Journal of Lipid Science and Technologies*, 109: 828-855.

Chiofalo, B., Liotta, L., Zumbo, A., Chiofalo, V (2004). Administration of olive cake for ewe feeding: effect on milk yield and composition. *Small Ruminant Research*, 55: 169–176.

Chiofalo, V., Liotta, L., Fiumanò, R., Benedetta, E.R., Chiofalo, B (2012). Influence of dietary supplementation of *Rosmarinus officinalis* L. on performances of dairy ewes organically managed. *Small Ruminant Research*, 104: 122–128.

Consejo Regulador de la Denominación de Origen Protegida de Quesos de Murcia y Murcia al Vino (2009). Murcia, España (www.quesosdemurcia.com).

Coppa, M., Verdier-Metz, I., Ferlay, A., Pradel, P., Didienne, R., Farruggia, A., Montel, M.C., Martin, B (2011). Effect of different grazing systems on upland pastures compared with hay diet on cheese sensory properties evaluated at different ripening times. *International Dairy Journal*, 21: 815-822.

Coulon, J. B., Delacroix-Buchet, A., Martin, B., Pirisi, A (2004). Relationships between ruminant management and sensory characteristics of cheeses: A review. *Lait*, 84: 221–241.

Cuchillo, H. M., Delgadillo, P. C., Navarro, O. A., Pérez-Gil, R. F (2010). Antioxidant activity, bioactive polyphenols in Mexican goats' milk cheeses on summer grazing. *Journal of Dairy Research*, 77: 20–26.

Devendra, C., Lewis, D (1974). The interaction between dietary lipids and fibre in the sheep. 2. Digestibility studies. *Animal Production*, 19: 67–76.

Dhiman, T. R., Satter, L. D., Pariza, M. W., Galli, M. P., Albright, K., Tolosa, M. X (2000). Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *Journal of Dairy Science*, 83: 1016-1027.

Dirandeh, E., Towhidi, A., Zeinoaldini, S., Ganjkhanelou, M., Ansari, Z. P., Fouladi-Nashta, A (2013). Effects of different polyunsaturated fatty acid

supplementations during the postpartum periods of early lactating dairy cows on milk yield, metabolic responses, and reproductive performances. *Journal Animal Science*, 91: 713-721.

Djenane, D., Sanchez-Escalante, A., Beltran, J. A., Roncales, P (2002). Ability of α -tocopherol, taurine and rosemary, in combination with vitamin C, to increase the oxidative stability of beef steaks packaged in modified atmosphere. *Food Chemistry*, 76: 407– 415.

Dung, N. T., Van Binh, D., Mui, N. T., Preston, T. R (2005). Effect of cassava hay supplementation on milk production in lactating goats. *Online available: <http://www.mekarn.org/procsr/dung-grrc.pdf>*.

El Din, H. M. F., Ghita, E. I., Badran, S. M. A., Gad, A. S., El-Said, M. M (2010). Manufacture of low fat UF-Soft cheese supplemented with rosemary extract as natural antioxidant. *Journal of American Science*, 6 (10): 570-579.

FAO (2012). Food and Agriculture Organization, (www.fao.org/faostat).

Fava, F., Zanolli, G., Vannini, L., Guerzoni, E., Bordoni, A., Viaggi, D., Robertson, J., Waldron, K., Bald, C., Esturo, A., Talens, C., Tueros, I., Cebrian, M., Sebök, A., Kuti, T., Broez, J., Macias, M., Brendle, H. G (2013). New advances in the integrated management of food processing by-products in Europe: sustainable exploitation of fruit and cereal processing by-products with the production of new food products. *New Biotechnology*, 30: 647-655.

Fegeros, K., Zervas, G., Stamouli, S., Apostolaki, E (1995). Nutritive value of dried citrus pulp and its effect on milk yield and milk composition of lactating ewes. *Journal of Dairy Science*, 78: 1116-1121.

Fernández-López, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., Perez-Alvarus, J. A., Kuri, V (2005). Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat Science*, 69: 371-380.

Ferrandini, E (2006). Elaboración de Quesos de Murcia al Vino con cuajo natural en pasta. Tesis Doctoral, Universidad de Murcia, Murcia. España.

Ferrandini, E., López, M. B., Castillo, M., Laencina, J (2011). Influence of an artisanal lamb rennet paste on proteolysis and textural properties of Murcia al Vino cheese. *Food Chemistry*, 124: 583-588.

Ferrandini, E., Castillo, M., De Renobales, M., Virto, M., Garrido, M. D., Rovira, S., López, M. B (2012). Influence of lamb rennet paste on the lipolytic and sensory profile of Murcia al Vino Cheese. *Journal of Dairy Science*, 95: 2788-2796.

Focant, M., Mignolet, E., Marique, M., Clabots, F., Breyne, T., Dalemans, D., Larondelle Y (1998). The effect of vitamin E supplementation of cow diets containing rapeseed and linseed on the prevention of milk fat oxidation. *Journal of Dairy Science*, 81: 1095–1101.

Foda, M. I., El-Sayed, M. A., Hassan, A. A., Rasmy, N. M., El-Moghazy, M. M (2010). Effect of spearmint essential oil on chemical composition and sensory properties of white cheese. *Journal of American Science*, 6: 272-279.

Fox, P. F, Law, J., McSweeney, P. L. H., Wallace, J (1993). Cheese: Chemistry, physics and microbiology. Chapman & Hall, London UK, pp. 390–438.

Frankel, E. N (1996). Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. *Food Chemistry*, 57: 51-55.

Franklin, S. T., Martin, K. R., Baer, R. J., Schingoethe, D. J., Hippen, A. R (1999). Dietary marine algae (*Schizochytrium sp.*) increases concentrations of conjugated linoleic, docosahexaenoic and transvaccenic acids in milk of dairy cows. *Journal of Nutrition*, 129: 2048-2052.

- G**illian, B., Nielsen, J. H., Slots, T., Seal, C., Eyre, M. D., Sanderson, R., Leifert, C (2008). Fatty acid and fat soluble antioxidant concentrations in milk from high- and low-input conventional and organic systems: seasonal variation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88: 1431–1441.
- Giozelgiannis, A., Tsiklidi, K., Katanos, I (1978). The olive meal in the feeding of fattening lambs. *Agricultural Research*, 2: 223–233.
- Gómez-Cortés, P., Frutos, P., Mantecón, A. R., Juárez, M., de la Fuente, M. A., Hervás, G (2008). Milk production, conjugated linoleic acid content, and in vitro ruminal fermentation in response to high levels of soybean oil in dairy ewe diet. *Journal of Dairy Science*, 91: 1560–1569.
- Gorinstein, S., Martín-Belloso, O., Park, Y. S., Haruenkit, R., Lojek, A., Ciz, M (2001). Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. *Food Chemistry*, 74: 309–15.
- Grappin, R., Coulon, J. B (1996). Terroir, lait et fromage: Element de reflexion. in Proc. 3^{eme} Rencontre autour des Recherche sur les Ruminant, Paris, France. Pp. 21–28.
- Grasser, L. A., Fadel, J. G., Garnett, I., Depeters, E (1995). Quantity and economic importance of 9 selected byproducts used in California dairy rations. *Journal of Dairy Science*, 78: 962–971.
- Guedes, C. M., Dias da Silva, A (2005). Effects of dietary carbohydrate sources on degradation kinetics of nitrogen from plant protein sources in the rumen. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85: 1795–1804.
- Guo, M. R., Wang, S., Li, Z., Qu, J., Jin, L., Kindstedt, P. S (1998). Ethanol stability of goat's milk. *International Dairy Journal*, 8: 57-60.

Hadjipanayiotou, M (1999). Feeding ensiled crude olive cake to lactating Chios ewes, Damascus goats and Friesian cows. *Livestock Production Science*, 59: 61-66.

Haenlein, G. F. W (2004). Goat milk in human nutrition. *Small Ruminant Research*, 51: 155-163

Han, J., Britten, M., St-Gelais, D., Champagne, C.P., Fustier, P., Salmieri, S., Lacroix, M (2011). Effect of polyphenolic ingredients on physical characteristics of cheese. *Food Research International*, 44: 494–497.

Hansen, A., Cheong, H (2007). Agricultural waste management in food processing in: *Handbook of Farm, Dairy, and Food Machinery*, Myer Kutz (ed.), William Andrew, Inc. Utah State University, Logan, UT, USA. Pp. 609–661.

Harpaz, S., Glatman, L., Drabkin, V., Gelman, A (2003). Effects of herbal essential oils used to extend the shelf life of freshwater-reared Asian sea bass fish (*Lates calcarifer*). *Journal of Food Protection*, 66: 410–417.

He, M., Armentano, L. E (2011). Effect of fatty acid profile in vegetable oils and antioxidant supplementation on dairy cattle performance and milk fat depression. *Journal of Dairy Science*, 94: 2481-2491.

ICEX (2004). ICEX, España Exportación e Inversiones (www.icex.es).

IDF (1982). Cheese and processed cheese. Determination of the total solids content. International Dairy Federation, Brussels, Belgium, Standard 4A.

IDF (1996). Whole milk: determination of milk fat, protein and lactose content, guide for the operation of mid-infrared instruments. International Dairy Federation, Brussels, Belgium, Standard 141B.

IDF (1997). Determination of total milk clotting activity. International Dairy Federation. Brussels, Belgium, Standard 157A.

IDF (2008). Processed cheese products -- Determination of nitrogen content and crude protein calculation -- Kjeldahl method. International Dairy Federation. Brussels, Belgium. Standard 17837.

Ipharraguerre, I. R., Clark, J. H (2003). Soyhulls as alternative feed for lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 86: 1052-1073.

ISO (1998). Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*--Part 2: Enumeration method. Standard 11290.

ISO (2000). Water quality - Detection and enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria-- Part 1: Membrane filtration method. International Organization for Standardization. Geneva Switzerland. 9308-1.

ISO (2003 a). Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of microorganisms -- Colony-count technique at 30 degrees C. International Organization for Standardization. Geneva Switzerland. Standard 4833.

ISO (2003 b). Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of sulfite-reducing bacteria growing under anaerobic conditions. International Organization for Standard-ization, Geneva Switzerland. Standard 15213.

ISO (2004). Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae -- Part 2: Colony-count method. International Organization for Standardization. Geneva Switzerland. Standard 21528-2.

ISO (2008a). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds – Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0.95. International Organization for Standardization, Geneva Switzerland. Standard 21527-1.

ISO (2008 b). Cheese determination of fat content Van Gulik method. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization. Standard 3433.

ISO (2012). Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella -- Part 2: Enumeration by a miniaturized most probable number technique. International Organization for Standardization. Geneva Switzerland. Standard 6579-2.

Jadhav, S. J., Nimbalkar, S. S., Kulkarni, A. D., Madhavi, D. L (1996). Lipid oxidation in biological and food systems. 4 in: *Food Antioxidants: Technological, Toxicological, and Health*, Ed. CRC Press. pp 5–6.

Jandal, J. M (1996). Comparative aspects of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 22: 177–185.

Jaramillo, D. P., Buffa, M. N., Rodríguez, M., Pérez-Baena, I., Guamis, B., Trujillo, A. J (2010). Effect of the inclusion of artichoke silage in the ration of lactating ewes on the properties of milk and cheese characteristics during ripening. *Journal of Dairy Science*, 93: 1412–1419.

Jaramillo, D. P., García, T., Buffa, M., Rodríguez, M., Guamis, B., Trujillo, A (2009). Effect of the inclusion of whole citrus in the ration of lactating ewes on the properties of milk and cheese characteristics during ripening. *Journal of Dairy Science*, 92: 469–476.

Jenkins, T. C., McGuire, M. A (2006). Major advances in nutrition: Impact on milk composition. *Journal of Dairy Science*, 89: 1302–1310.

Jones, B. N., Paabo, S., Stein, S (1981). Amino-acid analysis and enzymatic sequence determination of peptides by an improved orthophthaldialdehyde pre-column labeling procedure. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 4: 565–586.

Jordán, M. J., Martínez, R. M., Martínez, C., Moñino, I., Sotomayor, J. A (2009). Polyphenolic extract and essential oil quality of *Thymus zygis subsp gracilis* ssp. *gracilis* shrubs cultivated under different watering levels. *Industrial Crops and Products*, 29: 145–153.

Jordán, M. J., Moñino, M. I., Martínez, C., Lafuente, A., Sotomayor, J. A (2010). Introduction of distillate rosemary leaves into the diet of the Murciano-Granadina goat: transfer of polyphenolic compounds to goats' milk and the plasma of suckling goat kids. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 58: 8265–8270.

Jóźwik, A., Strzałkowska, N., Bagnicka, E., Łagodziński, Z., Pyzell, B., Chyliński, W., Czajkowska, A., Grzybek, W., Słoniewska, D., Krzyżewski, J., Olav Horbańczuk, J (2010). The effect of feeding linseed cake on milk yield and milk fatty acid profile in goats. *Animal Science Papers and Reports*, 28 (3): 245–251.

Jung, M. Y., Yoon, S. H., Lee, H. O., Min, D. B (1998). Singlet oxygen and ascorbic acid effects on dimethyl disulfide and off flavour in skim milk exposed to light. *Journal of Food Science*, 63: 408–412.

Kraszewski, J., Strzetelski, J. A., Niwińska, B (2004). Effects of dietary herb supplements for cows on milk yield and technological quality of milk. 55th annual meeting of the *European association for animal production*, Bled, Slovenia.

Li, X. Z., Yan, C. G., Lee, H. G., Choi, C. W., Song, M. K (2012). Influence of dietary plant oils on mammary lipogenic enzymes and the conjugated linoleic acid

content of plasma and milk fat of lactating goats. *Animal Feed Science and Technology*, 174: 26- 35.

Lohrke, B., Viergulz, T., Kanitz, W., Losand, B., Weiss, D. G., Simko, M (2005). Hydroperoxides in circulating lipids from cows: implications for bioactivity of endogenous-oxidized lipids. *Journal of Dairy Science*, 88: 1708-1710.

López, M. B., Luna, A., Laencina, J., Falagán, A (1999). Cheese-making capacity of goats milk during lactation: Influence of stage and number of lactations. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79: 1105–1111.

López, M. B., Ferrandini, E., Rodríguez, M., Roca, J. D., Haba, E., Luna, A., Rovira, S (2012). Physicochemical study of Murcia al Vino cheese. *Small Ruminant Research*, 106: 154-159.

Madhavi, D. L., Deshpande, S. S., Salunkhe, D. K (1996). Introduction In: *Food Antioxidants: Technological, Toxicological, and Health Perspectives*, Ed. Marcel Dekker, Inc. New York, USA. Pp. 1–4.

MAGRAMA (2012). Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (www.magrama.es).

Mardalena, L., Warly, E., Nurdin, W., Rusmana, S., Farizal, N (2011). Milk quality of dairy goat by giving feed supplement as antioxidant source. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 36: 205-212.

Martin, B., Verdier-Metz, I., Buchin, S., Hurtaud, C., Coulon, J. B (2005). How does the nature of forages and pastures diversity influence the sensory quality of dairy livestock products. *Animal Science*, 81: 205–212.

Martínez, S., Franco, I., Carballo, J (2011). Spanish goat and sheep milk cheeses. *Small Ruminant Research*, 101: 41-54.

Michaelidou, A. M (2008). Factors influencing nutritional and health profile of milk and milk products. *Small Ruminant Research*, 79: 42-50.

Miller, J. K., Brezeinska-Slebbodizinska, E (1993). Oxidative stress, antioxidant, and animal function. *Journal of Dairy Science*, 76: 2812-2823.

Milos, M., Makota, D (2012). Investigation of antioxidant synergisms and antagonisms among thymol, carvacrol, thymoquinone and p-cymene in a model system using the Briggs–Rauscher oscillating reaction. *Food Chemistry*, 131: 296–299.

Mir, Z., Goonewardene, L. A., Okine, E., Jaegar, S., Scheer, H. D (1999). Effect of feeding canola oil on constituents, conjugated linoleic acid (CLA) and long chain fatty acids in goats milk. *Small Ruminant research*, 33: 137-143.

Mirzaei-Aghsaghali, A., Maheri-Sis, N (2008). Nutritive value of some agro-industrial by-products for ruminants - A review. *World Journal of Zoology*, 3: 40-46.

Mirzaei-Aghsaghali, A (2012). Importance of medical herbs in animal feeding: A review. *Annals of Biological Research*, 3: 918-923.

Modaresi, J., Fathi Nasri, M. H., Rashidi, L., Dayani, O., Kebreab, E (2011). Effects of supplementation with pomegranate seed pulp on concentrations of conjugated linoleic acid and punicic acid in goat milk. *Journal of Dairy Science*, 94: 4075–4080.

Moñino, I., Martínez, C., Sotomayor, J., Lafuente, A., Jordán, M. J (2008). Polyphenolic transmission to Segureño lamb meat from ewes' diet supplemented with the distillate from rosemary (*Rosmarinus officinalis*) leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 3363-3367.

Morand-Fehr, P (2005). Recent developments in goat nutrition and application: review. *Small Ruminant Research*, 60: 25–43.

Morand-Fehr, P., Fedele, V., Decandia, M., Le Frileux, Y (2007). Influence of farming and feeding systems on composition and quality of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68: 20-34.

Mouro, G. F., Branco, A. F., Macedo, F. A. F., Rigolon, L. P., Maia, F. J., Guimaraes, K. C., Damasceno, J. C., Santos, G. T (2002). Corn replacement by cassava by-product meal in lactating goat diets: effects on milk production and composition and nutrient digestibility. *Revista Brasileira de Zootécnica*, 31: 475-483.

Mughetti, L., Sinesio, F., Acuti, G., Antonini, C., Moneta, E., Peparai, M., Trabalza-Marinucci, M (2012). Integration of extruded linseed into dairy sheep diets: Effects on milk composition and quality and sensorial properties of Pecorino cheese. *Animal Feed Science and Technology*, 178: 27-39.

Murphy, J. J (1999). The effects of increasing the proportion of molasses in the diet of milking dairy cows on milk production and composition. *Animal Feed Science and Technology*, 78: 189-198.

Nieto, G., Díaz, P., Bañon, S., Garrido, M. D (2010). Dietary administration of ewe diets with a distillate from rosemary leaves (*Rosmarinus officinalis* L.): influence on lamb meat quality. *Meat Science*, 84: 23–29.

Nieto, G., Bañon, S., Garrido, M. D (2011). Effect of supplementing ewes' diet with thyme (*Thymus zygis* ssp. *gracilis*) leaves on the lipid oxidation of cooked lamb meat. *Food Chemistry*, 125: 1147–1152.

Nieto, G., Bañon, S., Garrido, M. D (2012). Administration of distillate thyme leaves into the diet of Segureña ewes: effect on lamb meat quality. *Animal*, 6: 2048-2056.

Nudda, A., Fancellu, S., Porcu, F., Boe, F., Cannas, A (2004). Responses of milk fat composition to dietary non-fiber carbohydrates in Sarda dairy sheep. *Journal of Dairy Science*, 87 (Suppl. 1): 310.

Nudda, A., G. Battacone, M. G., Fancellu, S., Pulina, G (2006). Supplementation with extruded linseed cake affects concentrations of conjugated linoleic acid and vaccenic acid in goat milk. *Journal of Dairy Science*, 89: 277–282.

O'Connell, J. E., Fox, P. F (2001). Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review. *International Dairy Journal*, 11: 103–120.

O'Grady, M. N., Maher, M., Troy, D. J., Moloney, A. P., Kerry, J. P (2006). An assessment of dietary supplementation with tea catechins and rosemary extract on the quality of fresh beef. *Meat Science*, 73: 132–143.

Ørskov, E. R (1980). Nutritional principles in utilization of waste and by-products. In: *By-products and Wastes in Animal Feeding*. Ed. Ørskov, E.R., British Society of Animal Production, Occas Publication. pp. 13-17.

Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rosas-Romero, A., Flerlage, N., Burillo, J., Codina, C (2002). Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and non distilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50: 6882–6890.

Pariza, M. W (2004). Perspective on the safety and effectiveness of conjugated linoleic acid. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79: 1132–1136.

Park, Y. W (1994). Hypo-allergenic and therapeutic significance of goat milk. *Small Ruminant Research*, 14: 151-159.

Park, Y. W (2001). Proteolysis and Lipolysis of Goat Milk Cheese. *Journal of Dairy Science*, 84: 84-92.

Park, Y. W., Juárez, M., Ramos, M., Haenlein, G. F. W (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant research*, 68: 88–113.

Partidario, A (1999). Comparison of free fatty acids, volatile compounds and sensory characteristics of Serra de Estrela cheese at different ripening stages. *Milchwissenschaft*, 54: 381-385.

Petit, H. V., Dewhurst, R. J., Scollan, N. D., Proulx, J. G., Khalid, M., Haresign, W., Twagiramungu, H., Mann, G. E (2002). Milk Production and composition, ovarian function, and prostaglandin secretion of dairy cows fed omega-3 fats. *Journal of Dairy Science*, 85: 889–899.

Pinchasov, Y., Hasdai A., Gordin, S., Katznelson, D., Volcani, R (1982). Performance of high-yielding dairy cows fed liquid whey. *Journal of Dairy Science*, 65: 28-36.

Piquer, O., Ródenas, L., Casado, C., Blas, E., Pascual, J. J (2009). Whole citrus fruits as an alternative to wheat grain or citrus pulp in sheep diet: Effect on the evolution of ruminal parameters. *Small Ruminant Research*, 83: 14-21.

Preston, T. R (1981). The use of by-products for intensive animal production. In: *Intensive animal production in developing countries*. Ed. Smith, A. J & Gunn R.G. British Society of Animal Production Occas Publication, pp. 145-150.

Pulina, G., Nudda, A., Battacone, G., Cannas, A (2006). Effects of nutrition on the contents of fat, protein, somatic cells, aromatic compounds, and undesirable substances in sheep milk. *Animal Feed Science and Technology*, 131: 255–291.

Rapetti, L., Falaschi, U., Lodi R., Vezzoli, F., Tamburini, A., Greppi, G. F.,

Enne, G (1995). The effect of liquid whey fed to dairy goats on milk yield and quality. *Small Ruminant Research*, 16: 215-220.

Reynolds, C. K., Cannon, V. L., Loerch, S. C (2006). Effects of forage source and supplementation with soybean and marine algal oil on milk fatty acid composition of ewes. *Animal Feed Science and Technology*, 131: 333–357.

Rhee, K. C (2000). Processing technology to improve soy utilization in: *Soy in Animal Nutrition*. Ed. Drackley, J. K. Fed Animal Science Society, Savoy, IL, Pp. 46–55

Rojas-Bourillón, A., Gamboa, L., Villareal, M., Viquez, E., Castro, R., Poore, M (2001). La sustitución de maíz por pulpa de cítricos deshidratado sobre la producción y composición láctea de vacas encastadas Holstein en el trópico húmedo de Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 25: 45-52.

Romero-Huelva, M., Ramos-Morales, E., Molina-Alcaide, E (2012). Nutrient utilization, ruminal fermentation, microbial abundances, and milk yield and composition in dairy goats fed diets including tomato and cucumber waste fruits. *Journal of Dairy Science*, 95: 6015–6026.

Rose-Gottlieb (2004). Standard methods for the examination of dairy products - fat in milk 17th edition, pp. 427.

Rota, M. C., Herrera, A., Martínez, R. M., Sotomayor, J. A., Jordán, M. J (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food Control*, 19: 681-687.

Sánchez-Escalante, A., Djenane, D., Torrescano, G., Beltran, J. A., Roncales, P (2003). Antioxidant action of borage, rosemary, oregano, and ascorbic acid in beef patties packaged in modified atmosphere. *Journal of Food Science*, 68: 339-344.

Sanchez-Villegas, A., Martínez, J. A., Prättälä, R., Toledo, E., Roos, G., Martínez-González, M. A (2003). A systematic review of socioeconomic

differences in food habits in Europe: consumption of cheese and milk. *European Journal of Clinical Nutrition*, 57: 917–929.

Sansoucy, R., Alibes, X., Berge, P., Martilotti, F., Nefzaoui, A., Zoipoulos, P (1985). Olive by-products for animal feed, in: *FAO Animal Production and Health*, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. pp. 43.

Santos, R. D., Shetty, k., Cecchini, A. L., da Silva Miglioranza, L. H (2012). Phenolic compounds and total antioxidant activity determination in rosemary and oregano extracts and its use in cheese spread. *Ciências Agrárias*, 33: 655-666.

Sanz Sampelayo, M. R., Fernández, J. R., de la Torre, G., Ramos, E., Carmona, F. D., Boza, J (2003). Calidad de la leche de los pequeños rumiantes1. *Anales de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental*, 16: 155-166.

Sanz Sampelayo, M. R; Chilliard, Y., Schmidely, P., Boza, J (2007). Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68: 42–63.

Savoini, G., Cattaneo, D., Paratte, R., Varisco, G., Bronzo, V., Moroni, P., Pisoni, G (2003). Dietary rosemary extract in dairy goats organically managed: effects on immune response, mammary infections and milk quality. *Italian Journal of Animal Science*, 2 (Suppl. 1): 548–550.

Schingoethe, D. J., Stewart, G. D., Ludens, F. C (1983). Dried whey-fat blend products feed for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 66: 2515-2520.

Secchiari, P., Antongiovanni, M., Mele, M., Serra, A., Buccioni, A., Ferruzi, G., Paletti, F., Petacchi, F (2003). Effect of kind of dietary fat on the quality of milk fat from Italian Frisian cows. *Livestock Production Science*, 83: 43-52.

Sharma, R. B., Gupta, M. P., Ogra J. L (1998). Factors affecting yield and chemical quality of goat milk Chhana. *Small Ruminant Research*, 27: 257–262.

Shingfield, K. J., Ahvenjärvi, S., Toivonen, V., Ärölä, A., Nurmela, K. V. V., Huhtanen, P., Griinari, J. M (2003). Effect of dietary fish oil on biohydrogenation of fatty acids and milk fatty acid content in cows. *Animal Science*, 77: 165-179.

Silanikove, N., Perevolotsky, A., Provenza, F. D (2001). Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91: 69–81.

Silanikove, N., Leitnerb, G., Merinc, U., Prosserd, C. G (2010). Recent advances in exploiting goat's milk: quality, safety and production aspects. *Small Ruminant Research*, 89: 110-124.

Skripak, J. M., Matsui, E. C., Mudd, K., Wood, R. A (2007). The natural history of IgE-mediated cow's milk allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 120: 1172-1177.

Smith, P., Stewart, J., Fyfe, L (2001). The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiology*, 18: 463-470.

Taitz, L. S., Armitage, B. L (1984). Goats' milk for infants and children. *British Medical Journal*, 288: 428–429.

Tanabe, H., Yoshida, M., Tomita, N (2002). Comparison of the antioxidant activities of 22 commonly culinary herbs and spices on the lipid oxidation of pork meat. *Animal Science Journal*, 73: 389-393.

Tarladgis, B. G., Watts, B. M., Younathan, M. T. y Dugan, L. R. J (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 37: 44-48.

Tejada, L., Abellán, A., Cayuela, J. M., Martínez-Cacha, A., Fernández-Salguero, J (2008). Proteolysis in goats' milk cheese made with calf rennet and plant coagulant. *International Dairy Journal*, 18: 139-146.

Tekippe, J. A., Hristov, A. N., Heyler, K. S., Cassidy, T. W., Zheljzakov, V. D., Ferreira, F. S., Karnati, S. K., Varga G. A (2011). Rumen fermentation and production effects of *Origanum vulgare* L. leaves in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94: 5065–5079.

Tepe, B., Sarikurkcu, C., Berk, S., Alim, A., Akpulat, A. H (2011). Chemical composition, radical scavenging and antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus boveii* and *Thymus hyemalis*. *Records of Natural Products*, 3: 208-220.

Titgemeyer, E. C (2000). Soy byproducts as energy sources for beef and dairy cattle in: *Soy in Animal Nutrition*. Ed. Drackley, K. Fed. Animal Science Society, Savoy, IL. Pp. 238–256.

Todaro, M., Cacciatore, T., Ferrantelli, M., Iraci, C., Leto, L., Modica, R., Mortellaro, A., Raggio, V., Sardina, M. T (2004). Influenza del pastazzo di limone sulle caratteristiche qualitative e quantitative del latte di pecora. In: Proc. 16th Natl. Congresso SIPAOC, Siena, Italy, pp. 331.

Twibell, R. G., Gannam A. L., Hyde, N. M., Holmes, J. S. A., Poole, J. B (2012). Effects of fish meal- and fish oil-free diets on growth responses and fatty acid composition of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture*, 360: 69-77.

UNE-EN ISO (5508, 1996). Aceites y grasas de origen animal y vegetal. Análisis por cromatografía en fase gaseosa de los ésteres metílicos de ácidos grasos. AENOR, Madrid, España.

UNE-EN ISO (8589, 2010). Guía para el diseño de una sala de cata. Manual de normas UNE, Análisis sensorial, AENOR segunda edición, Madrid, España.

Vacas Fernandez, C (2003). Evolución del sector caprino en la Región de Murcia y su caracterización productiva al final del milenio. Tesis Doctoral, Universidad de Murcia. Murcia, España.

Van Aardt, M., Duncan, S. E., Marcy, J. E., Long, T. E., O'Keefe, S. F., Nielsen-Sims, S. R (2005). Effect of antioxidant (α -tocopherol and ascorbic acid) fortification on light-induced flavor of milk. *Journal of Dairy Science*, 88: 872–880.

Vasta, V., Nudda, A., Cannas, A., Lanza, M., Priolo, A (2008). Review, Alternative feed resources and their effects on the quality of meat and milk from small ruminants, *Animal Feed Science and Technology*, 147: 223–246.

Vasta, V., Luciano, G (2011). The effects of dietary consumption of plants secondary compounds on small ruminants' products quality. *Small Ruminant Research*, 101: 150–159.

Vasta, V., Aouadi, D., Brogna, D. M. R., Scerra, M., Luciano, G., Priolo, Ben Salem, H (2013). Effect of the dietary supplementation of essential oils from rosemary and artemisia on muscle fatty acids and volatile compound profiles in Barbarine lambs. *Meat Science*, 95: 235–241.

Vázquez, A. M., Jenkins, T (2007). Effects of feeding oxidized fat with or without dietary antioxidants on nutrient digestibility, microbial nitrogen, and fatty acid metabolism. *Journal of Dairy Science*, 90: 4361-4367.

Villarreal, M., Cochran, R.C., Rojas-Bourrillón, A., Murillo, O., Muñoz, H., Poore, M (2006). Effect of supplementation with pelleted citrus pulp on digestibility and intake in beef cattle fed a tropical grass based diet (*Cynodon nlemfuensis*). *Animal Feed Science and Technology*, 125: 163–173.

Volanis, M., Zoiopoulos, P., Tzerakis, K (2004). Effects of feeding ensiled sliced oranges to lactating dairy sheep. *Small Ruminant Research*, 53: 15–21.

Wang, S. Y (2003). Antioxidant capacity of berry crops, culinary herbs and medicinal herbs. *Acta Hortalia*, 620: 461-473.

Westendorf, M. L (2000). Food waste as animal feed. Ed. John Wiley & Sons, Iowa State University Press, Iowa, USA, pp. 3-15.

Wojdyło, A., Oszmianski, J., Czemerys, R (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105: 940–949.

Wright, T.C., Holub, B. J., Hill, A. R., McBrid, B. W (2003). Effect of combinations of fish meal and feather meal on milk fatty acid content and nitrogen utilization in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86: 861–869.

Yáñez Ruiz, D. R., Moumen, A., Martín García, A. I., Molina Alcaide, E (2004). Ruminal fermentation and degradation patterns, protozoa population, and urinary purine derivatives excretion in goats and wethers fed diets based on two-stage olive cake: effect of PEG supply. *Journal of Animal Science*, 82: 2023–2032.

Yáñez-Ruiz, D. R., Molina-Alcaide, E (2008). A comparative study of nutrients utilisation, alkaline phosphatase activity and creatinine concentration in the serum of sheep and goats fed diets based on olive leaves. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 92: 141-148.

Yanishlieva-Maslarova, N. V., Heinonen, I. M (2001). Sources of natural antioxidants: vegetables, fruits, herbs, spices and teas, in: *Antioxidants in food: practical applications*. Ed. Pokorny, Yanishlieva, Gordon, pp. 210-263

Zhao, L. L., Yang, D. P., Chen, P., Dong, W. X., Wang, D. M (2008). Supplementation with selenium and vitamin e improves milk fat depression and

fatty acid composition in dairy cows fed fat diet. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 21: 838–844.

Zheng, H. C., Liu, J. X., Yao, J. H., Yuan, Q., Ye, H. W. Ye, J. A., Wu, Y. M (2005). Effects of dietary sources of vegetable oils on performance of high-yielding lactating cows and conjugated linoleic acids in milk. *Journal of Dairy Science*, 88: 2037–2042.

Zheng, W., Wang, S. Y (2001). Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 5165-5170.

Zhong, R. Z., Tan, C. Y., Han, X. F., Tang, S. X., Tan, Z. L., Zeng, B (2009). Effect of dietary tea catechins supplementation in goats on the quality of meat kept under refrigeration. *Small Ruminant Research*, 87: 122–125.