



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

DETERMINACIÓN DE FITOESTEROLES EN
QUESOS DE LECHE DE CABRA
MANUFACTURADOS EN MÉXICO

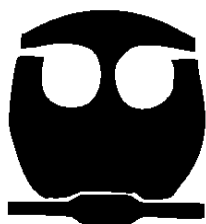
TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA DE ALIMENTOS

P R E S E N T A:

MARÍA BELEM PARDO OLAGUEZ



MÉXICO D.F.,

2009.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

Presidente MARÍA ELENA CAÑIZO SUÁREZ
Vocal AMELIA MARIA DE GUADALUPE FARRES GONZÁLEZ
 SARAVIA
Secretario CLAUDIA DELGADILLO PUGA
1er Suplente FABIOLA GONZÁLEZ OLGUIN
2do Suplente LILIANA GONZÁLEZ OSNAYA

Sitio en donde se desarrollo el tema:

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR
ZUBIRÁN.



Dra. Claudia Delgadillo Puga
Asesor



María Belem Pardo Olaguez
Sustentante



DEDICATORIA

A todos aquellos que han influido en mi vida para permitirme llegar hasta este punto; el cuál solo es un escalón más que me acerca a la cima.

Al motor que no me deja darme por vencida en ningún momento: **Sebastián.**

A los que gracias a su generosidad e infinito apoyo me han permitido superarme como persona: **José Antonio e Hilda.**

Al que llegó en el mejor momento para llenarme de esperanzas y cumplir el sueño de formar una familia, compartiendo la vida juntos: **Gustavo.**

A quienes fueron mi guía y me colmaron de enseñanzas: **Gena, Nena, y Claudia.**

A quienes hicieron que cada día se hiciera más corto y llenaron de buenos recuerdos mi paso por la facultad: **Nagibe, Vania, Ivonne, Monica, Salvador, Daniel, Jesica, Korina, Alberto, Vero, Aurora y Daniela.**

AGRADECIMIENTOS

A la **Facultad de Química** y al **INNCMSZ** por abrirme las puertas y darme las armas necesarias para convertirme en una persona mejor preparada.

INDICE GENERAL

	Página
Índice General.....	i
Índice de Cuadros.....	iv
Índice de Figuras.....	v
RESUMEN	1
I. INTRODUCCIÓN	3
II. OBJETIVOS	6
II.1 Objetivo General.....	6
II.2 Objetivos Específicos.....	6
III. ANTECEDENTES	7
III.1 La leche.....	7
III.1.1 La leche de cabra y su producción.....	7
III.1.2 Composición de la leche de cabra.....	10
III.1.4 Esteroles en la leche de cabra.....	16
III.2 Colesterol.....	17
III.3 Fitoesteroles.....	23
III.3.1 Mecanismo bioquímico de absorción los fitoesteroles.....	24
III.3.2 Toxicidad de los fitoesteroles.....	27
III.3.3 Fitoesteroles como agentes funcionales y nutracéuticos.....	29
III.4 El Queso.....	31
III.4.1 Clasificación de los quesos.....	33
III.4.2 Composición de los quesos.....	35
III.5 Queso de leche de cabra.....	36
III.5.1 Composición proximal del queso de leche de cabra.....	37

III.5.2	El queso de leche de cabra en México.....	37
IV.	HIPÓTESIS	39
V.	MATERIALES Y MÉTODOS	40
V.1	Muestras experimentales.....	40
V.2	Lugar de trabajo.....	40
V.3	Reactivos.....	45
V.4	Estándares.....	45
V.5	Soluciones.....	45
V.6	Materiales.....	46
V.7	Aparatos y Equipos.....	46
V.8	Método.....	47
V.9	Análisis estadísticos.....	49
VI.	RESULTADOS	50
VI.1	Determinación de fitoesteroles totales en quesos de leche de cabra manufacturados en México.....	50
VI.2	Determinación de colesterol en quesos de leche de cabra manufacturados en México.....	56
VI.3	Determinación de lípidos totales en quesos de leche de cabra manufacturados en México.....	58
VII.	DISCUSIÓN	61
VIII.	CONCLUSIONES	71
IX.	SUGERENCIAS	72
X.	LITERATURA CITADA	73
XI.	ANEXOS	84

XI.1	Diagrama de la metodología para la determinación de fitoesteroles por cromatografía de gases.....	84
XI.2	Validación del método.....	85
XI.3	Curvas patrón.....	88
XI.4	Cromatograma cromatografía de gases.....	90
XI.5	Contenido de humedad en quesos de leche de leche de cabra manufacturados en México.....	91
XI.6	Contenido de fitoesteroles en quesos de leche de cabra manufacturados en México (valores mg/100g BS).....	92

INDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Distribución mundial de la población de cabras.....	8
Cuadro 2. Producción mundial de la leche entera de cabra.....	8
Cuadro 3. Producción de la leche de cabra y de vaca en países de América Latina.....	8
Cuadro 4. Producción y distribución nacional de leche de cabra.....	9
Cuadro 5. Algunas propiedades fisicoquímicas de la leche de cabra y vaca.....	11
Cuadro 6. Compuestos nitrogenados en la leche de cabra y vaca.....	12
Cuadro 7. Promedio de contenido mineral en las leches de cabra, vaca y humano.....	14
Cuadro 8. Composición de la fracción lipídica de la leche.....	16
Cuadro 9. Composición proximal de algunas de las diferentes variedades de queso.....	35
Cuadro 10. Composición proximal del queso de leche de cabra.....	37
Cuadro 11. Aspectos comerciales de los quesos de leche de cabra manufacturados en México.....	41
Cuadro 12. Información nutricional en etiqueta de los productos estudiados (por cada 100 g).....	44
Cuadro 13. Contenido de β -sitosterol en diferentes productos de origen vegetal.....	65
Cuadro 14. Contenido de campesterol y estigmasterol en diferentes productos de origen vegetal.....	66

INDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1.	Estructura química de los fitoesteroles.....	3
Figura 2.	Composición proximal de 100 g de leche de cabra, vaca y humano.....	11
Figura 3.	Fracción lipídica de la leche.....	16
Figura 4.	Estructura química del colesterol.....	17
Figura 5.	Regulación de la homeostasis del colesterol.....	18
Figura 6.	Metabolismo intestinal del colesterol.....	20
Figura 7.	Mecanismo bioquímico del transporte del colesterol.....	21
Figura 8.	Reesterificación del colesterol	22
Figura 9.	Niveles de acción de los fitoesteroles en la absorción, reesterificación y retorno del colesterol al lumen.....	26
Figura 10.	Biosíntesis del colesterol.....	28
Figura 11.	Diagrama general de la elaboración del queso.....	32
Figura 12.	Contenido de β -sitosterol en quesos de leche de cabra manufacturados en México.....	51
Figura 13.	Contenido de campesterol en quesos de leche de cabra manufacturados en México.....	53
Figura 14.	Contenido de estigmasterol en quesos de leche de cabra manufacturados en México.....	55
Figura 15.	Contenido de colesterol en quesos de leche de cabra manufacturados en México.....	57
Figura 16.	Contenido de lípidos totales en quesos de leche de cabra manufacturados en México.....	59

RESUMEN

Los alcoholes esteroideos, presentes en todos los organismos vivos excepto en bacterias, de acuerdo a su estructura química y biosíntesis se clasifican en tres grupos: 4,4dimetilesteroles, 4-monometilesteroles y desmetilesteroles según tengan dos, uno o ningún grupo metilo en el carbono 4. A este último grupo pertenecen los esteroides vegetales, denominados fitoesteroides; éstos son componentes bioactivos, particularmente abundantes en el reino vegetal; dan forma y estabilidad a las membranas celulares, su estructura química presenta un núcleo ciclopentano perhidrofenantreno (D-5 insaturado, con un grupo -OH que sustituye el carbono 3 de la estructura cíclica). Estos compuestos se diferencian entre sí a través de la cadena hidrocarbonada lateral, característica que se extiende al colesterol que es el esteroide mayoritariamente presente en tejidos animales; el cual se encuentra esterificado en el torrente sanguíneo, unido a las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y baja densidad (LDL). Niveles elevados de colesterol en la fracción LDL se asocian fuertemente al desarrollo de enfermedades cardiovasculares.

En las plantas más de 200 diferentes tipos de fitoesteroides han sido identificados, destacándose por su abundancia β -sitosterol (24- α -etilcolesterol), campesterol (24- α -metilcolesterol) y estigmasterol (Δ^{22} , 24- α -etilcolesterol) los cuales junto a formas reducidas, constituyen del 90 al 95% del total de esteroides vegetales. Se ha demostrado que el consumo de fitoesteroides puede reducir los niveles de colesterol en plasma ayudando a prevenir el depósito e infiltración de sustancias lipídicas en las paredes de las arterias.

No obstante que los fitoesteroides son compuestos químicos típicamente identificados en alimentos vegetales, investigaciones recientes han demostrado la presencia de estos compuestos en la leche, relacionándose con posibles adulteraciones; sin embargo, actualmente se reconoce su presencia de forma natural, debida a la influencia de la alimentación del animal; característica que resulta positiva al relacionar a los fitoesteroides sobre la química de absorción del colesterol. En este estudio pretende establecerse el contenido de

fitoesteroles presentes de manera natural en quesos de leche de cabra manufacturados en México.

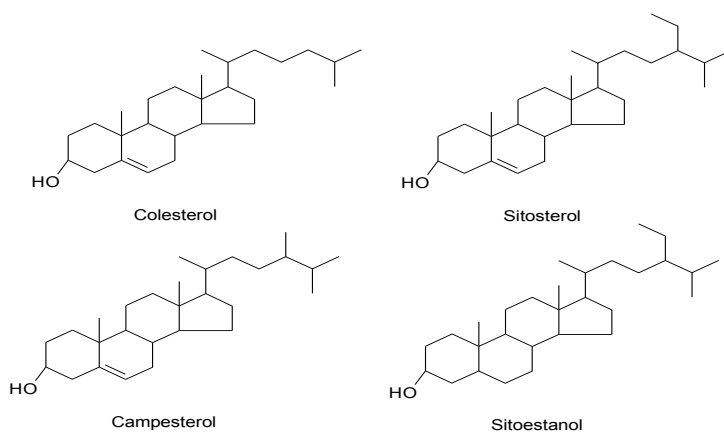
Para su determinación se realizó una técnica experimental, la cual a través de una cromatografía de gases, precedida de una extracción lipídica, la respectiva saponificación y derivatización con trimetilclorosilanos dio como resultado la cuantificación de esteroides vegetales en la muestra. En todos los quesos de cabra de marcas nacionales analizados, se detectaron fitoesteroides cuyas concentraciones se registraron entre los 4.827 y los 2.179 mg/100g (BS), siendo el 72.87% del total, la fracción que correspondió a β -sitosterol con un valor promedio a los 2.26 mg/100 g de producto comercial (BS). Un 15.83% correspondió al estigmasterol el cual se encontró en concentraciones promedio de 1.22 mg/100g de queso (BS). En tercer lugar destacó el campesterol que registró un 11.28% del total de los fitoesteroides analizados, presentando un valor promedio de 0.491 mg/100g de producto (BS).

I. INTRODUCCIÓN

El queso es uno de los alimentos de mayor producción y demanda a nivel mundial, son varios sus tipos, formas y sabores, es rico en calcio, fósforo, proteínas y grasas, por lo que es un producto ampliamente aceptado y de gran consumo internacionalmente. Diferentes estudios destacan que el alto contenido de grasas saturadas en los alimentos acarrea eventualmente problemas cardiovasculares al consumidor. Otros estudios han corroborado que estos problemas de salud pueden atenuarse con base a una dieta adecuada que incluya elementos funcionales y/o nutracéuticos, como son los esteroides y estanoles vegetales, entre otros (Mensink y Plat, 2002; Weingärtner *et al.*, 2009).

Los fitoesteroides y los fitoestanoles (formas reducidas de los fitoesteroides) son esteroides de origen vegetal y cuya estructura química es muy similar a la del colesterol: isoprenos de 28 ó 29 carbonos que poseen un núcleo ciclopentano perhidrofenantreno Δ -5 insaturado, con un grupo $-OH$ en el carbono 3, el cual puede estar libre o esterificado, ya sea a un glucósido, a un cianósido o más comúnmente a un ácido graso (Contarini *et al.*, 2002). Los fitoesteroides difieren estructuralmente del colesterol (que posee 27 carbonos) por la presencia de sustituyentes de tipo metilo o etilo en la cadena lateral de la molécula (Figura 1).

Figura 1. Estructura química de algunos esteroides representativos (Valenzuela, 2004).



Los fitoesteroles son particularmente abundantes en el reino vegetal: están presentes en prácticamente todos los vegetales conocidos; contribuyen a la regulación de la permeabilidad y fluidez de las membranas, son sustrato en la síntesis de metabolitos secundarios y precursores de compuestos involucrados en el crecimiento del vegetal (Weingärtner *et al.*, 2009).

Los cereales son una fuente natural de fitoesteroles, reportándose un contenido total de 95.5 mg/100g en el centeno, 76.2 mg/100g en trigo, 76.2 mg/100g en cebada y de 44.7 mg/100g en avena, entre otros. En semillas de alto consumo, como la de girasol, se han reportado 400 mg/100g y en nueces de 95 mg/100g. En aceites de 61 a 118 mg/100g dependiendo su naturaleza (Lagarda *et al.*, 2006). En este sentido, el consumo regular de fitoesteroles está presente de manera cotidiana como parte de una alimentación balanceada.

Se estima que una ingesta variable de esteroides, depende de los hábitos alimentarios de la población, pero un aproximado basado en una dieta mediterránea refiere el consumo diario de 200 a 500 mg de colesterol, 200 a 400 mg de fitoesteroides y 50 mg de fitoestanoles, de los cuales en su mayoría (60 - 80%) corresponde a β -sitosterol (Plat y Mensink, 2000; Weingärtner *et al.*, 2009).

En la naturaleza más han sido identificados más de 200 diferentes tipos de fitoesteroides en los alimentos. Específicamente en los de origen animal, solo 20 estructuras han sido reportadas, destacándose por su abundancia: β -sitosterol (24- α -etilcolesterol), estigmasterol (Δ_{22} , (24- α -etilcolesterol) campesterol (24- α -metilcolesterol), ergosterol ($\Delta_{7,22}$, 24- α -etilcolesterol), y brassicasterol (Δ_5 , 24-metilcolesterol). Los primeros tres son la porción mayoritaria, sumando más de un 95% del contenido total de fitoesteroides (Sánchez *et al.*, 2001; Contarini *et al.*, 2002; Lagarda *et al.*, 2006).

Desde la década de los 50's se reconoce la influencia de los fitoesteroles para la reducción de niveles de colesterol en sangre, además de propiedades anticancerígenas, antiinflamatorias y antioxidantes (Fernandes y Cabral, 2006; Lagarda *et al.*, 2006; Weingätner *et al.*, 2009).

Contarini *et al.* (2002), afirmaron que la determinación de esteroides en matrices alimenticias se da por tres razones principales: información nutricional, detectar la naturaleza de la grasa (animal o vegetal) y por tanto posibles adulteraciones en el producto final (al intercambiar o mezclar los lípidos nativos, dependiendo la naturaleza del alimento) y cuantificar adiciones de material graso al alimento; por tanto para conocer alternativas para la cuantificación de esteroides se han desarrollado diversos métodos.

La cromatografía de gases (CG) y la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) son actualmente los métodos más reconocidos y convenientes para el análisis de esteroides, sin embargo presentan algunos inconvenientes como son, el tiempo que se requiere para tratar y preparar la muestra antes de la inyección al cromatógrafo, y gasto y contaminación que representan los solventes orgánicos (Toivo *et al.*, 1998).

La CG ha sido la técnica más utilizada para la determinación de esteroides y compuestos relacionados, ofreciendo tiempos de análisis más cortos y menos señales de interferencia, además de estabilidad y alta resolución en el cromatograma (Abidi, 2001). Otra complicación que cabe resaltar en la determinación de esteroides en matrices alimentarias complejas como son leche y queso, es que el análisis cromatográfico debe ser precedido por la extracción de la grasa (Keenan y Dylewiski, 1995).

II. OBJETIVOS

II.1 OBJETIVO GENERAL

II.1.1 Determinar la presencia de fitosteroles en queso de leche de cabra manufacturados en México.

II.2 OBJETIVOS PARTICULARES

II.2.1 Identificar la presencia de β -sitosterol, campesterol y estigmasterol en diferentes tipos de quesos de leche de cabra: Sainte-Mauré, Panela y Feta, manufacturados en México, a través de cromatografía de gases (CG).

II.2.1 Cuantificar la presencia de β -sitosterol, campesterol y estigmasterol en diferentes tipos de quesos de leche de cabra: Sainte-Mauré, Panela y Feta, manufacturados en México, a través de cromatografía de gases (CG).

III. ANTECEDENTES

III.1 LA LECHE

La NOM-155-SSA (2003) establece el concepto de leche para consumo humano: producto integro, no alterado ni adicionado, sin calostro, proveniente de la secreción natural de las glándulas mamarias de la vacas, cabras, ovejas, búfalos ó camélidos, obtenido del ordeño regular e higiénico sometido a tratamientos térmicos u otros procesos que garanticen la inocuidad del producto; además puede someterse a otras operaciones tales como clarificación, homogenización, estandarización u otras, siempre y cuando no contaminen al producto y cumpla con las especificaciones de su denominación.

III.1.1 LA LECHE DE CABRA Y SU PRODUCCIÓN

La cabra se encuentra ampliamente distribuida en el mundo, pero principalmente en los países tropicales entre los que se encuentra México. La expansión de la especie ha sido grande en estas últimas dos décadas, superior al 1% anual. Los más de 850 millones de cabras que hay en el mundo producen aproximadamente **14 millones de litros** de leche. La contribución de la leche de cabra como porcentaje del total producido por los animales domésticos es de alrededor del 1.5 al 2 % (FAOSTAT, 2008).

Cuadro 1. Distribución mundial de la población de cabezas de cabra
(FAOSTAT, 2008)

Región	2005	2006	2007
Asia	533,866,474	546,664,912	544,953,883
África	247,234,393	243,411,505	245,063,910
América	37,786,099	40,986,681	41,106,340
Europa	18,392,284	17,985,964	18,147,782
Oceanía	917,271	930,780	943,210
Total Mundial	838,196,521	849,979,842	850,215,125

Cuadro 2. Producción mundial de leche entera de cabra en toneladas
(FAOSTAT, 2008)

Región	2005	2006	2007
Asia	8,167,781	8,058,310	8,248,847
África	3,138,191	3,127,163	3,038,890
Europa	2,529,933	2,546,587	2,585,930
América	539,416	653,645	658,827
Total Mundial	14,375,361	14,385,745	14,532,534

En América Latina, los principales países productores de leche de cabra son México y Brasil, sin embargo la importancia económica de este sector es muy baja, en comparación con el sector de la leche de vaca (Cuadro 3).

Cuadro 3. Producción de leche de cabra y de vaca en países de América Latina en toneladas (FAOSTAT, 2008)

País	Leche de cabra	Leche de vaca
México	165,000	9,599,473
Brasil	137,000	25,327,000
Perú	21,000	1,500,000
Chile	10,000	2,450,000
Ecuador	6,400	2,600,000

En México, la demanda de derivados de leche caprina se ha incrementado paulatinamente a través del consumo de algunas variedades de quesos y dulces como la cajeta. De la producción total anual estimada el 70% de la leche se consume cruda o se utiliza para elaborar quesos artesanales, y su comercialización es local. El 30% se usa en la industria; de este porcentaje, alrededor del 20% se transforma en quesos y el 10% restante en cajetas y dulces (Trujillo y Almudena, 2004).

Cuadro 4. Producción y distribución nacional de leche de cabra en miles de litros (SIAP, 2008.*Pronóstico).

Estado	2005	2006	2007	2008*
Coahuila	53,110	54,908	57,370	58,638
Durango	40,414	39,952	40,285	38,125
Guanajuato	24,031	24,090	24,097	24,015
Chihuahua	11,548	10,286	10,434	9,501
Jalisco	5,980	6,156	6,360	6,303
Zacatecas	4,980	5,339	4,986	5,070
Nuevo León	4,608	4,831	5,139	4,932
Tlaxcala	4,281	3,146	3,405	3,443
Michoacán	3,713	3,735	3,753	3,776
San Luis Potosí	3,186	3,337	3,786	3,537
Veracruz	2,051	2,025	2,005	2,222
Baja California Sur	2,217	1,689	2,350	2,868
Puebla	1,471	1,413	1,409	1,786
Sonora	1,342	1,874	1,433	1,233
Querétaro	569	522	505	511
TOTAL NACIONAL	164,248	163,958	167,944	166,585

En el Cuadro 4 se presenta la distribución nacional de la producción de leche caprina, siendo Coahuila, Durango, Guanajuato, Chihuahua, Jalisco, Zacatecas y Nuevo León los principales estados productores, aportando más del 90% de la producción nacional. En México, durante el año 2007 la producción de leche de cabra fue de **167 millones de litros** aproximadamente (SIAP, 2008).

III.1.2 COMPOSICIÓN DE LA LECHE DE CABRA

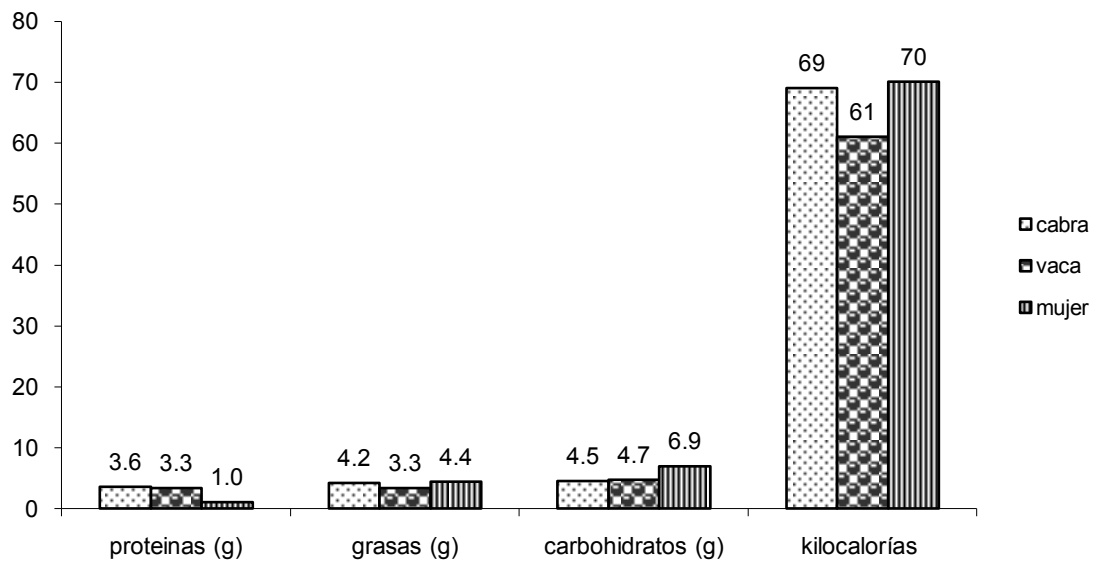
La leche es un alimento completo, de todas las leches producidas por los animales domésticos, la de cabra es la que posee uno de los mejores valores bromatológicos, mejor digestibilidad, capacidad buffer y efectos terapéuticos para los humanos. Sólo es superada por leche humana (Haenlein y Caccese, 1984; Arbiza y Lucas, 2001).

Su composición es muy variable y diversa según las razas, alimentación, edad y estado fisiológico del animal productor (Juárez y Ramos, 1986).

Entre los principales componentes de la leche encontramos agua, lípidos, proteínas y otras sustancias nitrogenadas, carbohidratos, sales minerales, vitaminas, ácidos orgánicos, enzimas y microorganismos. El componente más abundante de la leche es el agua y en ella se encuentran en disolución: sales, azúcares, proteínas del suero, lactosa y vitaminas hidrosolubles; mientras que en suspensión coloidal se encuentran las micelas de caseína, proteínas globulares y partículas lipoproteicas; finalmente la grasa, la encontramos en emulsión (Losada, 2002).

A continuación se presenta una figura comparativa de los principales macrocomponentes y la energía que aportan algunos de los distintos tipos de leche.

Figura 2. Composición proximal de 100g de leche de cabra, vaca y mujer en g/100g (Arbiza y Lucas, 2001).



En cuanto a propiedades físicas la densidad, acidez, índice de refracción y viscosidad de la leche de cabra es comparable con la leche de vaca; mientras que presenta una mayor tensión específica en la superficie como puede apreciarse en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Algunas propiedades fisicoquímicas de la leche de cabra y vaca (Arbiza y Lucas, 2001).

Propiedades	Leche de cabra	Leche de vaca
Gravedad específica	1.029 – 1.039	1.031 -1.0398
Viscosidad (Cp)	2.12	2.0
Tensión específica de superficie (dinas/cm)	52	2.3 – 2.1
Índice de refracción	1.450 ± 0.39	1.451 ± 0.35
Acidez	0.14 – 0.23	0.15 – 0.18
pH	6.50 – 6.80	6.65 – 6.71

Respecto a los compuestos nitrogenados, la leche de cabra contiene, en total de 0.5 a 0.6% de nitrógeno que, como puede apreciarse en el Cuadro 6, en su mayoría corresponde a caseínas y en pequeñas fracciones a lactoalbúminas, lactoglobulinas y nitrógeno no proteico (Jennes, 1980).

Cuadro 6. Compuestos nitrogenados en leche de cabra y vaca (Jennes, 1980).

		Cabra (g/kg)	Vaca (g/kg)	% de Nitógeno
Nitrógeno no proteico	no	2.67	1.61	8.7
Proteínas totales		28.18	32.66	91.3
Caseínas		22.31	24.82	75.6
Total de Nitrógeno		30.85	36.15	100

Las caseínas constituyen más del 80% de todos los compuestos nitrogenados. Al igual que en la leche de vaca, la leche de cabra presenta la existencia de cuatro caseínas principales: α_{S1} , α_{S2} , β y κ -caseína. La leche de cabra es rica en la forma polimórfica: α_{S2} (Mora–Gutiérrez *et al.*, 1984). Esto es de gran importancia a nivel tecnológico, ya que al influir en la cantidad de proteína total, aumenta la facilidad de coagulación, otorga textura a los quesos y aumenta el rendimiento. La β -caseína (>50% del total) en la leche de cabra, es más soluble a temperaturas bajas que su homóloga en la leche de vaca lo cual influye positivamente en el proceso homogenización (O'Connor y Fox, 1973).

Existen además otras variaciones entre la leche de cabra y vaca. En la primera, el tamaño de las micelas proteicas es menor (50 nm) respecto a la segunda (75 nm); lo que propicia diferente comportamiento durante la sedimentación y la proteólisis, además de distinta capacidad de unión con el agua, lo que resulta en una cuajada de menor tamaño en el estómago y por tanto, mayor digestibilidad (Arbiza y Lucas, 2001).

En el suero de la leche encontramos β lactoalbúminas (74%), inmunoglobulinas (18.3%) y α lactoalbúminas (7.1%). En esta fracción también se encuentran lactoferrinas y transferrinas, en las cuales residen muchas de las propiedades antialérgicas atribuidas a la leche de cabra. No parece existir diferencias sensibles entre los aminoácidos presentes de las leches de cabra, oveja, vaca y mujer. Todas son ricas en lisina, uno de los aminoácidos esenciales más escasos en la dieta infantil (Park *et al.*, 2007).

En relación al nitrógeno no proteico, la leche caprina posee una mayor cantidad, predominando la presencia de urea (85%), de ácidos aminados simples (17%), y en menor proporción: creatina, creatinina, amoníaco y ácido úrico (Arbiza y Lucas, 2001).

Los lípidos son uno de los componentes más importantes de la leche en términos nutricionales y en características tanto fisicoquímicas como sensoriales. Los porcentajes de grasa, son similares entre las leches de cabra, vaca y humano, así mismo está subdividida de una manera semejante, encontrándose: triglicéridos, di y monoglicéridos, fosfolípidos, glicolípidos, vitaminas liposolubles y esteroides donde encontramos al colesterol y a los fitoesteroides (Fraga *et al.*, 2000).

Uno de los aspectos más importantes de la grasa butírica, es la forma como se presentan los glóbulos y la composición o porcentaje de los distintos ácidos grasos. El 65% de los glóbulos de grasa, tienen un diámetro inferior a 3 micras en comparación al 42% que se presenta en la leche de vaca. El promedio de diámetro globular es 3.5 micras, considerablemente menor al de la leche de vaca, que es de 4.5 micras. Así con el mismo porcentaje de grasa, la cabra presenta el doble número de glóbulos de grasa que la de vaca. Cuanto más pequeños son los glóbulos de grasa mejor es la dispersión de los mismos en la fase líquida de la leche; además este menor diámetro le otorga a la grasa la característica de mayor digestibilidad, disminuyendo el tiempo de tránsito intestinal al facilitar el ataque de las lipasas (Heinlein y Wendorf, 2006).

La grasa de leche de cabra posee un mayor porcentaje (>75%) de ácidos grasos de cadena media y corta (C6, C8, C10, C14, C16, C18 y C18:1) respecto al de la leche de vaca. Abundan los ácidos caproico, caprílico, cáprico, láurico, mirístico, palmítico, linolénico y araquidónico; que además de aportar sabor y olor característico, favorecen la acción de las lipasas que atacan el enlace éster (Park *et al.*, 2007). Además aporta un considerable contenido de ácido linoleico conjugado (CLA) al que se le atribuyen propiedades anticancerígenas (Khanal, 2004).

Por otro lado, los carbohidratos, se presentan casi exclusivamente como lactosa, sintetizada a partir de la glucosa en las glándulas mamarias y que constituye alrededor de 4.5% de la leche, aunque presenta pequeñas cantidades de monosacáridos y oligosacáridos como el inositol (Arbiza y Lucas, 2001; Park *et al.*, 2007).

Los minerales representan una fracción reducida: menor al 1%. Muchos de los componentes minerales poseen gran importancia bromatológica e industrial, como el calcio y el fósforo que influyen en la coagulación, el equilibrio salino y la estabilidad de la leche al calentarse, además en el aspecto nutricional proporciona una buena mineralización al organismo, ayudando a formar huesos más compactos (Arbiza y Lucas, 2001).

Cuadro 7. Promedio del contenido mineral en leches de cabra, vaca y humana (Arbiza y Lucas, 2001).

Mineral (mg/100g)	Cabra	Vaca	Humana
Calcio	134	119	32
Fósforo	100.7 – 111	93	14
Sodio	43.5 – 50	49	17
Potasio	189.9 – 204	151	51
Magnesio	4.0 – 21	13	3
Cloro	165.1	-	-
Fierro	0.05	0.05	0.03

En general, las leches de cabra y de vaca difieren poco en su contenido mineral, la primera es más rica en calcio, fósforo, potasio y cloro. La leche de cabra cubre muy bien los requerimientos minerales de un infante, ya que como se observa en el Cuadro 7, posee todos los elementos considerados y en mayor cantidad que en la mujer (O'Connor, 1994).

En relación con las vitaminas las diferencias se acortan y desde el punto de vista bromatológico la leche de cabra provee adecuadamente de vitamina A, niacina, tiamina, riboflavina y pantotenatos. Sin embargo, comparado con la leche de vaca, la leche de cabra es deficiente en ácido fólico y vitamina B₁₂ (Jennes, 1980).

La leche de cabra carece de pigmentos carotínicos, debido a eso, tanto la crema como la mantequilla son totalmente blancas. La determinación de la presencia de carotenos es uno de los métodos para descubrir la adulteración de leche de cabra por la de vaca (Arbiza y Lucas, 2001).

A la leche de cabra se le han atribuido desde la antigüedad propiedades terapéuticas y farmacológicas. Se ha observado que personas afectadas malestares gastroentéricos (úlceras gástricas, estenosis pilórica, etc.) evolucionan favorablemente con la ingestión de esta leche, debido a la capacidad amortiguadora que presenta (Park, 2000).

Se prescribe a pacientes con exceso de colesterol, ya que presenta entre un 20% y 30% menos (11 mg/100mL), en comparación a la leche de vaca (14 mg/100mL), convirtiéndose en un producto importante para la prevención de diabetes, aterosclerosis u otras afecciones cardiovasculares (Santos, 1996; Morales, 2000; USDA, 2007). La leche de cabra es particularmente rica en Coenzima Q, a la cual le ha atribuido cierta actividad anticancerígena, destacándose que las personas que son sometidas a la quimioterapia, al tomar la leche de cabra, pueden atenuar algunas reacciones secundarias tales como la caída del pelo, los vómitos y la asimilación de los otros alimentos (Castro, 2008).

III.1.3 ESTEROLES DE LA LECHE

Los esteroides son una fracción de la parte grasa de la leche, y aunque se encuentran distribuidos en una mínima proporción (Cuadro 8), son esenciales por su funcionalidad. En grasa de leche se reporta un contenido total de esteroides de 300 mg/100 g lo que es equivalente a 10 mg/mL de leche (Park *et al.*, 2007).

Cuadro 8. Composición de la fracción lipídica de la leche
(Fraga *et al.*, 2000; Goudjil *et al.*, 2002).

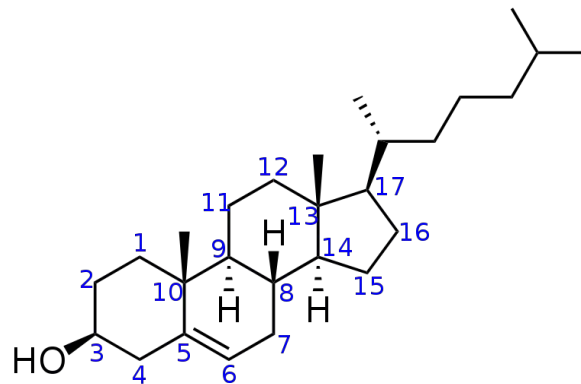
Fracción	g/100g (%)
Triglicéridos	98
Mono y diglicéridos	1
Fosfolípidos	0.5 - 1.0
Esteroides	Colesterol (99.6%)
	0.2 -0.5 } Fitoesteroides (<1%)
Otros (vitaminas liposolubles, glicolípidos)	0.5 -1.3

III.2 COLESTEROL

El colesterol es el esteroide más abundante en los productos de origen animal, este compuesto ha cobrado gran importancia por los recientes problemas implicados a la salud pública referentes a la aterosclerosis (Santos *et al.*, 2006).

La mayor parte del colesterol (90%) se encuentra en los alimentos en forma de ésteres de colesterol, en los que algún ácido graso o un glicolípido, se esterifica al grupo hidroxilo que está en posición 3 del pentano prehidrofenantreno (Keenan y Dylewinski, 1995).

Figura 4. Estructura química del colesterol (Lehninger, 1976).

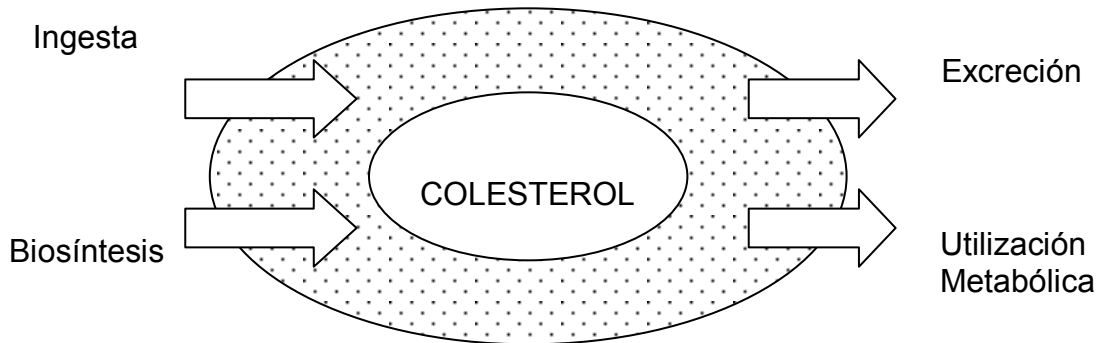


Los mamíferos incorporan el colesterol a su organismo por medio de dos vías:

- A) Vía exógena o absorción de colesterol contenido en los alimentos. El colesterol se encuentra primordialmente en los alimentos de origen animal, mayoritariamente la yema de huevo, hígado, lácteos, cerebro (sesos) y músculo esquelético (carnes rojas). Aproximadamente el 20% del colesterol circulante en el plasma es resultante de la ingesta (Quesada, 2003).
- B) Vía endógena o síntesis *de novo*. Es la síntesis de colesterol en las células animales a partir de su precursor, el acetato, en su forma activada acetil-coenzima A; síntesis dada por el genotipo del individuo, y donde la edad y estados fisiológicos, incrementan los niveles. El 80% del colesterol circulante en el plasma esta dado por vía endógena (Santos, 2006; Valenzuela, 2004). El colesterol es sintetizado prácticamente por todas las células nucleadas del organismo. El hígado es el principal órgano productor (10% del total), siendo otros órganos importantes en la producción el intestino, corteza suprarrenal, y los órganos reproductores femenino y masculino. La síntesis del colesterol se regula por la ingesta de colesterol en la dieta (Quesada, 2003).

La cantidad de colesterol que circula en el plasma resulta de la compleja homeostasis del esterol, donde intervienen en forma regulada la biosíntesis, la utilización metabólica, la excreción biliar y la reabsorción en el tracto digestivo que constituye el "pool metabólico" de colesterol (Valenzuela, 2004).

Figura 10. Regulación de la homeostasis del colesterol (Valenzuela, 2004).



Como mencionó Lehninger (1976); el colesterol es imprescindible para el metabolismo por sus numerosas funciones:

- Estructural: el colesterol es un componente de las membranas plasmáticas de los animales.
- Precursor de la vitamina D: esencial en el metabolismo del calcio.
- Precursor de las hormonas sexuales: progesterona, estrógenos y testosterona.
- Precursor de las hormonas corticoesteroidales: cortisol y aldosterona.
- Precursor de las sales biliares: esenciales en la absorción de algunos nutrientes lipídicos y vía principal para la excreción de colesterol corporal.

Los ésteres del colesterol no sufren ninguna modificación en la digestión bucal y gástrica. El páncreas secreta hacia el intestino delgado una poderosa cantidad de colesterol esterasa que hidroliza prácticamente el 100% de los ésteres de colesterol con la ayuda de las sales biliares, cuyos componentes actúan como activadores de la enzima (Plat y Mensink, 2001).

Los mismos autores (2005), reportaron que el colesterol libre que se encuentra en el lumen intestinal durante el proceso digestivo está constituido por el colesterol dietario (250-500 mg/día) y por el colesterol contenido en la secreción biliar (600-1000 mg/día).

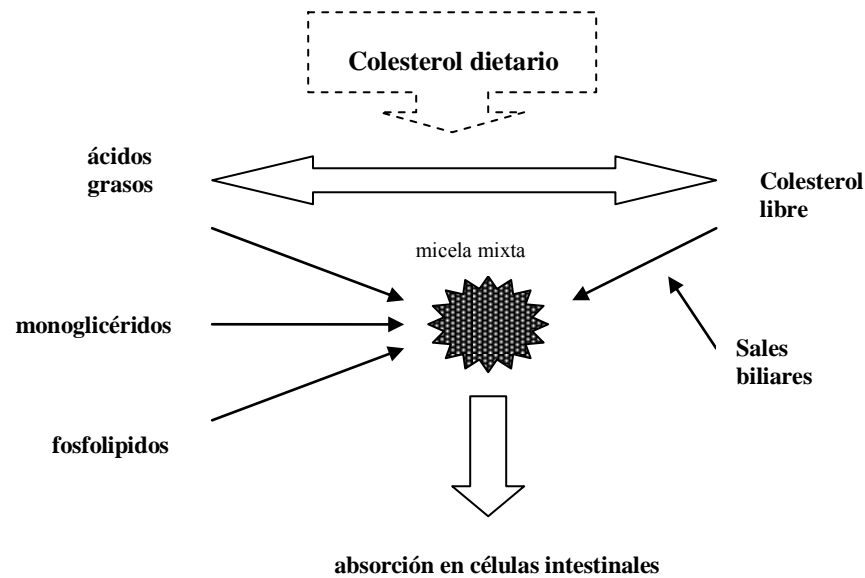
El colesterol libre es incorporado a las micelas mixtas quedando "atrapado" o "solubilizado" en la fracción fosfolipídica que forma la superficie de éstas estructuras. Las micelas, que además contienen ácidos grasos libres, monoglicéridos y fosfoglicerato, se aproximan al ribete en cepillo de las microvellosidades del epitelio intestinal donde la turbulencia del contenido intestinal es muy baja y al contacto con la membrana transfieren al interior de la célula su contenido (Jong *et al.*, 2003).

Los mecanismos moleculares implicados en la absorción del colesterol desde el lumen intestinal a las células del epitelio son aún poco conocidos. Sin embargo, recientemente se ha caracterizado una proteína (identificada como NPC1 L1, Niemann-Pick C1Like 1) que tiene una función clave en el transporte de esteroides al enterocito. Se estima que aproximadamente un 50% del colesterol se reabsorbe y el resto se elimina por las deposiciones (Valenzuela, 2004).

Es necesario destacar que el colesterol, a diferencia de otras moléculas, no se biotransforma dentro del organismo, de modo que la única vía de eliminación es la intestinal. En la Figura 6 se muestra un esquema de la digestión del colesterol en el tracto intestinal (Plat y Mensink, 2005).

El colesterol absorbido es nuevamente reesterificado en la célula intestinal. Esta esterificación la realiza la enzima acilCoA-colesterol-acil-transferasa o también llamada ACAT, por sus siglas en inglés (Valenzuela, 2004).

Figura 6. Metabolismo intestinal del colesterol (Valenzuela 2004).

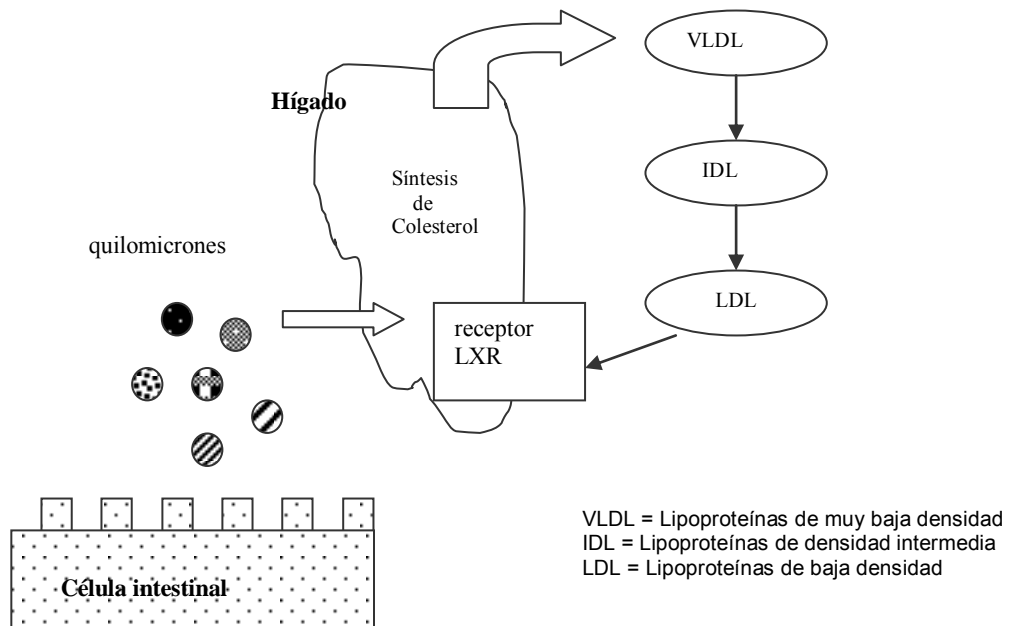


Plat y Mensink en 2005 hicieron referencia a que el colesterol una vez esterificado se incorpora a las estructuras de los quilomicrones, los cuales la célula intestinal exporta, primero a la linfa, y posteriormente al torrente sanguíneo. Ya en circulación, los quilomicrones se transforman a remanentes de quilomicrones, que son llevados al hígado y son biotransformados en lipoproteínas de muy baja densidad conocidas como VLDL (very low density lipoproteins) por sus siglas en inglés.

Las VLDL pueden a su vez ser convertidos en lipoproteínas de intermedia densidad: IDL (intermediate lipoproteins) y éstas a lipoproteínas de baja densidad: LDL (low density lipoproteins).

El colesterol que no es reesterificado en la célula intestinal es nuevamente secretado hacia el lumen del intestino. En este proceso interviene un transportador que pertenece a la familia tipo ABC (adenosine-triphosphate binding cassette), nombre dado por sus siglas en inglés; específicamente: ABC_{A1}, ABC_{G5}, y ABC_{G8}, que utilizan la energía aportada por la hidrólisis del ATP (adenosina trifosfato), para realizar el retorno del colesterol hacia el lumen intestinal (Plat y Mensink, 2002; Naumann *et al.*, 2003; Chan *et al.*, 2006).

Figura 7. Mecanismo bioquímico del transporte del colesterol (Plat y Mensink, 2005).

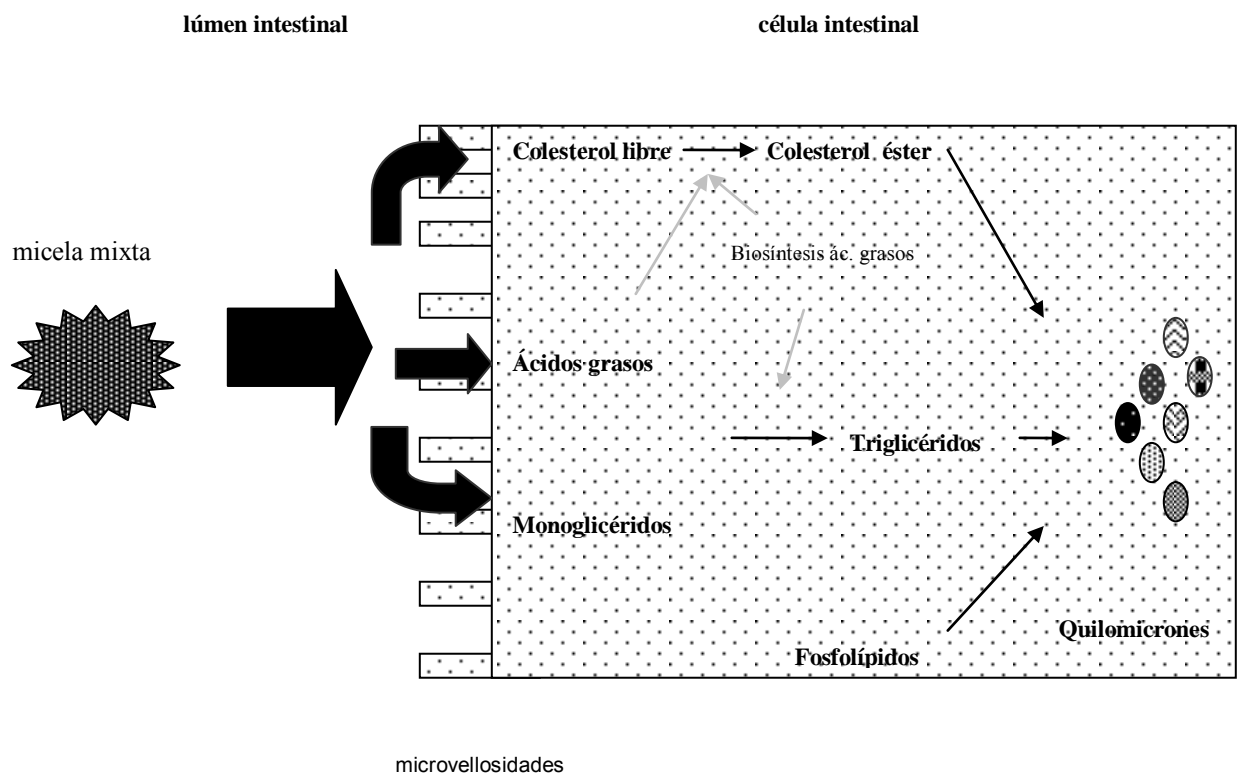


La transcripción de los transportadores ABC depende del oxisterol intracelular que es originado por la oxidación de los esteroides en un receptor específico denominado LXR, en el hígado, cuya función es impedir la acumulación de colesterol en la célula, promoviendo la expresión de los genes transportadores ABC y por tanto el retorno de los esteroides hacia el lumen. (Plat y Mensink, 2002; Jong *et al.*, 2003). En la Figura 8 se esquematiza el proceso de reesterificación del colesterol por la acilCoA-colesterol-acil-transferasa (ACAT) en las células intestinales.

Se reconoce el papel causal del colesterol presente en las LDL como parte de la patogenia de la aterosclerosis (Katy y Magee, 2006). De esta manera, la existencia sostenida de niveles elevados de colesterol LDL (popularmente conocido como "colesterol malo") por encima de los valores recomendados (200 mg/dL plasma), incrementa el riesgo de padecer desórdenes cardiovasculares.

De manera interesante, el colesterol presente en las lipoproteínas de alta densidad (HDL) ejerce un papel protector dentro del sistema cardiovascular; por lo que se le reconoce como "colesterol bueno". Así, el colesterol tiene un impacto dual y complejo sobre la fisiopatología de la aterosclerosis (Devlin, 2004).

FIGURA 8. Reesterificación del colesterol (Valenzuela, 2004).



III.3 FITOESTEROLES

Las enfermedades cardiovasculares representan el mayor problema de salud pública, constituyendo la primera causa de muerte en el mundo occidental. La cardiopatía isquémica es la complicación clínica principal de la aterosclerosis, lesión vascular que se produce por la interacción entre el colesterol transportado en las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y las células sanguíneas de la pared vascular. La evidencia epidemiológica de que el colesterol plasmático, particularmente el LDL tiene un papel causal en el desarrollo de la aterosclerosis se ha establecido en diferentes estudios, gracias a los cuales se demostró que la mortalidad por cardiopatía puede predecirse conociendo las concentraciones de colesterol plasmático. Así mismo, el consumo de grasas saturadas se correlaciona con las altas concentraciones de colesterol en sangre y con el riesgo de cardiopatías. (Mata, 2002).

Con base a estos antecedentes, se hace evidente la necesidad de reducir los niveles de colesterol en sangre, por lo que inicialmente debe considerarse un análisis de los componentes de la dieta, ya que estos pueden actuar como acrecentadores de las concentraciones plasmáticas o como aliados en la prevención de la acumulación del colesterol. Así, como parte del control se encuentran los fitoesteroles y fitoestanoles; éstos son esteroides de origen vegetal ampliamente distribuidos en la naturaleza y cuya estructura es muy similar a la del colesterol, únicamente difiriendo en la posición de un grupo metilo o etilo en la cadena lateral (Fernandes y Cabral, 2006; Lagarda *et al.*, 2006).

Desde hace años se conoce que estos compuestos (fitoesteroles) producen efectos hipocolesterolemicos cuando son ingeridos en un rango de 1 a 3 g/día, lo que es indicado para individuos con hipercolesterolemias leves o moderadas; el efecto de reducción depende de varios factores dentro de los cuales la edad del paciente ha demostrado ser un efecto determinante, ya que en personas que oscilan entre los 50 - 60 años de edad, la reducción de

colesterol supera el 20%, mientras que en individuos de 30 a 39 años la disminución es casi del 14% (Law, 2000; Mata, 2002; Volger *et al.*, 2001; Mensink *et al.*, 2001; Nauman *et al.*, 2003; Plat *et al.*, 2006).

En 1951 se realizó la primera observación referente al efecto hipocolesterolémico que ejerce el consumo habitual de fitoesteroles como parte de la dieta. La evidencia experimental de este efecto es contundente y está avalado por diversos trabajos científicos realizados en modelos experimentales (ratas) y humanos (Heinemann *et al.*, 1986; Mensink *et al.*, 2001; Plat y Mensink, 2001; Plat *et al.*, 2006; Madsen *et al.*, 2007; Hallikainen *et al.*, 2008).

En este sentido, diversas investigaciones han demostrado que el consumo de alimentos enriquecidos con β -sitosterol, campesterol y estigmasterol o con el derivados hidrogenados como el sitostanol, por individuos moderadamente hipercolesterolémicos (220-240 mg/dL colesterol), permite reducciones de la fracción LDL del colesterol circulante, entre un 10 y un 15% aproximadamente; sobre todo cuando se ingieren entre 1.5 y 3.0 gramos al día de esteroides vegetales, no afectando el contenido de colesterol-HDL, el nivel de triglicéridos y la excreción de sales biliares (Hallikainen *et al.*, 1999; Jong *et al.*, 2003; Plat y Mensink, 2005; Fransen *et al.*, 2007; Weingärtner *et al.*, 2009).

III.3.1 MECANISMO BIOQUIMICO DE ABSORCIÓN DE LOS FITOESTEROLES

Debido a que los fitoesteroides son más lipofílicos que el propio colesterol (propiedad derivada de las características de mayor extensión y complejidad de la cadena lateral), los esteroides y los estanoles desplazan competitivamente al colesterol de la micela mixta del ribete en cepillo formado por las microvellosidades de las células intestinales. Este reemplazamiento trae como consecuencia la reducción en las concentraciones de colesterol micelar lo que

provoca que disminuya la tasa de reesterificación en el enterocito (Valenzuela, 2004; Plat y Mensink, 2005; Fernandes y Cabral, 2006).

El colesterol no emulsionado (desplazado de la micela) no puede ser absorbido y es eliminado como parte de las deposiciones (Volger *et al.*, 2001). Por su parte, los fitoesteroles y particularmente, los fitoestanoles presentan escasa absorción a nivel intestinal; por lo cual, durante el proceso de transferencia de los ácidos grasos y monoglicéridos desde la micela a las células intestinales, los esteroles y estanoles acompañan al colesterol no absorbido, siendo finalmente excretados a través de las deposiciones (Jong *et al.*, 2003).

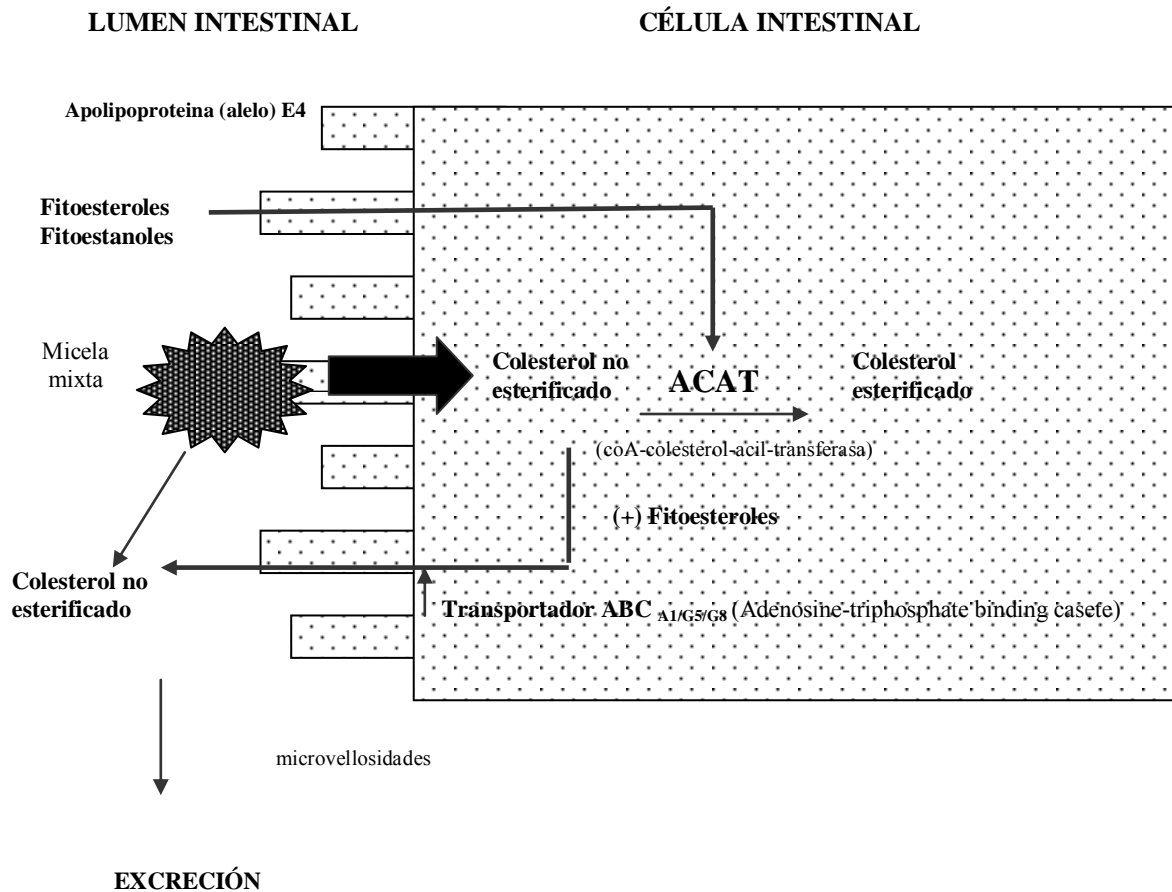
La absorción intestinal de los fitoesteroles oscila entre 0.4 a 3.5%. Para los estanoles ocurre en un rango de entre 0.02 y 0.3%, mientras que el colesterol es absorbido entre un 30 y un 80%; esta característica se debe posiblemente a la reducida esterificación de los esteroles vegetales (Naumann *et al.*, 2003).

Sin embargo, cuando los esteroles y estanoles logran ser absorbidos gracias a la acción del gen que codifica para la proteína NPC1L1 (Niemann-Pick C1Like 1), ejercen una aparente inhibición de la acil coA-colesterol-acil-transferasa (ACAT), con lo cual el colesterol no es eficientemente reesterificado e incorporado a los quilomicrones, estimulado así el retorno hacia el lumen intestinal del colesterol no esterificado. Por otro lado, los esteroles también pudieran producir una sobre expresión de los genes que codifican las proteínas de la estructura del transportador tipo adenosintrifosfato binding cassette (ABC/A1,G1,G8), acelerando el flujo inverso del colesterol al lumen intestinal (Valenzuela, 2004).

Por otra parte, se conocen seis fenotipos de apolipoproteínas tipo E en humanos (ApoE). Éstas están codificadas por los alelos E2, E3, y E4. Este polimorfismo se relaciona también con la absorción del colesterol al enterocito; y es el alelo E4 de la apolipoproteína el que provoca inhibición del catabolismo

de los esteroides y, por tanto, una disminución de lipoproteínas de baja densidad (LDL) en sangre (Chan *et al.*, 2006).

FIGURA 9. Niveles de acción de los fitoesteroides en la absorción, reesterificación y retorno del colesterol al lumen (Valenzuela, 2004).



Los esteroides y estanoles que alcanzan la sangre (0.01-0.3%), son esterificados a nivel plasmático y transportados al hígado mediante el mecanismo de transporte reverso del colesterol. Se estima que los fitoesteroides no producen un efecto de competencia metabólica con el colesterol ya que los esteroides vegetales se encuentran en concentraciones plasmáticas mucho menores que el colesterol (Jong *et al.*, 2003; Naumann *et al.*, 2003).

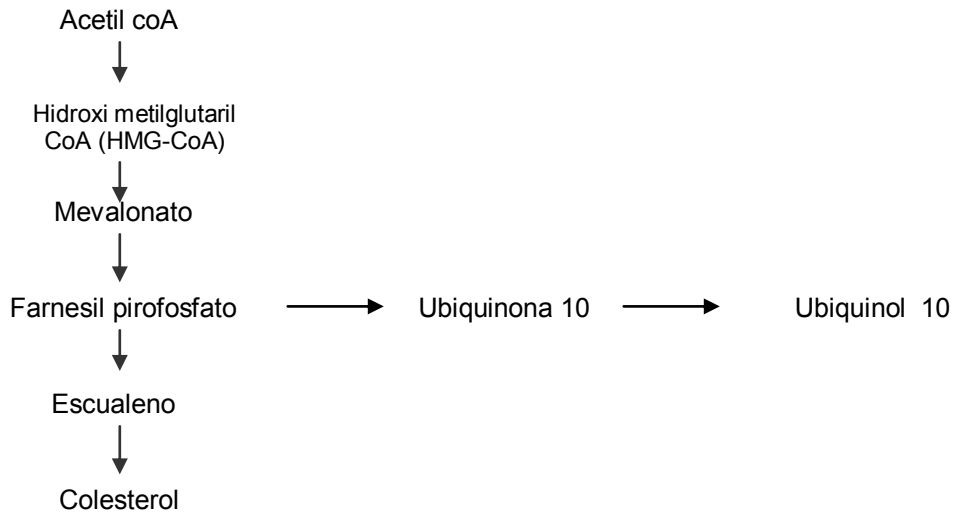
El contenido total de fitoesteroles en sangre está dado por diferentes factores como: la ingesta/absorción (4%), el papel de los transportadores adenosin trifosfato binding cassette ó ABC_{A1/G8/G5} (8%), el género del individuo (21%), el fenotipo ApoE (15%) y algunos otros factores que hasta ahora son desconocidos (Chan *et al.*, 2006).

III.3.2 TOXICIDAD DE LOS FITOESTEROLES

No se han reportado efectos tóxicos derivados del consumo de fitoesteroles y de fitoestanoles en animales y humanos. La administración crónica subcutánea de β -sitosterol es bien tolerada por las ratas y no se han registrado evidencias en lesiones visibles o microscópicas a nivel hepático y renal (Valenzuela, 2004).

La administración de altas dosis de fitoesteroles (20 g/día) produce ocasionalmente diarrea en humanos. Dosis subcutáneas superiores a 5 mg/kg, administradas a ratas diariamente, se relacionan con una disminución en la producción de semen y pérdida de peso de los testículos. Sin embargo, este efecto desaparece al suspender la administración de los esteroides (Valenzuela, 2002).

Plat y Mensink en 2001 realizaron un protocolo experimental en la Universidad de Maastricht, con el fin de conocer si además de disminución de la concentración de lipoproteínas de baja densidad (LDL) en plasma, los fitoesteroides reducían la absorción de diferentes compuestos lipofílicos como carotenoides (luteína, zeaxantina y β -criptoxantina) y licopenos. Los resultados demostraron que la presencia de éstos últimos compuestos se registró disminuida en un 10%, valor cuantificado en sangre de ratones, cuyas dietas contuvieron entre 1.5 y 2 g de fitoesteroides por día, mientras por otra parte, la presencia de carotenoides permaneció sin cambio sin que afectase su absorción. Así mismo demostraron que la producción de la ubiquinona Q10 tampoco fuera afectada, como pudiera suponerse al ser sintetizada como se muestra en la Figura 10.

Figura 10. Biosíntesis del colesterol (Plat y Mensink, 2001).

Por su parte, Chan *et al.* (2006) evaluaron la concentración de esteroides vegetales en sangre de 45 individuos de un nicho de la población canadiense, analizada durante casi 2 décadas (1986-2005). Reportaron concentraciones de alrededor de $14.2 \pm 5 \mu\text{mol/L}$ y de $7.9 \pm 2.7 \mu\text{mol/L}$ de campesterol y β -sitosterol respectivamente. Mencionaron que la elevada concentración (50-100 veces más) de fitoesteroides en plasma, que se conoce como sitosterolemia, es debida principalmente a la mutación de los genes que codifican para las proteínas transportadoras ABC (adenosine triphosphate binding cassette), lo que provoca que se inhiba la función de excreción de los esteroides al lumen. De igual forma Jansen, 2006 demostró experimentalmente en ratas, que la mutación en los transportadores ABC_{A1/G5/G8}, produce un efecto de acumulación de estos esteroides a nivel cerebral.

Por otro lado, experimentos recientes en tejidos de animales *in vitro*, han demostrado que los fitoesteroides presentan un efecto positivo al inhibir el crecimiento de tumores, reduciendo el ciclo de reproducción de las células e induciendo la apoptosis, por lo que se les sugiere como agentes anticancerígenos, sin embargo esta propiedad pudiera extenderse a células vasculares “sanas” convirtiéndose en un potencial citotóxico (Awad *et al.*, 2007; Weingätner *et al.*, 2009).

III.3.3 FITOESTEROLES COMO AGENTES FUNCIONALES Y NUTRACÉUTICOS

Los alimentos funcionales se definen como los productos alimenticios de origen animal o vegetal, consumidos como parte en la dieta diaria, que además de aportar nutrientes poseen componentes bioactivos. Estos compuestos ejercen efectos que modulan funciones en el cuerpo que resultan benéficos para la salud. En ciertos casos, dichos componentes bioactivos son distribuidos comercialmente como productos nutraceuticos, los cuales se caracterizan por ser suplementos benéficos para la salud, que se ingieren en forma concentrada, en píldoras, pastillas, cápsulas o tónicos. En la industria farmacéutica los alimentos funcionales de origen vegetal representan una fuente potencial de componentes bioactivos para el desarrollo de fármacos inocuos y altamente eficaces (Drago *et al.*, 2006).

El efecto hipocolesterolémico observado desde 1951, en los fitoesteroles y sus derivados hidrogenados, ha motivado a diferentes empresas el desarrollo de productos enriquecidos con esteroides vegetales (Fernandes y Cabral, 2006).

En 1995 una empresa finlandesa desarrolló una margarina ligera enriquecida con sitostanol, que impactó tanto en Finlandia primeramente, como posteriormente el resto de Europa. La empresa finlandesa ha licenciado sus estanoles a diferentes empresas europeas, lo cual ha permitido la aparición en el mercado de diferentes productos conteniendo fitoestanoles como yogurts, leches y jugos, entre otros (Valenzuela, 2002).

El sitostanol se puede obtener a partir de la hidrogenación controlada de la oleo-resina de pulpa de pino a una concentración: 92% sitostanol, 8% campestanol (Plat y Mensink, 2000; Mensink *et al.*, 2002). Así mismo se puede obtener de aceites vegetales provenientes del frijol de soya, semilla de girasol, palma y maíz entre otros, después de remover impurezas, someter a un blanqueamiento, deodorización y refinamiento (Fernandes y Cabral, 2006).

En las margarinas, el sitostanol está esterificado con ácidos grasos con el propósito de aumentar su liposolubilidad y de disminuir su absorción a nivel intestinal (Fransen *et al.*, 2007). Los diferentes estudios nutricionales realizados con la margarina adicionada de sitostanol han demostrado su eficacia para disminuir el colesterol sanguíneo en individuos levemente hipercolesterolémicos sin alterar el nivel de colesterol-HDL y de los triglicéridos (Mensink, 2002).

En Estados Unidos se han realizado desarrollos similares y actualmente se comercializa una margarina del tipo ligera que contiene β -sitosterol, campesterol y estigmasterol y que mostrara un efecto hipocolesterolémico en protocolos clínicos controlados (Weststrate y Meijer, 1998; Volver *et al.*, 2001).

El consumo de productos enriquecidos con esteroides de plantas fue autorizado desde 1999 (Fransen *et al.*, 2007) por el Comité Europeo de Científicos en Alimentos (The European Scientific Comité on Foods). En el mismo año en los Estados Unidos, un panel independiente de científicos calificó a los fitoesteroides como un aditivo seguro tipo GRAS (Lagarda *et al.*, 2006). Así mismo, el Programa Nacional de Expertos en Educación del Colesterol (The National Cholesterol Education Program Expert Panel: NCEP), desde 2001 recomienda la ingesta de alimentos funcionales o enriquecidos con fitoesteroides y estanoles como estrategia para la prevención de enfermedades cardiovasculares (Weingätner *et al.*, 2009).

En marzo de 2004 se creó en Europa una comisión encargada de la vigilancia y regulación de la adición de esteroides vegetales a los alimentos (Lagarda *et al.*, 2006).

En 2005, se invirtieron 3 billones de dólares para el estudio y la investigación de agentes funcionales y/o nutraceuticos que ayuden a disminuir el nivel de colesterol en sangre (Weingätner *et al.*, 2009).

En la Universidad Maastricht, se llevó a cabo un protocolo experimental con el fin de corroborar el efecto hipercolesterolémico de los fitoesteroles. Se establecieron dos grupos de personas: al primer grupo se le suministró un placebo, mientras que al segundo se le adicionaron esteroides vegetales a su dieta, al incorporarlos a un yogurt bajo en grasa; los resultados demostraron una baja de alrededor de un 10% en concentraciones de LDL plasmático (Mensink *et al.*, 2002).

Trabajos recientes atribuyen a los fitoesteroides contenidos en la fracción no saponificable del aceite de oliva denominado como "virgen" o "extra virgen", el efecto hipocolesterolémico derivado del consumo de aceite de oliva (Valenzuela *et al.*, 2002).

En el área farmacológica, se han realizado protocolos adicionando esteroides vegetales a estatinas (inhibidores de 3 - hidroxil 3 - metil glutaril coenzima A reductasa) a la dieta de animales de laboratorio (ratas), reportándose un efecto sinérgico al encontrarse un nivel de reducción de las LDL en plasma a razón del 40% (Plat *et al.*, 2006, Chan *et al.*, 2006).

Recientemente en EUA se creó un analgésico hecho a base de 81 mg de ácido acetilsalicílico + 400 mg de esteroides vegetales. Este fármaco novedoso presenta la dualidad de las características analgésicas ya conocidas para la aspirina y el efecto hipocolesterolémico de los fitoesteroides (Weingärtner *et al.*, 2009).

III.4 EL QUESO

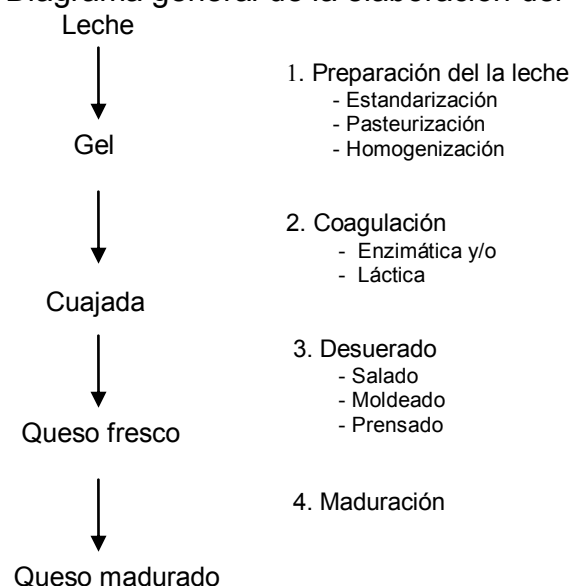
Según la NOM -121 – SSA – 1994, los quesos son productos elaborados con la cuajada de leche estandarizada y pasteurizada de vaca o de otras especies animales, con o sin adición de crema, obtenida por la coagulación de la caseína con cuajo, gérmenes lácticos, enzimas apropiadas, ácidos orgánicos

comestibles y con o sin tratamiento ulterior por calentamiento, drenado, prensado o no, con o sin adición de fermentos de maduración, mohos especiales, sales fundentes e ingredientes comestibles opcionales, dando lugar a las diferentes variedades de quesos pudiendo por su proceso ser: fresco, madurado o procesado.

El queso representa una alternativa sensorialmente diferente para el consumidor y un método de preservación o conservación de los sólidos de la leche junto con un incremento del valor de los mismos, en comparación con la leche fluida para consumo directo; además de que en su elaboración se alienta la actividad económica al sumarse el valor agregado de su producción; el queso es un alimento muy valioso al proporcionar elementos esenciales para la nutrición (Villegas de Gante, 2003).

Los esquemas de fabricación son numerosos y la técnica industrial es derivada de las prácticas artesanales (Eck, 1990). Las operaciones unitarias fundamentales para la preparación de un queso son: preparación de la leche, desuerado, moldeado y maduración (Fox y Cogan, 2004) como a continuación se muestra en la Figura 11.

Figura 11. Diagrama general de la elaboración del queso Fox y Cogan, 2004.



Las diferencias sensoriales que se generan en la enorme variedad de quesos existentes, están dadas por las variaciones aplicadas en cada una de las operaciones mencionadas en la Figura 11. Además de la materia prima utilizada, como es el tipo de leche y de los microorganismos inoculados o nativos en cada producto (García-Garibay *et al.*, 2004).

III.4.1 CLASIFICACIÓN DE LOS QUESOS

Existen diversas clasificaciones de carácter internacional, una de ellas es la denominación de origen, esto es a partir de la zona geográfica que proceden, con lo que se intenta proteger las variedades que desde tiempos antiguos se producen en una zona determinada, contra productores de otras zonas que quisieran aprovechar el buen nombre que han creado los originales (Pastor, 2008).

En España existen hasta ahora 23 quesos protegidos, entre los que destaca el queso manchego, una de las grandes señas de identidad de la región de La Mancha (Desarrollo Rural y de Agricultura, 2008).

Esta indicación geográfica está regulada para los países miembros de la Unión Europea, aunque con particularidades para cada uno de ellos. Funciona de forma muy parecida en Francia, donde se denomina *Appellation d'Origine Contrôlée*, cuyos orígenes se remontan al siglo XV, en el primer intento de proteger el queso Roquefort. Este queso fue el primero en obtener la acreditación de la ley moderna francesa, que ya abarca a más de 40 quesos diferentes. También en Italia la *Denominazione di Origine Controllata* protege a quesos como el Parmesano (bajo la marca *Parmigiano-Reggiano*), en Grecia al queso Feta, o en el Reino Unido al Stilton y Cheddar (Desarrollo Rural y de Agricultura, 2008).

Pueden así mismo, clasificarse de acuerdo al tipo de leche usada, por ejemplo aquellos elaborados con leche de vaca, como son: Gouda Neerlandés, el Emmental suizo. Es común también usar leche de oveja o de cabra, lo cual

da un sabor característico al producto. Un ejemplo de queso de cabra con denominación de origen es el queso Majorero, elaborado en Fuerteventura, España (Fox y Cogan, 2004).

Es posible mezclar distintas clases de leche, como en el caso del queso de Cabrales perteneciente al Principado de Asturias, España, en el que se utiliza una mezcla de leche de vaca, oveja y cabra (Fox y Cogan, 2004).

En México existe una gran variedad de quesos, los cuales, según los especialistas, se clasifican de acuerdo a las diferentes características que presentan.

Según la Norma mexicana (NOM -121 – SSA – 1994), la clasificación de quesos es la siguiente:

Quesos frescos: se caracterizan por ser productos de alto contenido de humedad, sabor suave y no tener corteza, pudiendo o no adicionarle ingredientes opcionales y tener un periodo de vida de anaquel corto, requiriendo condiciones de refrigeración.

Quesos madurados: se caracterizan por ser productos de pasta dura, semidura o blanda, con o sin corteza; sometidos a un proceso de maduración mediante la adición de microorganismos, bajo condiciones controladas de tiempo, temperatura y humedad, para provocar en ellos cambios bioquímicos y físicos característicos del producto de que se trate, lo que le permite prolongar su vida de anaquel, los cuales pueden o no requerir condiciones de refrigeración.

Quesos procesados se caracterizan por productos ser elaborados con mezclas de quesos, fusión y emulsión con sales fundentes, aditivos para alimentos permitidos e ingredientes opcionales, sometidos a proceso térmico de 70⁰C durante 30 segundos o someterse a cualquier otra combinación equivalente o mayor de tiempo y temperatura, lo que le permite prolongar la vida de anaquel.

III.4.2 COMPOSICIÓN DE LOS QUESOS

La composición química de los quesos se ve directamente influenciada por el tipo de leche utilizada (alta en grasa, baja en grasa o descremada, especie y raza del animal, temporada del año, hora de ordeña y periodo de lactancia entre otros factores), el proceso de manufactura y en menor medida por el grado de maduración (O'Brien y O'Connor, 2004).

Los nutrientes de la leche insolubles en agua: caseína coagulada, minerales coloidales, grasa, esteroides, fosfolípidos y vitaminas hidrosolubles, son retenidos en la cuajada, mientras que los constituyentes de la leche solubles en agua: proteínas de hidrosolubles, lactosa, vitaminas y minerales lipofóbicos se separan en el suero (O'Brien y O'Connor, 2004).

En Cuadro 9 se presenta la composición química proximal de algunos de los tipos de queso más importantes, manufacturados y consumidos mundialmente.

Cuadro 9. Composición proximal de algunas de las diferentes variedades de queso (O'Brien y O'Connor, 2004; Villegas de Gante, 2003).

Tipo de queso	Humedad	Proteína	Grasa	Colesterol (mg/100g)	Energía (kcal/100g)
Edam	43.8	26.0	25.4	80	333
Emmental	35.7	28.7	29.7	90	382
Feta	56.5	15.6	20.2	70	250
Gouda	40.1	24.0	31.0	100	375
Gruyere	35.0	27.2	33.3	65	409
Mozzarella	49.8	25.1	21.0	65	289
Parmesano	18.4	34.9	32.7	100	452
Ricotta	72.1	9.4	11.0	50	144
Roquefort	41.3	19.7	32.9	90	375
Petit suisse	79.0	8.5	7.5	-	118
Panela	58.0	20.0	20.0	-	-
Cotija	37.4	28.8	24.0	-	-
Oaxaca	49.1	24.4	19.9	-	-

III.5 QUESO DE LECHE DE CABRA

Este tipo de queso es el resultado de la coagulación de la leche de cabra estandarizada empleando cuajo, en condiciones especiales de tiempo y temperatura. Este producto sensorialmente es blanco, húmedo, con sabor agudo debido a la presencia de compuestos volátiles como son los ácidos: hexanoico, octanoico, decanoico, 4 metil-octanoico y 4 etil-octanoico, entre otros; con características propias dependiendo del tipo (Lé Quéré *et al.*, 1998).

Dentro de los quesos elaborados con leche de cabra, encontramos diferentes tipos, como son:

SAINTE-MAURÉ: queso de origen francés, de pasta blanda, generalmente de forma cilíndrica, corteza estriada por el reposo en el afinado (10 días – 4 semanas), la especie microbiana dominante en este tipo de quesos es *Debaryomyces hansenii*. Puede estar cubierto de una capa fina de ceniza, que lo vuelve ligeramente azulado y mejora su conservación, aunque también existe en su versión natural y en ocasiones adicionado con diferentes sabores como son cebolla, ajo, ajonjolí, etcétera (Fox y Cogan, 2004).

PANELA: Queso de origen mexicano, de consistencia sólida, blando, suave aroma, sabor ligeramente salado por la adición controlada de cloruro de sodio. Después del desuerado aun mantiene un alto contenido en agua, generalmente es moldeado en cestos (Juárez, 2008).

FETA: Queso de origen griego, consistencia sólida, cuajada blanca, después de ser desuerado se sala en salmuera. El afinado se realiza a temperaturas entre 4-6°C, por un mínimo de 2 meses. Este tipo de queso presenta un fuerte carácter, debido a la presencia de compuestos volátiles, con contenidos elevados de etanol, propanol, 2-butanol y 2-butanona (Eck, 1990).

III.5.1 COMPOSICIÓN DEL QUESO DE LECHE DE CABRA

En cuanto a la composición química del queso de leche de cabra, algunos autores han reportado la composición proximal, según se muestra en el cuadro siguiente:

Cuadro 10. Composición proximal (g/100g base húmeda) del queso de leche de cabra del tipo Sainte- Mauré.

	Kosikousky y Mistry, 1997	Gambelli <i>et al.</i> , 1999	Park, 2000	Bonilla, 2005	Cuchillo, 2006	Fuentes, 2009
Humedad	60.7	67.0	59.8	56.5	53.2	53.64
Proteína	18.5	9.0	18.9	16.2	14.5	16.7
Grasa	21.0	18.6	22.5	14.5	22.0	28.8
Energía (kcal/100g)	268	21.5	-	23.8	240	270.8
Colesterol (mg/100g)	46	55.2	109.9	90.3	91.6	68.8

III.5.2 EL QUESO DE LECHE DE CABRA EN MÉXICO

El queso de leche de cabra en México es típicamente suave, ligeramente ácido y característicamente untable. La información referente a los aspectos nutrimentales de este producto está basada en la que el productor difunde a través de la etiqueta y que se restringe a las características comerciales habituales (Bonilla, 2005). La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación en 2003, señaló que la elaboración de quesos de cabra ha cobrado auge en México. La mayoría de los quesos de leche de cabra que se

producen en nuestro país son frescos, ya que son los que se acoplan al gusto de los consumidores.

Tradicionalmente la dieta del mexicano es pobre en proteínas de origen animal, lo cual podría cambiar con la adición del queso como alimento de ingesta frecuente. En México el consumo por habitante de este producto es tan solo del 60% de la población, donde el 15% lo consume de forma limitada y el restante 40% nunca lo consume (Morales *et al.*, 2003).

El queso de leche de cabra es un producto que ha dejado de encontrarse exclusivamente de forma artesanal en las carreteras, y cuya presencia, ahora en diversas variedades, se ha desplegado en los supermercados, restaurantes y tiendas gourmet de todo el país (Bonilla, 2005).

El queso de leche de cabra tiene un sabor muy especial que no tiene el precedente de leche de vaca. Generalmente es usado en ensaladas o solo, acompañado de un buen vino, aunque puede usarse como materia prima para infinidad de platillos. Existen en el mercado nacional aproximadamente 30 marcas comerciales de queso de leche de cabra, tanto nacionales como extranjeras (provenientes de Francia, Estados Unidos de Norte América y España principalmente). Alrededor de 23 productos comerciales son elaborados en México y en su mayoría son de tipo Sante-Mauré, sin embargo también se ofrece y el tipo Feta y Panela (Fuentes, 2009).

IV. HIPÓTESIS

La naturaleza del queso de leche de cabra no sugiere la presencia de fitosteroles (β -sitosterol, campesterol y estigmasterol), sin embargo debido a factores como la alimentación animal o la adición será posible su determinación.

V. MATERIALES Y MÉTODO

V.1 MUESTRAS EXPERIMENTALES

Las muestras de productos, se adquirieron de diversos establecimientos comerciales del área metropolitana de la ciudad de México, desde tiendas departamentales, gourmet, de autoservicio, distribuidores independientes hasta mayoristas. Las muestras, fueron compradas durante los meses de Septiembre y Octubre de 2007; manteniéndose en congelación (-18°C) para su conservación.

Se colectaron 23 diferentes productos comerciales de quesos de cabra, de los cuales, uno fue del tipo Panela, 5 fueron del tipo Feta y el resto del tipo Sainte-Mauré. Se adquirieron tres lotes distintos de cada marca (excepto del queso tipo Panela, del cual solo se consiguió un lote) lo que se refiere a que cada día de fabricación fue distinto. Se identificaron como lote A, B y C respectivamente.

A continuación se realizó una descripción de la información contenida en las etiquetas de los respectivos productos; definiendo aspectos comerciales como: lugar de origen, fabricante, distribuidor, ingredientes y precio; además de aspectos nutrimentales: humedad, contenido de grasa, carbohidratos, sodio, calcio y proteína (Cuadro 11 y 12).

V.2 LUGAR DE TRABAJO

La presente investigación se llevó a cabo en los laboratorios 1 y 2 del Departamento de Nutrición Animal de la Dirección de Nutrición del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”. Calle Vasco de Quiroga No.15, Col. Sección XVI, Tlalpan. Distrito Federal, C.P. 14000.

Cuadro 11. Aspectos comerciales de los quesos de leche de cabra manufacturados en México

No.	Marca	Descripción	Lugar de origen	Distribuidor	Tipo	Presentación (g)	\$/Kg (MXN)
1	Montchevré	Producto fino elaborado a partir de leche pasteurizada de cabra, emplea cultivos lácticos, cloruro de calcio, cuajo y sal. Queso en forma de rollo, empacado al vacío.	Linares, Nuevo León.	Cáprico		250	160.0
2	Notre Dame	Producto elaborado con leche pasteurizada 100% de cabra, fermentos lácteos y sal yodatada. Queso en forma de rollo.	México, D.F.	Delipasta		200	135.0
3	Rancho Vistalegre	Producto elaborado a partir de leche entera pasteurizada de cabra, emplea fermentos lácticos, cloruro de calcio y cuajo. Queso en forma de rollo.	Malinalco, Estado de México.	Alfil	Sainte-Mauré	200	180.0
4	La Parroquia de Xico	Producto en rollo, elaborado con leche entera pasteurizada de cabra, cultivo lácteo, cuajo y sal común.	Xico, Veracruz.	Xico		180	166.7
5	Lanzarote	Producto elaborado a partir de leche entera pasteurizada de cabra, cultivos lácticos, sal refinada yodatada y cuajo, con forma de rollo.	Malinalco, Estado de México.	Algil		200	195.0
6	Chateau Blanc	Producto elaborado de leche entera pasteurizada de cabra, emplea fermentos lácticos, cloruro de calcio y cuajo. Con forma de rollo.	México, D.F.	SD		200	190.0
7	Carol	Producto elaborado a partir de leche de cabra, fermentos lácteos, sal cloruro de calcio y cuajo. En forma de rollo.	México, D.F.	Laclette		260	165.4

SD = Sin información disponible

Cuadro 11. Continuación...

MATERIALES Y MÉTODO

No.	Marca	Descripción	Lugar de origen	Distribuidor	Tipo	Presentación (g)	\$/Kg (MXN)
8	La Texana	Producto elaborado a partir de leche de cabra, fermentos lácticos, cuajo y sal. Queso en forma de rollo empacado al vacío.	México, D.F.	SD		300	90.0
9	Queso Caprina	Producto en rollo, elaborado a partir de leche pasteurizada de cabra, cultivos lácticos, cuajo y sal.	Atotonilco, Jalisco.	Caprina		250	196.0
10	El Queso de Cabra	Producto elaborado a partir de leche pasteurizada de cabra, cultivos lácticos, cuajo y sal. Queso en forma de rollo.	León, Guanajuato.	Eurolac		230	226.1
11	Bon Rennés	Producto elaborado a partir de leche entera pasteurizada de cabra, cuajo animal, cultivo láctico y sal. Queso en forma de rollo.	Atotonilco, Jalisco.	Rancho el Chapingo	Sainte-Mauré	250	210.0
12	Castellvell	Producto elaborado a partir de leche entera pasteurizada de cabra, cultivos lácteos y sal. Queso en forma de rollo.	Guanajuato, Guanajuato.	Simantov Maissy		400	182.5
13	Mikonos	Producto elaborado a partir de leche entera pasteurizada de cabra, cuajo, cultivos lácticos y sal. Queso en forma de rollo.	Guanajuato, Guanajuato.	Pic-Nic Delicatessen		150	180.0
14	LeBlanc	Elaborado a partir de leche entera pasteurizada de cabra, sal, cultivos lácticos, cloruro de calcio, cuajo y natamicina como conservador. Queso en forma de rollo.	Xalapa, Veracruz.	Yesenia Prieto Carnero		200	211.0
15	Laclette	Elaborado de leche de cabra, fermentos lácteos, sal, cloruro de calcio y cuajo. Queso en forma de rollo, empacado al vacío.	Carretera México-Qro.	Laclette		230	183.9

SD = Sin información disponible

Cuadro 11. Continuación...

MATERIALES Y MÉTODO

No.	Marca	Descripción	Lugar de origen	Distribuidor	Tipo	Presentación (g)	\$/Kg (MXN)
16	Gourmand Artesanal	Elaborado de leche de cabra pasteurizada, cultivos lácticos, cloruro de calcio, cuajo y sal. Queso en forma de rollo.	Guadalajara, Jalisco.	Marcial. P.	Sainte-Muré	260	184.6
17	Romandie	Elaborado de leche de cabra parcialmente descremada y pasteurizada. Queso en forma de rollo.	SD	SD		200	200.0
18	Diane	Elaborado con leche pasteurizada de cabra, cloruro de calcio, sal. Queso en forma de rollo.	Jorge Miranda H.	S.D		135	140.0
19	Cabrero	Elaborado con leche pasteurizada de cabra pasteurizada, cloruro de calcio, sal, cuajo y cultivos lácticos. Forma rectangular.	Linares, Nuevo León	Caprico	Panela	400	140.0
20	Bon Rennés	Producto elaborado apartir de leche entera, pasteurizada, cuaj animal, cultivo láctico y sal. Forma discoidal.	Atotonilco, Jalisco	Rancho el Champingo		250	244.0
21	Rancho Vistalegre	Producto elaborado a partir de leche entera de cabra pasteurizada, emplea fermentos lácticos, cloruro de calcio y cuajo. Forma de disco.	Malinalco, Estado de México.	Algil	Feta	200	195.0
22	Lanzarote	Producto elaborado a partir de leche entera de cabra pasteurizada, cultivos lácticos, sal refinada yodatada y cuajo. Forma de disco.	Malinalco, Estado de México.	Algil		200	201.0
23	Castelvell	Producto elaborado a partir de leche entera pasteurizada de cabra, cultivos lácteos y sal. Queso en forma rectangular.	Guanajuato, Guanajuato.	Simantov Maissy		400	182.5

SD= Sin Información Disponible

Cuadro 12. Información nutricional en etiqueta de los productos estudiados (por cada 100g base húmeda)

No.	Marca	Tipo	Humedad (%)	Proteína (%)	Carbohidratos (%)	Grasa (%)	Contenido energético (kcal)	Calcio (g)	Sodio (mg)
1	Montchevré		NR	16.7	13.3	23.3	330	NR	333.3
2	Notre Dame		NR	18.0	5.5	22.0	292	0.35	NR
3	Rancho Vistalegre		64.0	13.0	NR	19.0	NR	NR	NR
4	La Proquia de Xico		53.0	17.2	2.9	19.3	235	0.32	460.06
5	Lanzarote		NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
6	Chateau Blanc		NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
7	Carol		60.0	13.0	5.0	18.0	234	0.10	500.0
8	La Texana		NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
9	Queso Caprina		55.0	22.0	NR	18.0	NR	NR	NR
10	El Queso de Cabra		NR	23.0	1.2	26.0	325.9	1.1	800.0
11	Bon Rennes	Sainte	52.6	14.43	9.7	20.76	NR	NR	209.0
12	Castellvell	Maure	53.27	15.1	NR	23.50	NR	NR	NR
3	Mikonos		54.0	15.0	NR	16.0	NR	NR	NR
14	LeBlanc		59.0	15.0	5.0	20.0	255	NR	330.0
15	Laclette		62.0	13.0	5.0	18.0	234	0.10	500.0
16	Gourmand Artesanal		NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
17	Romandie		48.7	23.0	1.2	26.0	325	1.1	800.0
18	Diane		NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
19	Cabrero	Panela	60.0	20.0	NR	16.00	NR	NR	NR
20	Bon Rennés		41.0	18.0	14.0	23.0	NR	NR	NR
21	Rancho Vistalegre		51.25	18.2	NR	26.7	NR	NR	NR
22	Lanzarote	Feta	51.3	18.2	NR	26.7	NR	NR	NR
23	Castellvell		53.27	15.10	NR	23.5	NR	NR	NR

NR = No Reportado en etiqueta

V.3 REACTIVOS

- Cloroformo. Grado reactivo.
- Etil alcohol. Grado reactivo.
- Hexano. Grado reactivo y analítico.
- Agua desionizada obtenida de un equipo Millipore con una resistividad de 18.2 M Ω -cm a 25°C.
- Piridina. Aprox. 99% grado analítico.
- Sulfato de sodio anhidro. Grado reactivo.
- Nitrógeno. Grado cromatográfico extra seco INFRA.
- BSTFA (Bis-trimetilsilil- trifluoroacetamida) + TMCS (trimetilclorosilano) 99:1
- Hidróxido de potasio. Grado reactivo.

V.4 ESTÁNDARES

- 5- α -colestano 96% (Sigma Chemical Company).
- Colesterol. Grado I, aprox. 99%, peso molecular 386.7 g/mol proveniente de hígado de cerdo (Sigma Chemical Company).
- Campesterol (soybean) 65% (Sigma Chemical Company).
- Estigmasterol 95% (Sigma Chemical Company).
- β -sitosterol (soybean) 99.9% (Sigma Chemical Company).

V.5 SOLUCIONES

- 5- α -colestano, colesterol, campesterol, estigmasterol y β -sitosterol. Concentraciones de 5 mg / mL de hexano de cada uno.
- Solución cloroformo – etil alcohol (1:1).
- Solución hidróxido de potasio 33% en agua desionizada.
- Solución saponificadora: 6 mL KOH al 33% + 94 mL de etanol.

V.6 MATERIALES

- Tubos de ensaye de vidrio con tapón de rosca, 25x150mm.
- Embudos de vidrio de filtración por gravedad de tallo corto.
- Espátula “heavy duty” de acero inoxidable.
- Papel filtro Whatman No. 4.
- Pipeta automática de 2 a 10mL.
- Dispensador de 5 a 10 mL.
- Matraces aforados de 100, 200 y 1000 mL.
- Probetas de vidrio graduadas de 10, 25, 50, 250 y 500 mL.
- Pipetas Pasteur de 9 pulgadas.
- Bulbos de latex para pipeta Pasteur con capacidad para 2mL.
- Termómetro de vidrio de -10 a 260° C.

V.7 APARATOS Y EQUIPOS

- Balanza Analítica OHAUS. Corp. Pine BROS, N.J. China. Cap 210g y
Balanza Analítica Tecator 6110.
- Cromatógrafo de Gases con detector de ionización de flama, Integrador de áreas sistema de procesamiento de señales. Marca Varian. Modelo Star 3400.
- Centrífuga Garver Electrofuge. Modelo 55.
- Baño de Agua B-480 Büchi, Brinkmann Instruments Inc. Westbury, N.Y 11590 516/334-7500.
- Agitador Vortex tipo 37.

V.8 MÉTODO

CROMATOGRAFÍA DE GASES

V.8.1 PRIMERA ETAPA EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS TOTALES

Este procedimiento se basó en la técnica aplicada por Bligh y Dyer (1959) y es una variante del método de Folch *et al.* (1957) en la que la proporción de cloroformo-etanol para la extracción de la fase lipídica se modifica a 1:1. Se agregaron 10mL de esta mezcla y se agitó vigorosamente; se adicionaron 10 mL más de la mezcla cloroformo-etanol y se agitó. Se dejó reposar 24 horas, se filtró con sulfato de sodio anhidro. El filtrado, donde es soluble la fase orgánica, se colectó en un tubo de 50 mL previamente pesado y posteriormente se evaporó a sequedad a 60⁰C con flujo de gas nitrógeno. Se calculó el peso de la grasa por gravimetría, es decir, el peso de la grasa seca menos el peso del tubo.

V.8.2 SEGUNDA ETAPA SAPONIFICACIÓN DIRECTA

Se utilizó la metodología de Du y Ahn (2002). A la fracción lipídica obtenida de la extracción se le adicionaron 10 mL de la solución saponificadora. Se incubó con agitación constante durante 1 hora a 60⁰ C. Al término del tiempo especificado, se incubó en hielo durante 10 minutos, se agregaron 5 mL de hexano y 10 mL de agua desionizada, seguido de una agitación vigorosa. La mezcla se dejó reposar por un mínimo de 15 horas para favorecer la separación de fases y al término de este periodo se centrifugó a 3500 revoluciones por minuto (rpm) por 10 min. La fracción insaponificable se separó y colectó en un tubo limpio y seco, de donde se evaporó la fase de hexano a sequedad, empleando flujo de nitrógeno a 60⁰ C.

V.8.3 TERCERA ETAPA DERIVATIZACIÓN

Al residuo de la fracción de hexano evaporada se le adicionaron 200 μ L de piridina como vehículo aprótico y catalizador, además de 100 μ L de reactivo de sililación. Se incubó una hora a 50⁰C.

V.8.4 CUARTA ETAPA CROMATOGRAFÍA DE GASES

Del líquido obtenido en la etapa anterior, se inyectaron 3 μ L al cromatógrafo de gases.

Condiciones cromatográficas:

Temperatura del Inyector: 320⁰C

Temperatura del Detector: 320⁰C

Temperatura_{inicial}: 100⁰C en aumento 30⁰ C/minuto.

Temperatura_{final}: 320⁰C.

Longitud y tipo columna: 3m DB5 (metilpolisiloxano 95%)

Diámetro interno de la columna 0.25mm; 1 μ m de película.

Se inyectó 1 μ L cada estándar individualmente para determinar el tiempo de retención para colesterol, campesterol, estigmasterol y β -sitosterol; donde dichos tiempos oscilaron entre los 4 y 7 minutos; 5.8 para el colesterol, 6.3 para el campesterol, 6.5 para el estigmasterol y finalmente 6.7 minutos para β -sitosterol, precedidos por el estándar interno o 5- α -colestano el cual se observó a los 4.4 minutos después de la inyección. Cada muestra que se corrió permaneció en el equipo por un máximo de diez minutos.

Ya conocido el tiempo de retención se procedió a calibrar el equipo con concentraciones conocidas de los estándares, mediante la utilización de 0.5 y 1 mg/mL de la mezcla de los estándares: colesterol, β -sitosterol, campesterol y estigmasterol; además en cada corrida se adicionó 5- α -colestano, como

estándar interno con una concentración de 0.5 mg/mL para finalmente con ayuda de un integrador de áreas aunado al equipo analizador (Varian, modelo Star 3400), se estableciera el área bajo la curva del pico trazado en el cromatograma, que indica de manera directamente proporcional la cantidad de esteroides presentes en las muestras en estudio.

La respuesta de linealidad para los estándares fue de 0.9997 para β -sitosterol, de 0.9976 para campesterol, de 0.9987 para estigmasterol y de 0.9997 para el colesterol (Anexo XI.3).

La separación de los picos se muestra en el Anexo XI.4. con un ejemplo del cromatograma obtenido para el queso no.1 denominado por su marca comercial como Montchevré.

Para el análisis de las muestras las diferencias entre cada repetición fueron menores al 10% entre triplicados, permitiendo una desviación estándar igual o menor a 0.5 y un coeficiente de variación igual o menor a 5 para ser aceptados.

V.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Las concentraciones de lípidos totales, colesterol y fitoesteroides (β -sitosterol, campesterol y estigmasterol) obtenida de la cromatografía de gases fueron procesadas con el paquete estadístico Statcal Análisis System (2003), donde se empleó una prueba de hipótesis para conocer la diferencia entre las medias. Además, se realizó el análisis de la varianza estableciéndose un coeficiente de confianza del 99%, siguiendo el siguiente modelo estadístico:

$$H_0: \mu_{\text{Montchevere}} = \mu_{\text{Notre Dame}} = \mu_{\text{Rancho Vistalegre}} = \dots \mu_{\text{Diane}}$$

$$H_i: \mu_{\text{Montchevere}} \neq \mu_{\text{Notre Dame}} \neq \mu_{\text{Rancho Vistalegre}} \neq \dots \mu_{\text{Diane}}$$

Donde:

H_0 : hipótesis nula

H_i : hipótesis alterna

μ : medias

VI. RESULTADOS

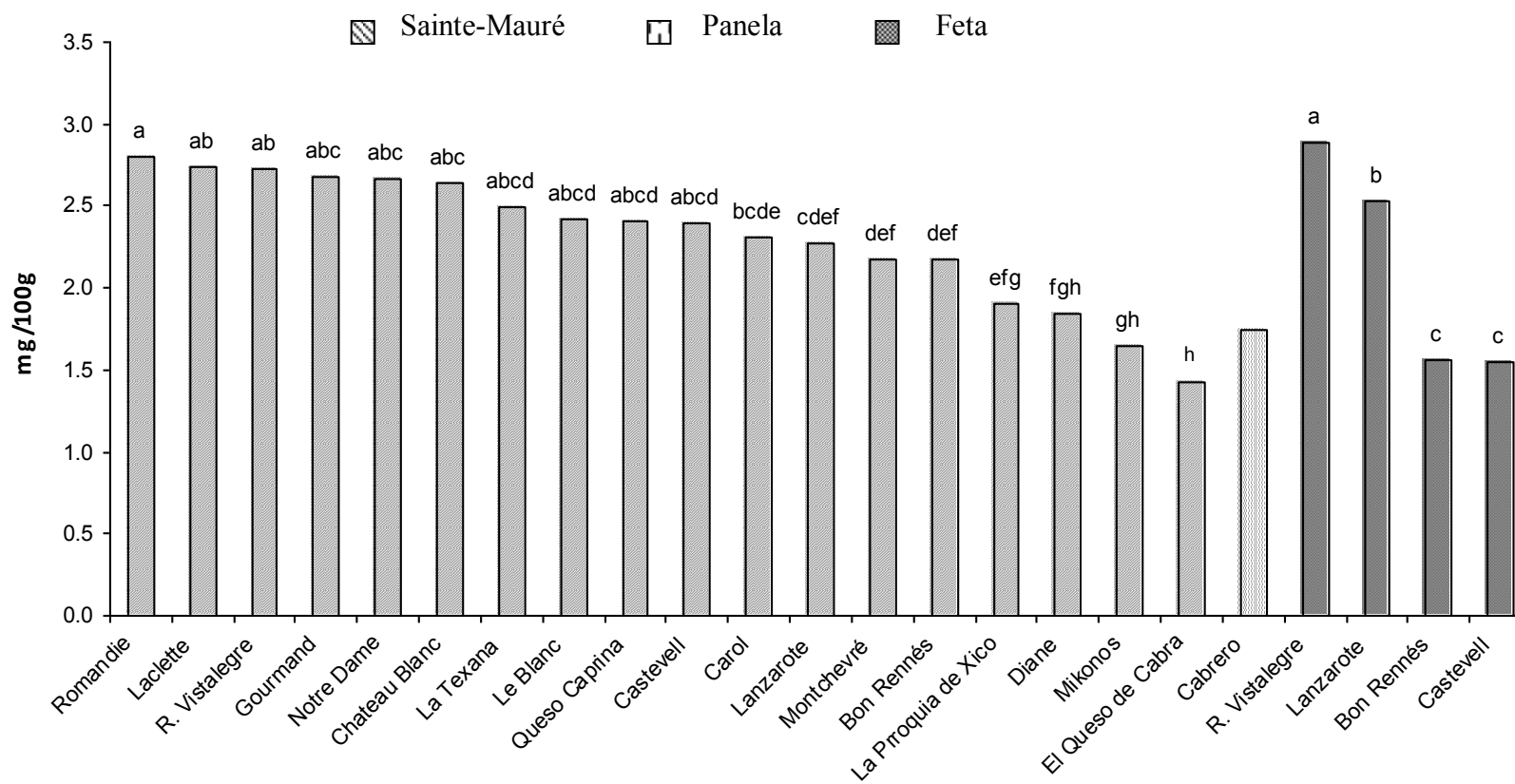
VI.1 DETERMINACIÓN DE FITOESTEROLES (β -SITOSTEROL, CAMPESTEROL Y ESTIGMASTEROL) EN QUESOS DE LECHE DE CABRA MANUFACTUADOS EN MÉXICO

La validación del método utilizado se detalla en el Anexo XI.2, donde las modificaciones propuestas respecto a Du y Ahn (2002) permitieron registrar concentraciones mínimas de fitoesteroles, presentes de forma natural y en todas las muestras analizadas; los resultados se especifican a continuación. La cuantificación del contenido de colesterol y lípidos totales se realizó de manera complementaria. Los valores obtenidos para cada determinación fueron calculados en base seca (BS); esto es despreciando el contenido de humedad libre de la muestra para mayor exactitud al reportar la concentración total. Los resultados de humedad porcentual fueron utilizados de los datos reportados por Fuentes en 2009 y pueden encontrarse en el Anexo XI. 5.

β -sitosterol fue el esteroles vegetal más abundante presente en los tres tipos de queso analizados, su concentración osciló entre los 2.81 y los 1.43 mg/100g de producto (BS); con un valor promedio de 2.32 ± 0.39 mg/100g para los quesos tipo Sainte-Mauré; 2.52 ± 0.09 mg/100g para al queso tipo Panela y de 1.93 ± 0.64 mg/100g para los productos clasificados como tipo Feta (Anexo XI.6).

Los productos del tipo Sainte-Mauré abarcaron la mayor cantidad de quesos comerciales estudiados, de entre los cuales el queso identificado como Romandie presentó el mayor contenido de β -sitosterol con 2.81 mg/100g (BS), registrando una diferencia estadísticamente significativa ($P > 0.05$) frente a los quesos denominados Mikonos (1.64 mg/100g) y El Queso de Cabra (1.43 mg/100g), los cuales presentaron las mínimas concentraciones del esteroles respecto al resto de las muestras analizadas. Con valores intermedios entre dichos extremos se registraron las concentraciones de 2.74, 2.73, 2.68, 2.67, 2.64, 2.48, 2.41, 2.40, 2.39, 2.31, 2.27, 2.18 y 2.17 mg/100g para los productos Lactette, Rancho Vistalegre, Gourmand, Notre Dame, Chateau Blanc, La Texana, Le Blanc, Queso Caprina, Castevell, Carol, Lanzarote, Montchevré

Figura 12. Contenido de β -sitosterol (mg/100g en base seca) en quesos de leche de cabra manufacturados en México



a,b,c,d,e,f,g,h. Literales distintas indican diferencia estadísticamente significativa ($P > 0.05$).

RESULTADOS

y Bon Rennés, respectivamente; los cuales no registraron diferencia significativa ($P>0.05$) entre ellos pero sí frente a las muestras anteriormente señaladas y respecto a los productos La Parroquia de Xico (1.9 mg/100g) y Diane (1.8 mg/100g), los cuales no presentan diferencia significativa entre sí.

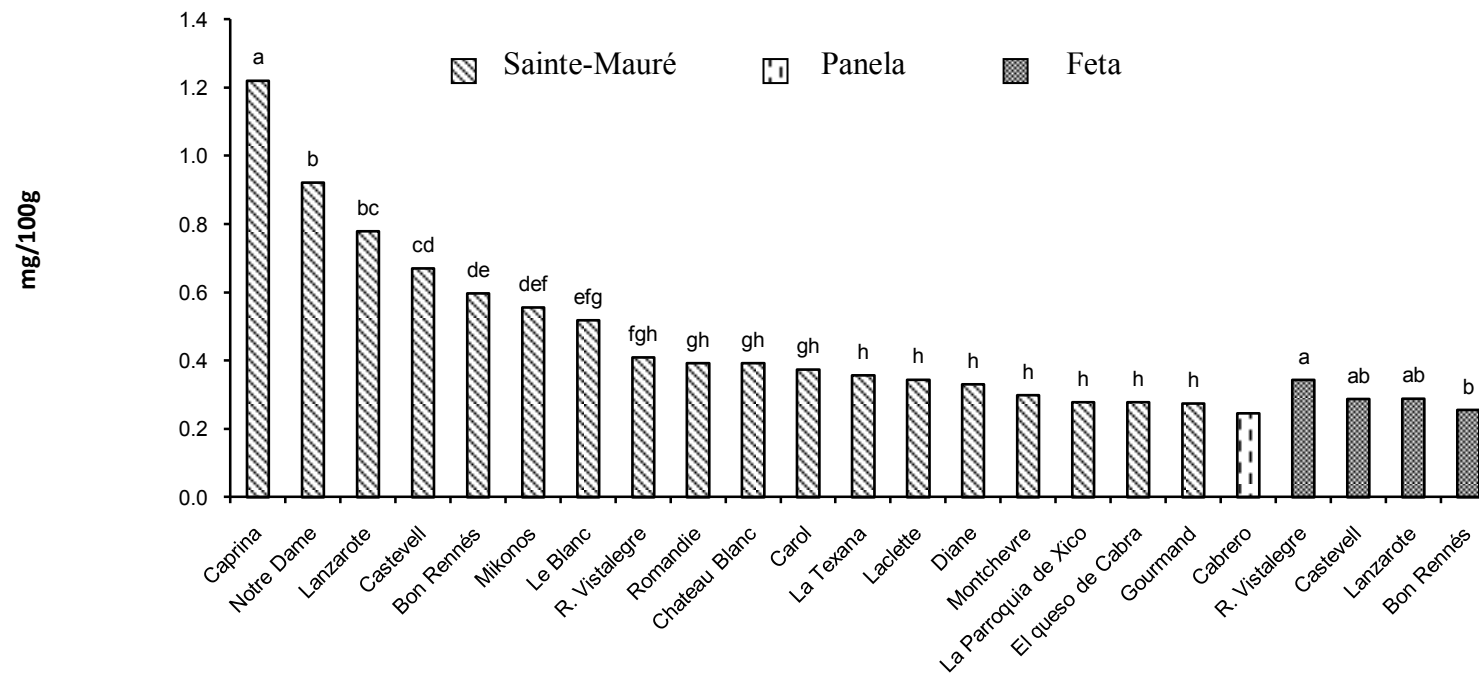
En cuanto al queso de leche de cabra tipo Panela, solo se encontró una marca comercial en los almacenes, por lo que no fue comparable estadísticamente con ninguna otra; ésta fue identificada como Cabrero el cual registró una concentración de 2.52 mg de β -sitosterol por cada 100g de producto (Figura 12).

Respecto a los quesos de leche de cabra tipo Feta, en este estudio se identificaron cuatro marcas comerciales, identificadas como Rancho Vistalegre, Lanzarote, Bon Rennés y Castevell, donde la presencia de β -sitosterol fue de 2.89, 1.7, 1.56 y 1.54 mg/100g (BS) de queso respectivamente; las concentraciones mencionadas registraron una diferencia significativa ($P>0.05$) entre las dos primeras y las dos últimas muestras, siendo las últimas mencionadas estadísticamente similares entre sí pero deferente a las anteriores, las cuales también presentan una diferencia significativa entre sí (Figura 12).

Por otra parte, el campesterol estuvo presente en todos los productos comerciales analizados, oscilando con concentraciones de 1.22 a 0.28 mg por cada 100g de queso; con un valor promedio de 0.52 ± 0.25 , 0.29 ± 0.04 , 0.24 ± 0.09 , para los quesos tipo Sainte-Mauré, Panela y Feta, respectivamente (Anexo XI.6).

Los resultados para los productos comerciales clasificado dentro del tipo Sainte-Mauré referente a miligramos de campesterol por cada cien gramos de queso de leche de cabra; se presentan en la Figura 13; y se puntualizan a continuación.

Figura 13. Contenido de campesterol (mg/100g base seca) en quesos de leche de cabra manufacturados en México.



a,b,c,d,e,f,g,h Literales distintas indican diferencia estadísticamente significativa ($P > 0.05$).

El queso Caprina registró una concentración de 1.22 mg/100g (BS), valor estadísticamente diferente ($P>0.05$) a los registrados para Notre Dame (0.92 mg/100g), Lanzarote (0.78 mg/100g), Castevell (0.671 mg/100g), Bon Rennés (0.5960 mg/100g), Mikonos (0.605 mg/100g) y Le Blanc (0.51 mg/100g), en los cuales se determinaron concentraciones estadísticamente ($P>0.05$) semejantes entre sí. Por su parte, los productos identificados como Rancho Vistalegre, Romandie, Chateau Blanc, Carol, La Texana, Lactette, Diane, Montchevré, La Parroquia de Xico, El Queso de Cabra y Gourmand registraron valores de 0.411, 0.399, 0.397, 0.372, 0.357, 0.344, 0.331, 0.311, 0.302, 0.277, 0.275 mg/100g (BS) respectivamente, siendo estadísticamente ($P>0.05$) similares entre sí, aunque diferentes respecto a los quesos anteriormente mencionados (Figura 13).

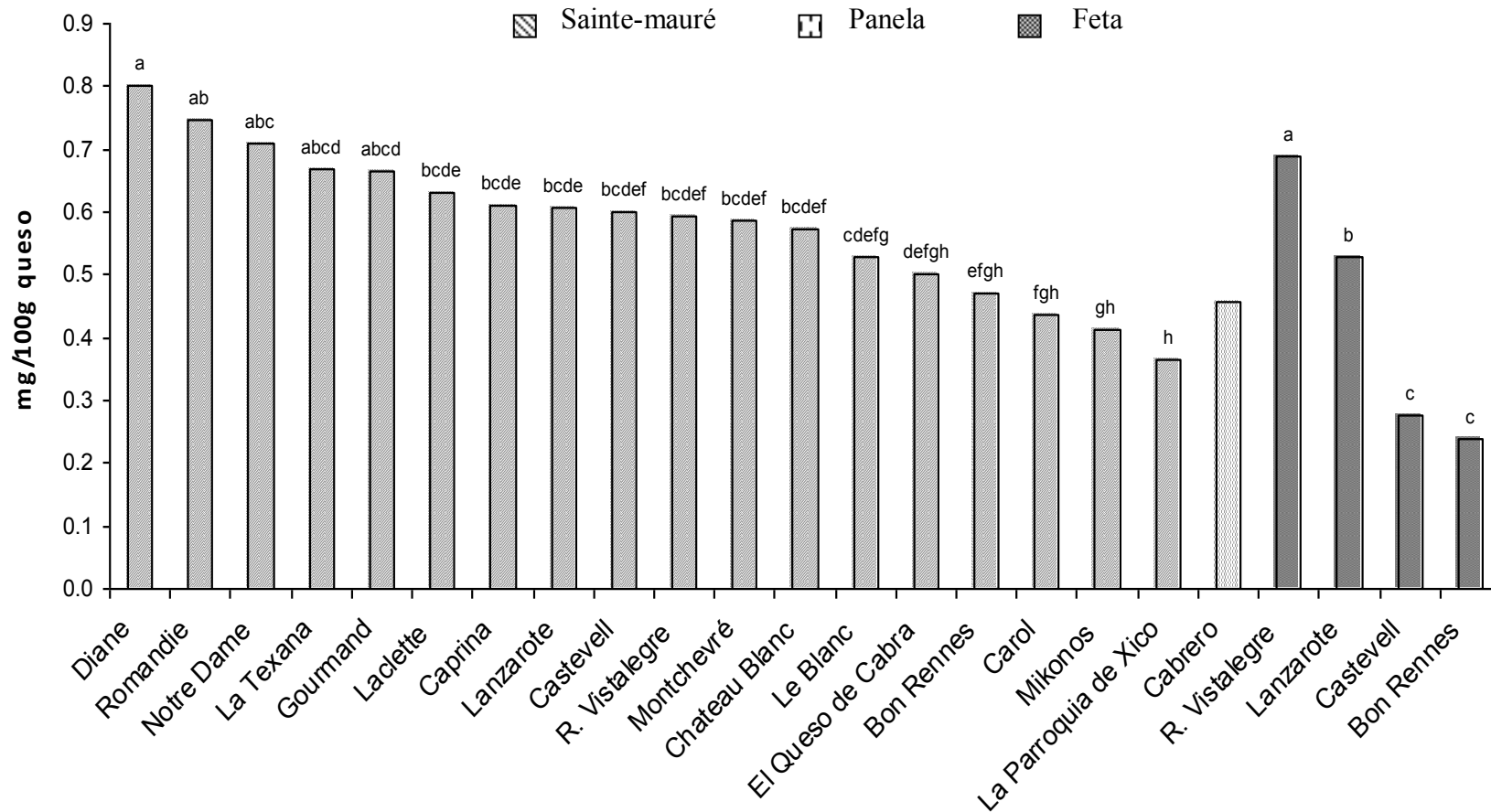
Al producto del tipo Panela, se le determinó una concentración de 0.25 mg de campesterol por cada 100 g (BS); valor incomparable estadísticamente por falta de muestras del mismo tipo de queso.

Para los quesos del tipo Feta, los resultados indicaron similitudes estadísticas ($P>0.05$), al registrarse concentraciones de 0.34, 0.28, 0.27 y 0.26 mg/100g, respectivamente para los quesos identificados como Rancho Vista Alegre, Castevell, Lanzarote y Bon Rennés respectivamente (Figura 13).

El contenido de estigmasterol se registró en menores proporciones respecto al β -sitosterol, pero en mayores respecto al campesterol, siendo el valor promedio para los quesos clasificados dentro del tipo Sainte-Mauré con 0.58 ± 0.12 mg/100g, para el tipo Panela de 0.46 ± 0.030 mg/100g y para el tipo Feta de 0.44 ± 0.212 mg/100g de producto (Anexo XI.6).

Específicamente el producto comercial identificado como Diane registró una concentración de 0.80 mg/100g de queso, siendo el valor más alto y siendo estadísticamente diferente ($P>0.05$) en relación al producto identificado como La Parroquia de Xico, el cual con una concentración de menos de la mitad registró un valor de 0.36 mg/100g (Figura 14). Por su parte, registraron valores

Figura 14. Contenido de estigmasterol (mg/100g base seca) en quesos de leche de cabra manufacturados en México.



a,b,c,d,e,f,g,h Literales distintas indican diferencia estadísticamente significativa (P>0.05).

sin diferencia estadística significativa ($P>0.05$) frente al queso denominado Diane, los productos identificados como Romandie (0.74 mg/100g), Notre Dame (0.70 mg/100g), La Texana (0.65 mg/100g), Gourmand (0.63 mg/100g), Laclette (0.61 mg/100g), Caprina (0.59 mg/100g), Lanzarote (0.60 mg/100g), Castevell (0.60 mg/100g), Rancho Vistalegre (0.59 mg/100g), Montchevré (0.58 mg/100g) y Chateau Blanc (0.57 mg/100g). Los productos identificados como Le Blanc (0.53 mg/100g), El Queso de Cabra (0.50 mg/100g), Bon Rennés (0.47 mg/100g), Carol (0.43 mg/100g) y Mikonos (0.40 mg/100g) no presentan diferencia estadística significativa entre ellos aunque sí respecto a los productos anteriormente señalados.

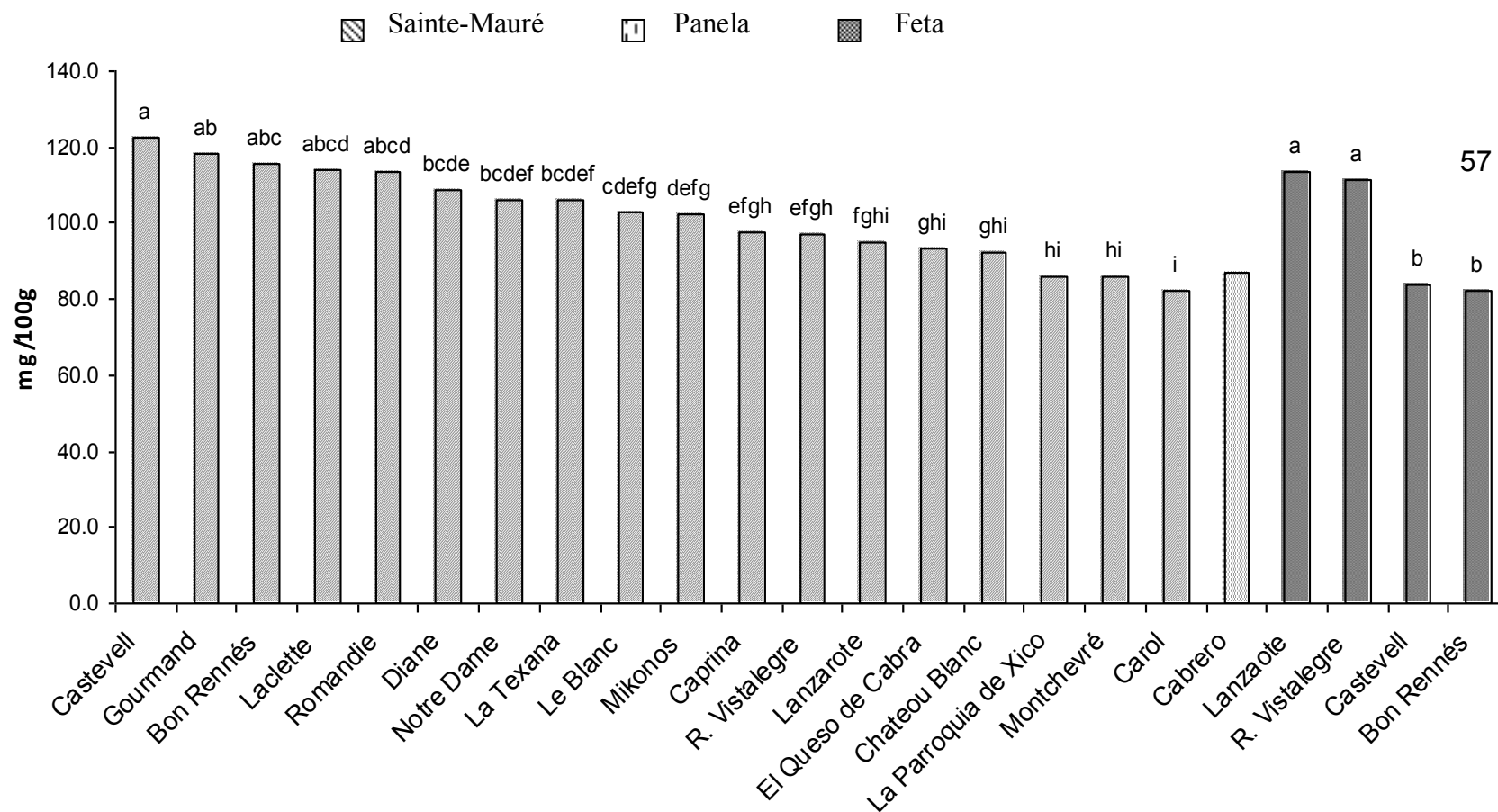
En el queso de leche de cabra tipo Panela, denominado como Cabrero, se registró una concentración 0.46 mg de estigmasterol por cada 100g de queso; valor no comparable estadísticamente con productos del mismo tipo por falta de muestras (Figura 14).

En los quesos del tipo Feta, se registraron concentraciones de 0.690, 0.530, 0.276, 0.244 mg/100g (BS) para los productos identificados como Rancho Vistalegre, Lanzarote, Castevell y Bon Rennés, respectivamente; el primer y segundo producto mostraron una diferencia significativa ($P>0.05$) entre sí y frente a los dos productos restantes; en los cuales las concentraciones de estigmasterol resultaron similares estadísticamente ($P>0.05$) entre sí (Figura 14).

VI.2 DETERMINACIÓN DE COLESTEROL EN QUESOS DE LECHE DE CABRA MANUFACTURADOS EN MÉXICO

De manera complementaria se determinó la cantidad de colesterol presente en las muestras nacionales de quesos de leche de cabra analizados; siendo el valor promedio en miligramos por cada cien gramos de producto en base seca, para los quesos tipo Sainte-Mauré de 102.22 ± 11.83 , para el tipo Panela de 86.98 ± 4.53 y para el tipo Feta de 97.72 ± 17.00 . Dentro de la primera clasificación, el producto comercial identificado como Castevell fue el que

Figura 15. Contenido de colesterol (mg/100g base seca) en quesos de leche de cabra manufacturados en México.



a,b,c,d,e,f,g,h,i Literales distintas indican diferencia estadísticamente significativa (P>0.05).

presentó la mayor cantidad de colesterol (122.493 mg/100g); anteponiéndose a los productos identificados como Gourmand (118.25 mg/100g), Bon Rennés (106.10 mg/100g), Laclette (114.24 mg/100g), Romandie (113.57 mg/100g), Diane (108.52 mg/100g), Notre Dame (106.10 mg/100g), La Texana (105.95 mg/100g), Le Blanc (103.01 mg/100g), Mikonos (102.43 mg/100g), Caprina (97.65 mg/100g), Rancho Vistalegre (97.30 mg/100g), Lanzarote (95.13 mg/100g), El Queso de Cabra (93.15 mg/100g) y Chateau Blanc (92.43 mg/100g), los cuales no registraron una diferencia estadísticamente significativa ($P>0.05$) entre sí. Con menores concentraciones y estableciendo una diferencia significativa ($P>0.05$) respecto al resto de las muestras, se encontraron los productos identificados como la Parroquia de Xico, Montchevré y Carol con valores de 85.93, 82.90 y 82.44 mg/100g respectivamente (Anexo XI.6).

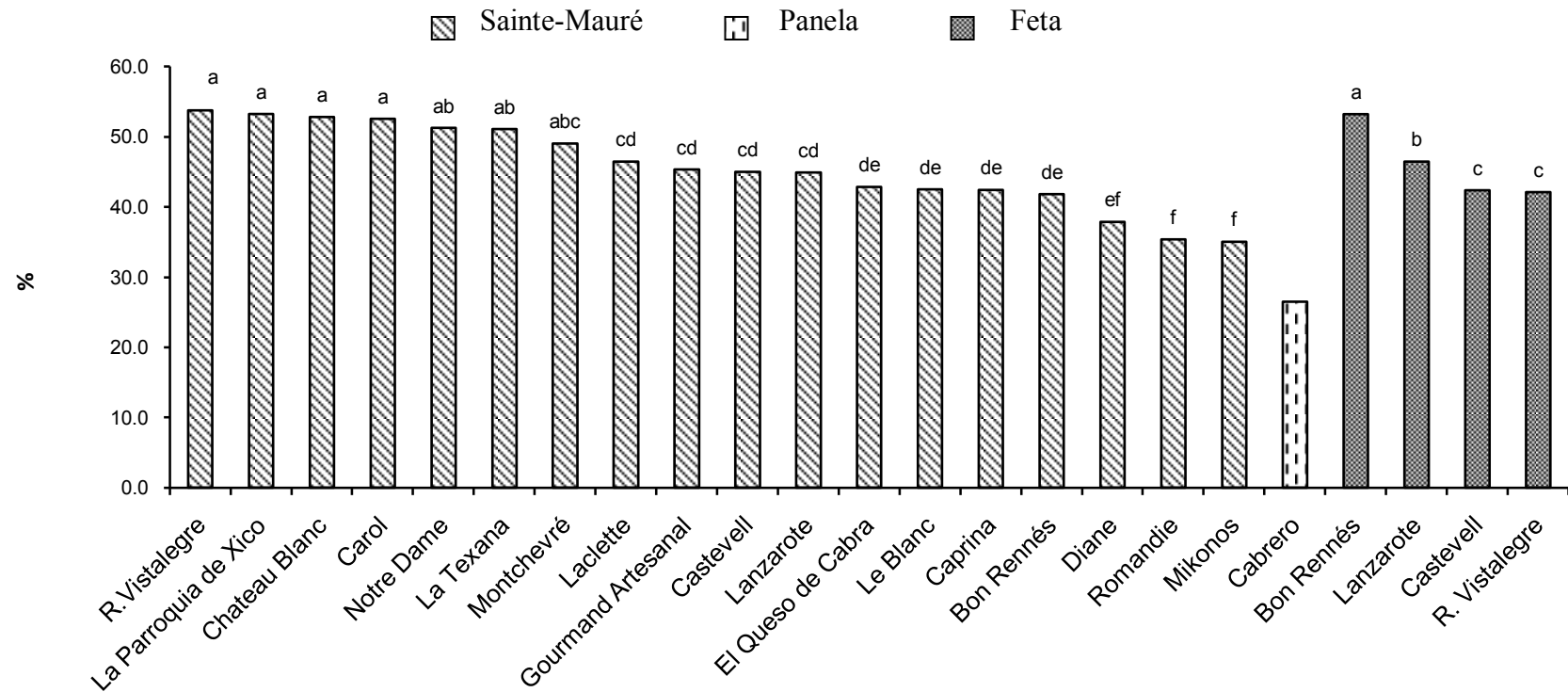
El representante del tipo Panela, el queso identificado como Cabrero registró un contenido total de 111.57 mg de colesterol en 100g de queso, valor no comparable estadísticamente por falta de mayor número de muestras del mismo tipo de queso (Figura 15).

Por su parte, de los quesos del tipo Feta, el producto identificado como Lanzarote presentó mayor contenido de colesterol con 113.27 mg/100g; siendo estadísticamente semejante al queso denominado como Rancho Vistalegre, del cual se registró una concentración de 111.57 mg/100g. Los productos identificados como Castevell (83.87mg/100g) y Bon Rennés (82.16 mg/100g de queso) son similares entre sí estadísticamente ($P>0.05$) aunque diferentes a los dos anteriormente mencionados (Figura 15).

VI.3 DETERMINACIÓN DE LÍPIDOS TOTALES EN QUESOS DE LECHE DE CABRA MANUFACTURADOS EN MÉXICO

La cuantificación del contenido total de lípidos también fue realizado de manera complementaria. El valor promedio para dicha determinación, en los

Figura 16. Contenido de lípidos totales (g/100g base seca) en quesos de leche de cabra manufacturados en México.



a,b,c,d,e,f. Literales distintas indican diferencia estadísticamente significativa (P>0.05).

RESULTADOS

quesos de leche de cabra tipo Sainte-Mauré fue de 45.63 ± 6.25 g/100g muestra; para el tipo Panela de 26.49 ± 0.41 g/100g y para aquellos del tipo Feta de 46.04 ± 5.18 g/100g.

Individualmente el producto identificado como Rancho Vistalegre registró la mayor concentración de grasa con 53.80 g/100g respecto al resto de los productos tipo Sainte-Mauré, sin embargo no presentó una diferencia significativa ($P > 0.05$) frente a las muestras del mismo tipo identificadas como La Parroquia de Xico (53.20 g/100g), Chateou Blanc (52.85 g/100g), Carol (52.58 g/100g), Notre Dame (51.5 g/100g), La Texana (51.3 g/100g), Montchevré (49.01 g/100g), Lactette (46.47 g/100g), Gourmand (45.30 g/100g), Castevell (45.03 g/100g), Lanzarote (44.80 g/100g), El Queso de Cabra (42.83 g/100g), Le Blanc (42.473 g/100g), Caprina (42.44 g/100g) y Bon Rennés (41.86 mg/100g), semejantes estadísticamente ($P > 0.05$) entre si, pero diferentes a las muestras identificadas como Diane (37.90 g/100g), Romandie (35.34 mg/100g) y Mikonos (35.06 g/100g), las cuales presentan valores menores a los anteriormente mencionados (Anexo XI.6).

El queso identificado como Cabrero, del tipo Panela, presentó 26.49 g/100g de muestra y no fue comparable estadísticamente por falta de muestras del mismo tipo.

De los quesos tipo Feta, el dominado Bon Rennés fue en el que se registró una mayor concentración de lípidos totales, advirtiéndose una diferencia estadística significativa ($P > 0.05$) respecto al resto de los quesos de este tipo, al presentar 53.22 g/100g de muestra (BS). El queso identificado como Lanzarote, registró una concentración menor, respecto al anteriormente mencionado, con un valor de 46.46 g/100g, siendo estadísticamente diferente al resto de las muestras analizadas. Los restantes productos identificados como Castevell y Rancho Vistalegre no presentaron diferencia estadística significativa ($P > 0.05$) entre ellos aunque si frente a los anteriores, al registrarse concentraciones de 42.37 y 42.11 g/100g respectivamente (Figura 16).

VII. DISCUSIÓN

Los aceites vegetales, las frutas y hortalizas son tradicionalmente elementos donde los fitoesteroles están presentes de forma natural. Sin embargo, en alimentos de origen animal estos compuestos bioactivos también pueden presentarse; hecho comprometido a la influencia de los componentes de los alimentos ingeridos por el animal. El presente estudio pretendió determinar el contenido de algunos de éstos compuestos en una matriz láctea, con el fin crear base de datos que pueda proporcionar además de una información veraz, alternativas en relación al consumo de productos funcionales tales como el queso de leche de cabra (Bonilla, 2005; Fuentes, 2009; Pérez, 2009).

Al pretender conocer específicamente el contenido de algunos elementos biofuncionales en alimentos de origen animal; como es el queso de leche de cabra, se han realizado diferentes estudios complementarios en el Instituto de Nutrición y Ciencias Médicas “Salvador Zubirán”, donde se ha analizado el contenido de ácidos grasos y de ácido linoleico conjugado (Fuentes, 2009), el contenido de ácidos hidroxicinámicos, compuestos fenólicos y flavonoides (Pérez, 2009) y en el presente trabajo el contenido total de fitoesteroles, análisis realizados con productos comerciales manufacturados en México.

La determinación de esteroides vegetales se llevó a cabo a través de cromatografía de gases precedida de la extracción lipídica. Como se puede observar en la sección de resultados, en todas las muestras analizadas se registró la presencia de fitoesteroles. Concretamente el β -sitosterol fue detectado en mayores proporciones respecto al campesterol y estigmasterol. Las interrogantes después de dichas determinaciones son las razones por las cuales estos compuestos fueron identificados, si están presentes de forma natural al resistir el proceso de biohidrogenación en el rumen, transfiriéndose desde el torrente sanguíneo hasta en la glándula mamaria para ser excretados en la fase grasa de la leche y permanecer atrapados en la red tridimensional formada por precipitación de las proteínas en la cuajada del queso, ó bien, viéndose

involucrada la mano del hombre al adicionar grasas vegetales en la elaboración del lácteo; hecho que no sería contraproducente a nivel nutricional pero que involucraría una adulteración al producto (Nom-121-SSA1-1994).

La legislación internacional (Codex Alimentarius de la FAO/OMS), como criterio para la determinación de la naturaleza de una muestra lipídica y la verificación de la adulteración de un producto con grasa no láctea, establece que el análisis del perfil de ácidos grasos debe ser el característico; la relación de los ácidos grasos C14/C16 debe ser mayor de tres y finalmente el análisis de esteroides debe mostrar ausencia de fitoesteroides ó trazas de grasa vegetal. Respecto a este último aspecto, la legislación no es clara, pues aun falta definir en base a una recopilación de datos veraces, especificaciones que indiquen la cantidad de esteroides vegetales presentes de manera natural en grasas de origen de animal. Mediante estudios como este, estos parámetros cuantificables pretendieron establecerse, en este caso, en quesos de leche de cabra manufacturados en México.

Aunque se consideraba como limitante para la determinación de fitoesteroides en matrices lácteas la composición ya conocida de la fracción grasa, donde el 99% según Fraga *et al.*, 2000, corresponde a mono, di y triglicéridos y tan solo el 1% sobrante, se refiere a los esteroides, de los cuales, 2% corresponden a los fitoesteroides y el resto al colesterol (Goudjil *et al.*, 2002); las nuevas inquietudes en virtud del conocimiento de alternativas al consumo de alimentos funcionales han provocado el desarrollo de tecnología, gracias a la cual se pueden cuantificar sustancias en concentraciones prácticamente despreciables. Debe resaltarse el hecho que los componentes funcionales son activos en los organismos vivos en mínimas proporciones y que éstos se encuentran presentes en infinidad de productos alimentarios y la suma en la ingesta diaria es la resultante de los beneficios que pudiesen ser destacados; como es en el caso de fitoesteroides, los cuales presentan biodisponibilidad desde 150 mg (Ostlund *et al.*, 2002) además de propiedades para reducir la concentración de lipoproteínas de baja densidad (LDL) en plasma (Heinneman, 1986; Westrate *et al.*, 1998; Volger *et al.*, 2002; Plat y

Mensink, 2000; Plat y Mensink 2001; Mensink *et al.*, 2002; Plat y Mensink 2002; Nauman *et al.*, 2003; Valenzuela, 2004; Palt y Mensink, 2005; Plat *et al.*, 2006; Weingätner *et al.*, 2009), conjuntamente a la función de actuar como agente anticancerígeno (Lowe y Ku, 1996; Awad 2007;) o cualquier otro efecto que pudiese presentar un impacto benéfico en el individuo.

A pesar de que la metodología aparentemente no presentaba complicaciones en su procedimiento y artículos precedentes sustentan la técnica (Toivo *et al.*, 1998; Fraga *et al.*, 2000; Abidi, 2001; Contarini *et al.*, 2002; Du M. y Ahn D.U., 2002; Fernandes y Cabral, 2006; Lagarda *et al.*, 2006), en la realidad se presentaron algunas dificultades. En general, el principal problema en el aspecto metodológico se basó en la gran cantidad de etapas para realizar la totalidad de la técnica establecida; pues como mencionaron Normén *et al.*, en 2006 “múltiples etapas en la técnica experimental pueden incrementar la pérdida de muestra a analizar”; además de que las transvasiones entre tubos y finalmente a viales, pueden perjudicar la cuantificación, revelando un decremento importante en la concentración de la o las sustancias que se desean cuantificar, ya que se encuentran en mínimas proporciones.

Otra de las etapas críticas fue establecer la necesidad de utilizar una extracción de lípidos totales previa a la saponificación, pues aunque algunos autores sostienen la saponificación directa como una alternativa donde puede ahorrarse tiempo, energía y reactivos (Du y Ahn, 2002) por la compleja composición del queso de leche de cabra, la extracción de lípidos totales fue necesaria como Keenan y Dylewski desde 1995 lo propusieron (Anexo XI.2).

Por otra parte, como mencionó Houbbard (1977) “La polaridad del solvente utilizado afecta la cantidad o el tipo de solvente extraído” por lo que se debió establecer adecuadamente el solvente adecuado para la extracción; experimentalmente se utilizó la mezcla cloroformo etanol (1:1) como solvente, pues además de extraer la fracción lipídica donde se encuentran los fitoesteroles, estudios previos demostraron un mayor índice de recobro, comparación frente al empleo de etil-eter (Houbbard, 1977; Toivo *et al.*, 1998).

Posteriormente como propusieron Toivo *et al.*, en 1998 la fracción insaponificable se extrajo con solventes orgánicos no polares en este caso hexano.

La identificación de los picos en el cromatógrafo de gases no fue sencilla, pero después de probar con diferentes temperaturas, tipos y longitudes de película se logró finalmente una separación adecuada de cada pico identificado para cada fitoesterol en el cromatograma, al establecer el uso de una columna DB5 (metilpolisiloxano 95%) con diámetro de 0.25 mm y 1 µm de película, pues como aseveraron Normén *et al.* (2007) “La polaridad y capilaridad de la columna, además de la longitud y el diámetro interno son imprescindibles para lograr una adecuada determinación de los elementos buscados”. Hecho aunado al tratamiento de la muestra, ya que previamente esta fue sometida a una derivatización con TMCS + BFTA (trimetil clorosilanos en bis-trimetilsilil- trifluoroacetamida) reactivo que intercambió los hidrógenos activos presentes en las moléculas de los esteroides, por grupos trimetil clorosilanos, provocando un aumento en la polaridad y por tanto una mayor definición de picos al observar el cromatograma (Anexo XI.3).

La cantidad de fitoesteroides totales determinados osciló en un rango de 4.83 y 2.18 mg/100g (BS) de queso de leche de cabra, valores que concuerdan con lo indicado por La **Norma** Técnica Obligatoria **Nicaragüense** 03 042 – 02 (en ausencia de una normatividad a nivel nacional) donde se menciona “El queso deberá mostrar ausencia de **fitoesteroides** (trazas de grasa vegetal)”; en este estudio se les consideró como traza a los valores reportados para los esteroides vegetales pues se registraron en mínimas concentraciones (prácticamente despreciables) respecto al colesterol, el cual se registró entre los 122.493 y 82.447 mg/100g (BS); por lo que se les reconoce su presencia de manera natural.

Por otra parte, al ser este el primer estudio que pretende cuantificar esteroides vegetales en quesos, no es posible establecer puntos de comparación de los fitoesteroides para la misma matriz láctea; pero tomando en cuenta la referencia que establecieron Contarini *et al.* (2002) de la presencia de β-sitosterol en rangos de 1.7 a 4.5 mg/100g en grasa de leche, transformando estos valores en fracciones

equivalentes considerando que el queso de leche de cabra presenta un promedio de 45% (BS) de fracción lipídica, se podría decir que en el queso, el β -sitosterol se determinaría en concentraciones de 0.76 a 2.02 mg de por cada 100g de producto (BS); siendo que en este análisis experimental se registraron valores promedio a los 2.26 mg de β -sitosterol por cada 100 g de queso de leche de cabra; lo que concuerda numéricamente con la referencia anteriormente citada.

Por su lado, Maduko y Park (2007) también se dieron a la tarea de determinar los esteroides, entre otros componentes, en un análisis proximal a la leche de cabra. El único fitoesterol reportado fue el β -sitosterol (al ser el esteroide vegetal más abundante) estimando un valor de 0.4 mg por 100g de leche de cabra; considerando un rendimiento quesero del 16% (Oliszewski *et al.*, 2002) el contenido de β -sitosterol en el queso sería de 2.5 mg/100g; rango nuevamente similar al valor promedio determinado en este estudio; que correspondió como anteriormente se mencionó a 2.6 mg/100g (BS). Desafortunadamente no fue posible establecer relaciones más cercanas y certeras concernientes a los fitoesteroides en fuentes alimentarias de origen animal; sin embargo, este tipo de datos si se pueden localizarse con relativa facilidad en alimentos de origen vegetal como es el caso siguiente:

Cuadro 13. Contenido de β -sitosterol en diferentes productos de origen vegetal
(Massimo *et al.*, 2004)

	mg β -sitosterol /100g producto (BS)
aceite de soya	221
aceite de oliva	176
almendra	143
Col	140
manzana	120
Nuez	117
aceite de coco	91
Pera	80
coliflor	80
aceite de palma	49
zanahoria	46

Como puede apreciarse en el Cuadro 13 los valores oscilan en un amplio rango de 46 mg hasta 221 mg (BS); comprobando el hecho de que las concentraciones registradas en queso (2.26 mg/100g) son prácticamente despreciables en comparación a las registradas en estos alimentos.

Por otra parte, se reportan concentraciones de campesterol y estigmasterol en mg por cada 100 gramos, como se observa a continuación:

Cuadro 14. Contenido de campesterol y estigmasterol en diferentes productos de origen vegetal (Massimo *et al.*, 2004).

	campesterol mg/ 100g (BS)	estigmasterol mg/100g (BS)
aceite de soya	47	47
col	40	ND
coliflor	30	20
aceite de palma	10	6
manzana	10	ND
zanahoria	6.6	20
nuez	6.5	ND
aceite de coco	6	14
aceite de oliva	6	2
almendra	5.4	3.1
pera	ND	ND

Resalta el hecho de no haber sido detectados fitoesteroles en frutas, como la pera; mientras que en todas las muestras de queso de leche de cabra si fueron identificados, esto puede deberse a que el estudio realizado por Massimo *et al.* (2004) no se ejecutó en base a materia seca, por lo las conversiones pertinentes (de base húmeda a seca) aquí reportadas para sustentar la comparación fueron hechas por este autor. Puede explicarse, que por el alto contenido de humedad en los vegetales (80-95% según Watt, 1975) la determinación de la concentración de estos esteroides vegetales no pudo establecerse al estar dispersos en un gran volumen.

Así mismo, las concentraciones reportadas en semillas, en comparación con las determinaciones realizadas para los quesos son valores diez veces mayores; por ejemplo en la almendra se reportan 5.4 y 3.1 miligramos de estigmasterol y campesterol respectivamente (BS); mientras en el queso de leche de cabra se registró una concentración promedio de 0.49 y 0.27 mg/100g (BS) respectivamente. Es decir, que por su origen animal es infalible el hecho de que en quesos se encuentren fitoesteroles en concentraciones mínimas, adecuándose la premisa de que en los quesos analizados no fue adicionada ninguna clase de aceite vegetal.

Experimentalmente se calculó que del 100% de fitoesteroles determinados, el 72.9% corresponde a β -sitosterol, el 15.8% a estigmasterol y el 11.3 % a campesterol; datos comparables con Normén *et al.*, en 2007 donde se reportó en forma de porcentaje el contenido total de fitoesteroles en alimentos manufacturados en Alemania y Suiza, siendo los resultados similares, al ser el β -sitosterol el esteroide vegetal más abundante con un 60%, siguiéndole el campesterol en un 24%, el estigmasterol en un 7%, y finalmente otros como el 5-avenasterol en un 5%, el brasicasterol en un 3%, el β -sitostanol en un 1%, primordialmente. Los datos reportados por Normén *et al.* (2007) se refieren a valores promedio dados de la suma de variedad de productos comerciales, mientras que en este caso solo se está tomando en cuenta una matriz láctea, el queso de leche de cabra. El β -sitosterol es sin duda el esteroide vegetal más abundante, mientras que el segundo lugar por abundancia depende de la matriz alimentaria, compitiendo tanto el campesterol como el estigmasterol. Por otro lado, debe tomarse en cuenta que el 100% dado en este estudio se enfocó solo a la suma de β -sitosterol, campesterol y estigmasterol mientras que para Normén *et al.* (2007) se aunaron una mayor cantidad de esteroides vegetales a la suma del cien por ciento.

Las determinaciones parecen hacerse aun más veraces al momento de comparar el contenido de lípidos totales, registrado experimentalmente en este trabajo respecto a datos reportados en la literatura y en las etiquetas de las marcas comerciales analizadas, donde las variaciones son mínimas siendo

para este estudio un valor promedio de 45.63 ± 6.26 g/100g base seca (BS) de contenido graso para el queso tipo Sainte-Mauré, en comparación a los 48.44 ± 5.09 g/100g (BS) de la determinación sustentada por Fuentes (2009); y conforme a los 47.90 ± 5.02 g/100g del promedio de valores reportados en etiquetas de quesos de leche de cabra del tipo Sainte-Mauré del mercado nacional.

La determinación de lípidos totales mostró valores ligeramente superiores en los quesos tipo Feta con una concentración de 46.02 ± 5.18 g/100g (BS); valor comparable tanto con el reportado por Fuentes (2009) de 47.68 ± 3.26 g/100g y el mencionado en las etiquetas, al calcularse un promedio de 50.11 ± 4.76 .

El queso tipo Panela es el menos representativo estadísticamente por la falta de una mayor cantidad de muestras a analizar, pero no puede dejarse de mencionar que muy pocas variaciones fueron registradas entre el análisis realizado, las anteriores determinaciones y los datos reportados en el producto; es este estudio se registró una concentración de 26.49 ± 0.41 g/100g; Fuentes en 2009 reportó 27.0 ± 0.8 g/100g y en el etiquetado se documentaron 28.31 g/100g. El menor contenido lipídico en los quesos tipo Panela es debido a la técnica de fabricación donde gran cantidad de agua libre queda inmersa en red proteica de la cuajada.

Existen además otros múltiples escritos que sustentan el análisis al contenido graso en muestras de leche de cabra, pero no son precisamente productos nacionales y conociendo que el contenido graso de la leche varía respecto a la zona geográfica (Arbiza y Lucas, 2001) con el afán de no divagar en la información presentada, parece para este autor ser suficientes las tres comparaciones aquí mencionados para advertir el que en diferentes tiempos y espacios las cantidades encontradas para la misma incógnita son semejantes; sin embargo, logra advertirse la mínima tendencia de disminuir la cantidad total de lípidos al paso del tiempo, ya que el presente estudio al ser el más reciente, presenta un menor contenido (no significativo) en concentraciones de grasa total, respecto al resto de las determinaciones mencionadas.

Al ser el colesterol una sustancia lipídica que ha cobrado gran relevancia a nivel mundial debido a los numerosos problemas a la salud pública en los que se ha visto involucrado, se ha tratado de minimizar más no anular su ingesta; registrándose tanto en base de datos como en etiquetas el contenido total presente en diversos alimentos; no es excepción en este estudio su determinación. El contenido de colesterol en quesos de leche de cabra en el tipo Sainte-Mauré presentó un valor promedio de 102.22 ± 11.83 mg/100g (BS), mientras que Fuentes (2009) reportó 141.28 ± 14.97 mg/100g (BS); en tipo Feta el promedio de este análisis estuvo dado alrededor de los 97.72 ± 17 mg/100g (BS) y en tipo Panela de los 86.98 ± 4.53 mg/100g (BS); mientras que Fuentes (2009) registró concentraciones de 111.98 mg/100g y 100.78 ± 6.11 mg/100g respectivamente. Para otros autores como Galina *et al.* (2007) y Park *et al.* (2007), el valor promedio (no indicando el tipo de queso leche de cabra) lo establecieron alrededor de los 145.79 ± 12.58 mg/100g y de los 148.05 ± 15.6 mg/100g respectivamente para cada grupo de autores.

Se distingue el hecho de que entre las determinaciones de Fuentes (2009) Galina *et al.* (2007) y Park *et al.* (2007) y las del presente estudio el valor obtenido para el colesterol resulte menor (15-30%). Puede suponerse que esto sea debido a las respectivas variaciones del método que cada uno de los analistas realizó en su técnica; ya que por ejemplo la temperatura a la cual se sometió la saponificación fue diferente entre el estudio que Fuentes (2009), quien sometió sus muestras a una saponificación directa a 72°C , mientras que en este estudio se saponificó a 60°C . Éstas variaciones estuvieron dadas debido a que el objetivo de determinación no fue el mismo, debiendo variar condiciones con el fin de recobrar sustancias distintas. Otra razón a la cual pueden deberse estas variaciones es al hecho de la extracción previa de la fase lipídica, la cual se realizó en este estudio y no en el de Fuentes (2009), ni el de Galina *et al.* (2007), ni en el de Park *et al.* (2007). Así mismo pudiera asumirse que la oxidación del material graso pudiera impactar en la disminución de la cantidad total de esteroides presentes en la

muestra, pues como anteriormente se mencionó estas determinaciones son las terceras destinadas a las mismas muestras comerciales; que aunque han sido almacenadas en congelación (-18°C); como mencionaron Sanchez *et al.* (2001), “A través del tiempo la composición del alimento cambia, por diversas transformaciones fisicoquímicas dadas por la interacción de los componentes en la matriz”.

Al ser un análisis complementario la determinación de colesterol para esta investigación y no la variable fundamental; esta incógnita se ignora relativamente para dar prioridad a la determinación de los fitoesteroles, aunque se continúa analizando el método en función de incrementar la acertividad en la determinación del colesterol. De aquí el uso cauteloso de la información que aquí se proporciona, pues aunque los valores reportados son veraces en el momento del análisis; en futuras determinaciones estos pueden alterarse por diferentes factores. Además del ya mencionado, tiempo de almacenamiento, deben tomarse en cuenta otros precedentes como son, factores agronómicos (clima, suelo, agua, altura, longitud) de alimento consumido por los rumiante y factores tecnológicos, como los sistemas de extracción del material lipídico.

VIII. CONCLUSIONES

Después de establecer una metodología a través de Cromatografía de Gases, precedida de una extracción lipídica, la respectiva saponificación y derivatización con trimetilclorosilanos, se realizó la determinación de fitoesteroles en quesos de leche de cabra manufacturados en México

El β -sitosterol fue el esteroles vegetal, más abundante presente en quesos de leche de cabra, independientemente del tipo (Sainte-Mauré, Panela o Feta) se registró en cantidades que oscilaron desde los 1.42 hasta los 2.80 mg por cada 100 g de producto en base seca (BS); con un valor promedio de 2.26 mg/100g (BS); lo que representó un 72.87% del total de fitoesteroles en la muestra.

El estigmasterol fue el segundo esteroles de mayor abundancia y se encontró en concentraciones entre 0.36 y 0.80 mg/100 g de queso (BS); con un valor promedio de 0.49 mg por cada 100g (BS), lo que representó el 15.83% del total de fitoesteroles determinados en la muestra.

El campesterol fue el tercer fitoesteroles determinado en las muestras analizadas. Registró concentraciones entre 0.27 mg/100g y 1.22 mg/100g (BS), donde el valor promedio fue de 0.35 mg/100g (BS), lo que ascendió a un 11.28% del contenido total de esteroleles vegetales.

IX. SUGERENCIAS

Con base a los resultados de este estudio, se propone el consumo de quesos de leche de cabra como parte de una dieta balanceada, ya que la presencia de fitoesteroles en ésta matriz aunada a la presencia en otros alimentos, puede contribuir a la ingesta diaria recomendada; impactando positivamente sobre la salud del consumidor, al reducir los niveles de lipoproteínas de baja densidad (LDL) en el plasma.

Por otra parte, la alimentación de los rumiantes es indiscutiblemente la razón directa que avala la determinación de estos compuestos de forma natural; por lo que la búsqueda de fuentes alternativas de alimentación animal, en zonas de pastoreo a través de diversas semillas arbóreas, permitirá obtener alimentos que reflejen desde su origen la presencia de agentes funcionales.

X. LITERATURA CITADA

- Abidi, S.L. 2001. Chromatographic analysis of plant sterols in foods and vegetable oils. *Journal of Chromatography* 935: 173-201.
- Arbiza, A. S.I y Lucas, J. 2001. La leche caprina. Capítulo IV. 43-70 p. En Arbiza, A. S.I y Lucas, J. 2001. La leche caprina y su producción. 1ª Edición. Editorial Mexicanos Unidos. México D.F.: 211 pp. ISBN 968-150104-7.
- Awad, A.B., Chinnam, M., Fink, C.S., Bradford, P.G. 2007. β -Sitosterol activates FAS signaling in human breast cancer cells. *Phytomedicine* 14: 747–754.
- Base de datos estadística de las Naciones Unidas de la Organización de alimentos y agricultura (Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistical Databases) FAOSTAT, URL. En:<http://faostat.fao.org/faostat/form?collection=Production.Livestock.Stocks&Domain=Production&servlet=1&hasbulk=0&version=ext&language=ES>.
Accesado en 2004. Consultado el 20.03.09.
- Bonilla, C.A. 2005. Evaluación nutrimental del queso de leche de cabra, cruda y pasteurizada por efecto del sistema de alimentación. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina y Zootecnia. UNAM. México: 58-69 pp.
- Bligh, E. G., Dyer, W. J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Journal of Biochemistry and Physiology* 37: 911-917.
- Castro, R.A. 2008. Cualidades medicinales y nutricionales de la leche de cabra.<http://www.rumela.org/modules.php?name=News&file=article&sid=212>. Consultado el 24.08.08.
- Chan, Y.M., Varady, K. Lin Y., Trautwein, E., Mensink, R.P., Plat, J., Jones, P.J.H. 2006. Plasma concentrations of plant sterols: Physiology and Relationship with coronary heart disease. *International Life Science Institute*. 10.1301: 385-402.

- Contarini, G., Povo, M., Bonfitto, E., Beradi, S. 2002. Quantitative analysis of sterols in dairy products: experiences and remarks. *International Dairy Journal* 12: 573-578.
- Cuchillo, H. M. 2006. Componentes funcionales y nutrimentales del queso fresco de leche de cabra, cruda y pasteurizada, por efecto del sistema de alimentación. Tesis de Maestría. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM. 75 – 85 pp.
- Devlin, T. M. 2004. *Bioquímica*, 4ª Ed. Reverté, Barcelona. ISBN 84-291-7208-4. 45-68 pp.
- Desarrollo Agrícola y Rural (Agriculture and Rural Development. Legislation in force). http://ec.europa.eu/agriculture/index_en.htm. consultado el 06.03.2009.
- Du M., Ahn D.U. 2002. Simultaneous analysis of tocopherols, cholesterol and phytosterols using gas chromatography. *Journal of Food Science* 67: 1696-1700.
- Drago, S. M. E., López, L. M., Saíenz, E.T.R. 2006. Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*. 37: 58-68.
- Eck, A. 1990. *El Queso*. Ed. Omega, Barcelona. ISBN 84-282-0838-7.
- Fenton, M., Sim, J.S. 1990. Determination of egg yolk cholesterol content by on-column capillary gas chromatography 62: 323-328.
- Fernandes, P., Cabral, J. M. S. 2006. *Phytosterols: Applications and recovery methods*. Ed. Bioresource Technology. Portugal. 2-16 pp.
- Folch, J. M., Sloane-Stanley. 1957. A simple method of isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*. 226:247.

LITERATURA CITADA

- Fox, P.F., Cogan T.M. 2004. Cheese made from ewe's and cow's milk. En: Fox, P.F., y Cogan T.M. 2004. Cheese: Chemistry, physics and microbiology. Vol2. Elsevier Academic Press. New York. Pp. 279-299.
- Fraga, M. J., Fontecha, J., Lozada, L., Martínez-Castro, I., Juárez M. 2000. Composition of the sterol fraction of caprine milk fat by gas chromatography and mass spectrometry. *Journal of Dairy Research* 67: 437-441.
- Fransen, H., Jong, N., Wolfs M., Verhagen H., Verschuren, W.M.M., Lütjohann, D., Bergmann, K., Plat, J., Mensink, R.P. 2007. Customary use plant sterol and plant estanol enriched margarina is associated with changes in serum plant sterol and estanol concentrations in Humans. *The Journal of Nutrition* 137: 1301-1306.
- Fuentes, R. A. 2009. Composición de ácidos grasos y contenido de ácido linoleico conjugado en quesos de leche de cabra manufacturados en México. Tesis de licenciatura. Facultad de Química. UNAM. Pp 57-60.
- Gacia-Garibay, M., Quintero, R.R., López-Munguía, A. 2004. Biotecnología alimentaria. Limusa-Noriega Ed. México. Pp 179-181.
- Gambelli, L. Manzi, P., Panfili, G., Vivanti, V., Pizzoferrato, L. 1999. Constitutens of nutritional relevance in fermented milk products commercialized in Italy. *Food Chemistry* 6:353-358.
- Goudjil, H., Torrado, S., Fontecha, J. 2003. Composition of cholesterol and its precursors in ovine milk. *Lait* 83 153-160.
- Haenlein, G.F.W., Caccese, R. 1984. Goat milk versus cow milk. En: Extension Goat Handbook, G.F.W.Haenlein and D.L.Ace. 1984. Ed. USDA Publ., Washington, D.C.,E 1-4 pp.

- Haenlein, G.F.W., Wendorff, W.L. 1984. Sheep milk production and utilization of sheep milk. En Park, Y.W., Haenlein, G.F.W. 1984. Handbook of milk-non bovine mammals. Blackwell Publishing Professional. Oxford. USA. 137-194.
- Hallikainen, M., Lyyra-Laitien, T., Laitien, T., Moilanen, L., Miettinen, T.A., Gylling, H. 2008. Effects of plant stanol esters on serum cholesterol concentrations, relative markers of cholesterol metabolism and endothelial function in type 1 diabetes. *Atherosclerosis*. 199: 432-439.
- Heinemann, T., Leiss, O., Von Bergmann, K. 1986. Effect of low-dose of sitostanol on serum cholesterol in patients with hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 61:219-223.
- Hubbard, W., Sheppard, A., Newkirk, D., Prosser, A., Osgood, T. 1977. Comparison of various methods for the extraction of total lipids, fatty acids, cholesterol, and other sterols from food products. *Journal of American Oil Chemist Society* 54: 81–83.
- Jansen, P., Lutjohan D. Abildayeva K. 2006. Dietary plant sterols accumulate in the brain. *Biochimica et biophysica Acta* 1761: 445-453.
- Jennes, R. 1980. Composition and characteristics of goat milk. Review: 1968 – 1979. *Journal of Dairy Science*. 63:1605-1630.
- Jong, A., Plat J., Mensilk, R.P. 2003. Metabolic effects of plant sterols and stanols Review. *Journal of Nutrition Biochemistry* 14:362-369.
- Juárez, M., Ramos M. 1986. Physico-chemical characteristics of goat milk as distinct from those of cow milk. En: Juárez, M., Ramos M. 1986. Ed. Internacional dairy federation, Proceeding of the IDF Seminar Production and Utilization of Ewe's and Goat's milk. Bulletin 202. Athenas – Grece, 54-67.
- Juárez, T. 2008. Quesos mexicanos. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/reportajes/quesos/quesos.htm>. Consultado el 22.08.2008.

- Katy, E., Magee, M.A. 2006. El colesterol "bueno" y el colesterol "malo".
<http://salud.latino.msn.com/centros/colesterol/articlepage.aspx?cp-documentid=100130022>. Consultado el 24.08.08.
- Khanal, R.C. 2004. Potencial health benefits of conjugated linolico acid (CLA) content in milk, meat and egg: A review. *Pakistan Journal of Nutrition* 3:82-98.
- Keenan, T.W., Dylewski, D.P. 1995. Intracellular origin of milk lipid globules and nature and structure of the milk globule membrane. En Fox, P.F., Ed. *Advances Dairy Chemistry. Lipids, Vol 2*. London. 89-130 pp.
- Kosikousky, F. V., Mistry, V.V. 1997. *Cheese and fermented milk foods. Vol I. Origen and principles*. Edward Brothers Ed. USA: 728 pp.
- Lagarda M.J, García-Llatas G, Farré R. 2006. Analysis of phytosterols in foods. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41: 1486–1496.
- Losada, M. 2002. *El análisis sensorial de los quesos*. AMV Ed. Mundi-Prensa. España: 15-30 pp.
- Law, M., 2000. Plant sterol and stanol margarines and health. *British Medical Journal*. 320: 861-864.
- Le Queré, J.L., Pierre, A., Riaublanc, A., Demaizieres, D.1998. Characterization of aroma compounds in the volatile fraction of soft goat cheese during ripening. *Lait* 78:279-290.
- Lehninger, A., L. 1976. *Curso breve de bioquímica*. Omega, Barcelona. ISBN84-282-0445-4.
- Lowe, F.C., Ku, J.C. 1996. Phytoterapy in treatment of benign prostatic hyperplasia: A critical review. *Urology*; 48:12-20.

- Madsen, M. B., Jensen, A.M., Schmidt, E. B. 2007. The effect of a combination of plant sterol-enriched foods in mildly hypercholesterolemic subjects *Clinical Nutrition* 26: 792–798.
- Massimo, F.M., Kakuda, Y., Yada, R.Y. 2004. Amaranth as a rich dietary source of β -sitosterol and other phytosterols. *Plant Foods for Human Nutrition* 58:207-211.
- Mensink, R. P., Plat, J. 2002. Post-genomic opportunities for understanding nutrition: the nutritionist's perspective. *Proceedings of Nutrition Society* 61:401-404
- Mensink, R. P., Ebbing S., Lindhout M., Plat J., Heugten, M.M.A. 2002. Effects of plant stanol esters supplied in low-fat yoghurt on serum lipids and lipoproteins, non-cholesterol sterols and fat soluble antioxidant concentrations. *Atherosclerosis* 160: 205-213.
- Mora-Gutiérrez, A. Kumosinki. T.F., Farrell H.M., 1991. Quantification of α_{s1} -casein in goat milk from French Alpine and Anglo- Nubian breeds using reverse-phase high performance liquid chromatography. *Journal of Dairy Science* 74: 3303.
- Morales, L. J., Babinsky, V., Bourges, R. H., Camacho, P. M. 2000. Tablas de composición de alimentos mexicanos. México D.F: INCMNSZ.
- Morales, L.J., Cassis, P.M., García, B.L. 2003. Elaboración de un queso tipo "coija" con base a una mezcla de leche y garbanzo. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 53(2): 202-207.
- Nauman E., Plat J., Mensink R.P. 2003. Changes in serum concentrations of noncholesterol sterols and lipoproteins in healthy subjects do not depend on the ratio of plant sterols to stanols in the diet. *The Journal of Nutrition* 133: 2741-2747.

- Newkirk, D., Sheppard, A. 1981. Oils and Fats. Association of Analytical Chemistry 64(1) 54.
- Norma Oficial Mexicana Nom-121-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias. <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/121ssa14.html>. Consultado el 26.08.08.
- Norma Oficial Mexicana Nom-155-SCFI-2003, "Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado – Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba". <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/155ssa14.html>. Consultado el 26.08.08
- Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense 03 042 – 02. Norma Técnica del Queso Chontaleño. <http://www.mific.gob.ni/docushare/dsweb/Get/Document-373/03%20042%2002%20Norma%20tecnica%20Queso%20Chontale%C3%B1o.doc>. Consultado el 25.09.08
- Norme'n, L., Ellega, L., Brants, H., Dutta, P., Andersson, H. 2007. A phytosterol database: Fatty foods consumed in Sweden and the Netherlands. Journal of Food Composition and Analysis 20: 193–201.
- O'Brien, N.M., O'Connor, T. P. 2004. Nutricional aspects of cheese. En Fox, P.F. y Cogan, T.M. 2004. Cheese: Chemistry physics and microbiology. Vol 2. 573-578 pp.
- O'Connor, Fox, P. 1973. Temperatura dependant dissociation of casein micells from the milk of various species. Netherland Milk Dairy Journal. 27: 127-199.
- O'Connor, D.L. 1994. Folate in goat milk products with reference to other vitamins and minerals: A review. Small Ruminant Research, 40: 283 - 298.

- Oliszewski, R., Rabasa, A.E., Fernández, J.L., Poli, M.A., Núñez de Kairúz, M.S. 2002. Composición química y rendimiento quesero de la leche de cabra Criolla Serrana del noroeste argentino. *Zootecnia Tropical* 20 (2): 179-189.
- Ostlund, R.E., Racette, S.B., Okeke, A., Stenson, W.F. 2002. Phytosterols that are naturally present in commercial corn oil significantly reduce cholesterol absorption in humans. *American Journal of Clinical Nutrition* 75, 1000–1004.
- Park, Y.W. 1991. Relative buffering capacity of goat milk, cow milk, soy-based infant formulae, and commercial nonprescription antacid drugs. *Journal Dairy Science* 74: 3326 - 3333.
- Park, Y.W., 2000. Comparasion of mineral and colesterol composition of different commercial goat milk products manufacturated in USA. *Small Ruminant Research* 37: 115-124.
- Pastor, L.F.J., Mellado, B.M., Ramírez, A. A, Dolores R.E. 2008, Evaluación sensorial de queso de leche de cabra tipo Boursin sabor natural y ceniza. *REDVET.* 9 (8) : 7 pp. Revista electrónica de Veterinaria. <http://www.google.com.mx/search?source=ig&hl=es&rlz=&q=Pastor%2C+L.F.J.%2C+Mellado%2C+B.M.%2C+Ram%3%ADrez.A.A%2C+Dolores+R.E.+2008%2C+Evaluaci%3%B3n+sensorial+de+queso+de+leche+de+cabra+tipo+Boursin+sabor+natural+y+ceniza.+REDVET.+Revista+electr%3%B3nica+de+Veterinaria&btnG=Buscar+con+Google&meta=lr%3D&aq=f&oq=> Consultado el 28.08.08.
- Pérez, J. L. A. 2009. Determinación de la capacidad antioxidante en quesos de leche de cabra manufacturados en México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. UNAM.
- Pescador D.A. 2007. El aguacate criollo cultivado en diferentes regiones de Mexico como fuente potencial de nutraceuticos, acidos grasos insaturados y fitoesteroles. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. UNAM.

- Phillips, K., Ruggio, D., Toivo, J., Swank, M., Simpkins, A. 2002. Free and esterified sterol composition of edible oils and fats. *Journal of Food Composition and Analysis* 15: 123–142.
- Plat, J., Mensink, R.P. 2000. Vegetable oil based versus Word based etanol ester mixtures: effects on serum lipids and hemostatic factors in non-hypercholesterolemic subjects. *Atherosclerosis* 101-112.
- Plat, J., Mensink, R.P. 2001. Effects of diets enriched with two different plant estanol ester mixtures on plasma ubiquinol-10 fat soluble antioxidant concentration. *Metabilism* 50: 520-529.
- Plat, J., Mensink, R.P. 2002. Increased intestinal ABC1A1 expression contribuyes to decrease in colesterol absorption offer plant etanol consumption. *Faseb Journal* 16: 1248-1253.
- Plat, J., Mensink, R.P. 2005. Plant estanol and sterol esters in the control of blood cholesterol levels: mechanism and safety aspects. *The American Journal of Cardiology* 96: 15-22.
- Plat J., Beugels I., Gibels M., Wiinther M.P.J., Mensink, R.P. 2006. Plant sterol or estanol esters retard lesion formation in LDL receptor-deficient mice independent of changes in serum plant esterols. *Journal of Lipid Research* 47: 2762-2771.
- Quesada, A. 2003. Diagnóstico de Laboratorio. En Principales pruebas de Bioquímica Clínica y de Laboratorio. Primera Edición. Litografía e Imprenta Lehmann. Tibás. San José, Costa Rica.
- Rubis, B., Paszel, A., Kaczmarek, M., Rudzinski, M., Jelen, H., Rybczynska, M. 2008. Beneficial or harmful influence of phytosterols on human cells?. *British Journal of Nutrition* 100: 1183-1191.

LITERATURA CITADA

Sánchez, C.J., Osorio, B.E., Montan, G.A.M., Martínez, C.M., 2001. Contenido de esteroides de siete variedades de aceitunas producidas en la región extremeña. Instituto Tecnológico Agroalimentario Badajoz. Foro de la tecnología oleica y la calidad. España.

Santos, A. A. 1996. La leche de cabra, sus propiedades nutritivas y farmacológicas.

<http://www.correodelmaestro.com/anteriores/1996/agosto/3anteaula.htm>.

Consultado el 20.08.08

Santos, R., Limas, E., Sousa M., Castilho M.C., Ramos F., Noronha de Silveira, M.I. 2006. Optimization of analytical procedures for GC-MS determination of phytosterols and phytostanols in enriched milk and yoghurt. Food Chemistry. 102: 113-117.

Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2003. En:

<http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderito/cuantleca.htm>. consultado el 28.01.20079

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), 2008. Estadística básica. Leche de caprino. <http://www.siap.gob.mx/foro/foro/index.php>. consultado el 1.09.08

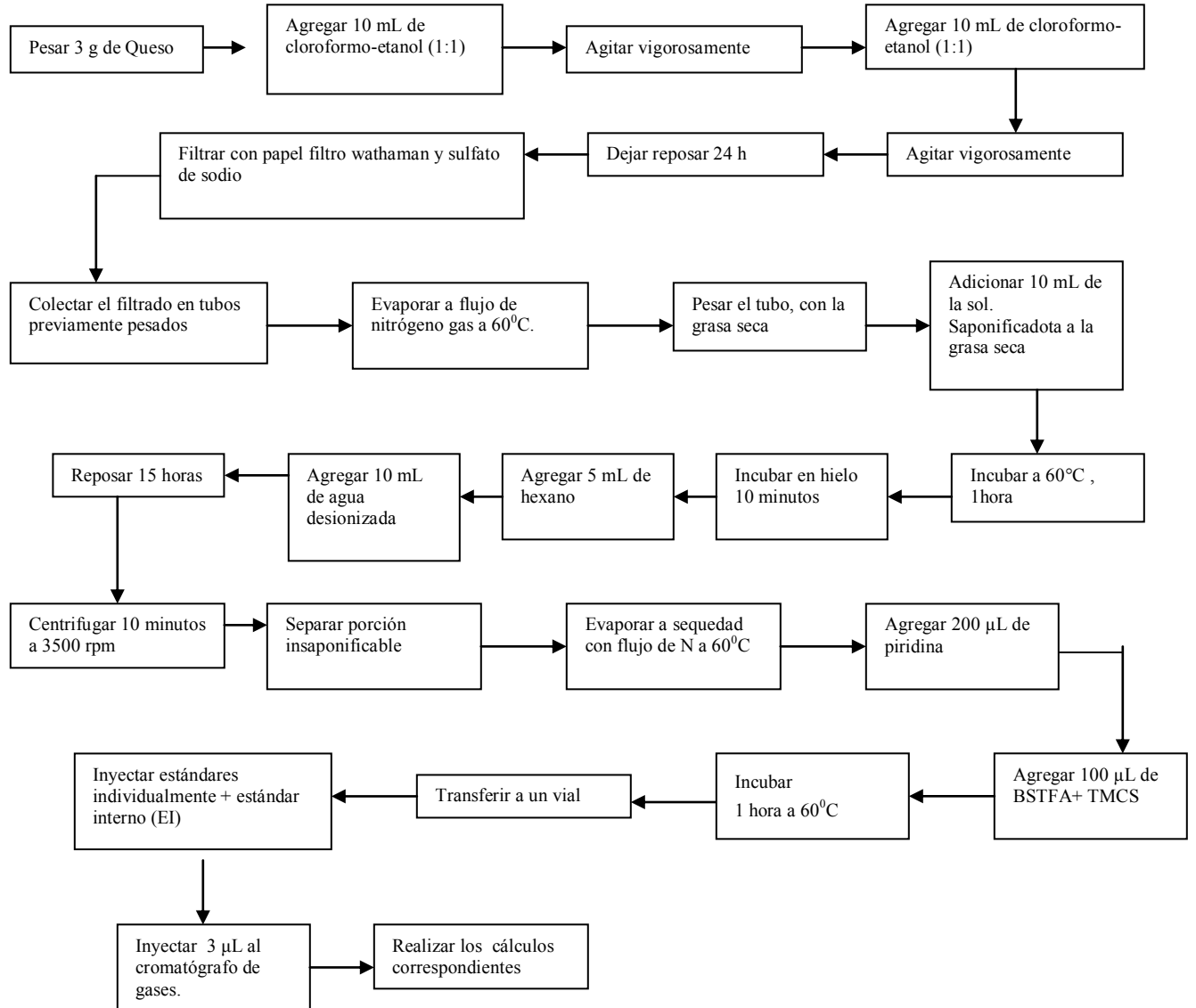
Toivo, J., Piionen, V., Kalo, P., Varo, P. 1998. Gas chromatography determination of major sterols in Edible oils and fats using solid-phase extraction in sample preparation. Chromatographia 48: 745-750.

Trujillo, A., Almudena, F., 2004. Consumo de quesos de cabra en la Ciudad de Tequisquiapan, Qro. México. Memorias de la XIX Reunión Nacional sobre Caprinocultura. Acapulco, Gro.

- USDA. 2007. Nutrient Database for Standard Reference. Release 13. USA. Food group 01 dairy and egg products. En:<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/SR13/reports/sr13page.htm>. consultado el 08.08.2008.
- Valenzuela, B. A., Sanhueza, J. Nieto, S, 2002. ¿Es posible mejorar la calidad nutricional de los aceites comestibles? *Revista Chilena de Nutrición* 29: 174-180.
- Valenzuela, B. A., Ronco A.M. 2004. Fitoesteroles y fitoestanoles: aliados naturales para la protección de la salud cardiovascular. *Revista Chilena de Nutrición* 21(1):161-169.
- Villegas de Gante, 2003. *Los Quesos Mexicanos*. Universidad Autónoma de Chapingo. 2ª edición. México. 21-23 pp.
- Volger, O.L. Van der Bomm H., Wit C.M.E., Duyvenvoorde, W., Hornstra, G., Plat, J., Havekes, L.M., Mensink R.P., Princen, H.M.G. 2001. Dietary plant stanol esters reduce VLDL cholesterol secretion and bile saturation in apolipoprotein E+3-Leiden transgenic mice. *Arteriosclerosis Thromb Vascular Biology* 21: 1046- 1052.
- Watt, B. K., Merrill, A. L., Pecot, R. K., Adams, C. F., Orr, M. L., Miller, D.F. 1975. *Composition of foods: raw, processed, prepared (nutritive values)*. 190 pp.
- Weingärtner, O., Böhm M., Laufs U., 2009. Controversial role of plant sterol esters in the management of hypercholesterolaemia. *European Heart Journal* 30: 404-409.
- Weststrate, J.A., Meijer, G.W. 1998. Plant sterol-enriched margarines and reduction of plasma total and LDL-cholesterol concentrations in normocholesterolemic and mildly hypercholesterolemic subjects. *European Journal Clinical Nutrition*; 52: 334-343.

XI. ANEXOS

ANEXO XI.1 Diagrama de determinación de fitoesteroles por cromatografía de gases.



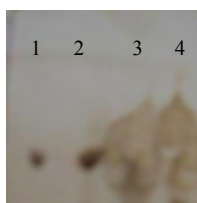
XI. 2 VALIDACIÓN DEL MÉTODO

Para corroborar la eficiencia del método se monitoreó cada etapa del proceso con el fin de identificar la presencia de los esteroides al paso de cada fase. De forma cualitativa este monitoreo se realizó a través de cromatografías de capa fina (CCF) para que al final la cuantificación de los fitoesteroides se llevara a cabo a través de cromatografías de gases (CG). Se utilizó como muestra estándar aguacate (*Persea americana*) liofilizado, pues estudios previos lo avalan como fuente de fitoesteroides (Pescador, 2007).

PRIMERA ETAPA. EXTRACCIÓN DE LA GRASA.

Se determinó que esta etapa era esencial en el proceso pues de obviarse no se logran definir y por tanto identificar los fitoesteroides en el cromatograma obtenido de la CG. Para la extracción se utilizó cloroformo, etanol 1:1; mezcla en la cual la fase lipídica fue soluble; después del reposo de la muestra de la matriz alimentaria en la mezcla por 24 horas en agitación (condiciones para eficientar la extracción), la fracción lipídica se corrió por capa fina junto con estándares comerciales (Sigma Chemical) de β -sitosterol y estigmasterol. Las condiciones para CCF fueron las siguientes, la fase eluyente estuvo compuesta de hexano, diclorometano y acetato de etilo (8:1:1), después de eluir y secar la cromatoplaqueta se reveló usando sulfato cérico. Finalmente la cromatoplaqueta mostró la presencia de esteroides, aunque también se advirtieron diversidad de otros múltiples componentes.

Figura 17. Cromatoplaqueta en capa fina obtenida después de la extracción lipídica

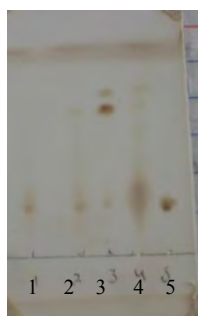


1. estándar β - sitosterol
2. estándar estigmasterol
3. fracción lipídica del queso
4. fracción lipídica del aguacate

SEGUNDA ETAPA. SAPONIFICACIÓN

El extracto etéreo obtenido de la primera etapa se sometió a una saponificación con una mezcla de KOH al 33% y etanol (94:6), 60 minutos a 60^oC, al término de ésta, se extrajeron con un solvente orgánico de la misma polaridad (hexano) los esteroides y después de la evaporación del solvente se observó que las muestras de queso (carriles 1 y 2) presentan el mismo frente de referencia (rf) que los estándares, lo que significó que los esteroides fueron extraídos al continuar presentes después de la saponificación. La fase móvil se compuso de hexano, diclorometano y acetato de etilo (8:1:1),

Figura 18. Cromatoplaqueta en capa fina obtenida después de la saponificación



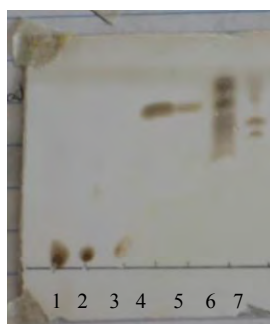
1. queso saponificado
2. queso saponificado
3. aguacate saponificado
4. estándar β -sitosterol
5. estándar estigmasterol

TERCERA ETAPA. SILILACIÓN

En esta etapa a nivel molecular se cambiaron los hidrógenos activos de los esteroides por grupos trimetilsililo $(\text{CH}_3)_3\text{Si}$; lo que provocó reducción de la polaridad del compuesto, mejorando la separación, incrementando la estabilidad térmica, la volatilidad y el límite de detección de los fitoesteroides en el cromatograma obtenido del CG. Como solvente aprótico y catalizador se utilizó piridina. La Figura 18, muestra la sililación tanto de los estándares como de las muestras de queso y aguacate.

La sililación se llevo a cabo exitosamente advirtiéndose una sola franja, de la cual se advierte un aumento de polaridad pues eluye una mayor distancia en comparación con las mismas muestras no sililadas. La fase móvil se compuso de hexano, diclorometano, acetato de etilo (9:0.5:0.5).

Figura 18. Cromatoplaqa en capa fina obtenida después de la sililación



1. estándar de colesterol
2. estándar de β -sitosterol
3. estándar de estigmasterol
4. colesterol sililado
5. estigmasterol sililado
6. queso sililado
7. aguacate sililado

CUARTA ETAPA. CROMATROGRAFÍA DE GASES

Después de la sililación, se inyectó la muestra en el cromatógrafo, bajo las siguientes condiciones:

Inyector: 320 °C

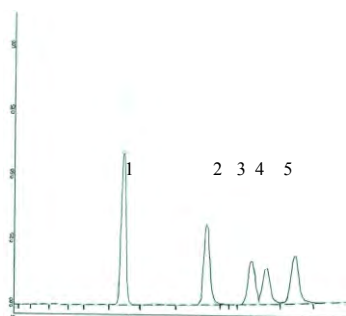
Detector: 320 °C

Columna: 3m DB5, diámetro interno de 0.25mm; 1 μ m de película.

T_{inicial}: 100 °C en aumento 30°C/minuto.

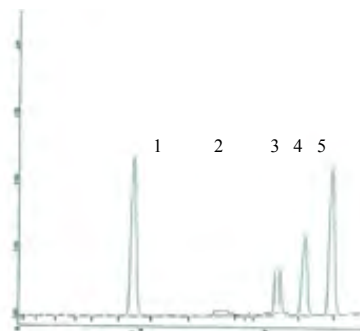
T_{final}: 320 °C.

Figura 19. Cromatograma (CG) obtenido de la de la Inyección de la muestra de queso.



1. α -5-colestano
2. colesterol
3. campesterol
4. estigmasterol
5. β -sitosterol

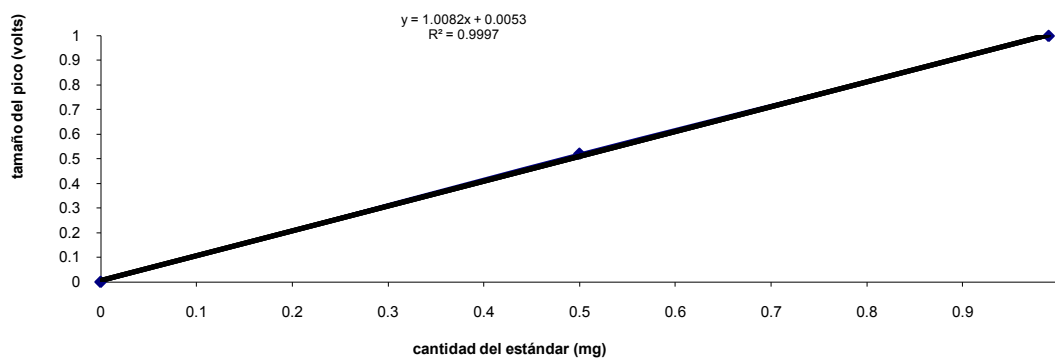
Figura 20. Cromatograma (CG) obtenido la inyección de la muestra de aguacate.



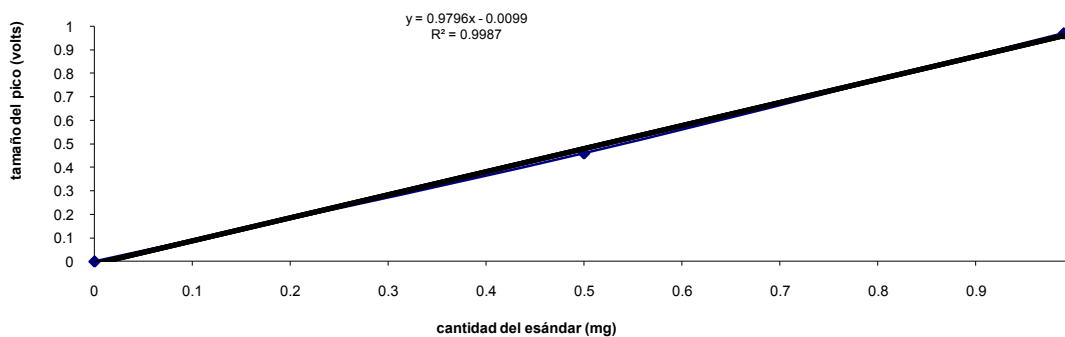
Los tiempos de retención de los picos que se registraron en el cromatógrafo para las muestras de queso y aguacate, corresponden con los con los picos determinados en el mismo tiempo de retención de los estándares, por lo que se corroboró que el método es efectivo al extraer fitosteroles independientemente de la matriz alimentaria utilizada. La cuantificación se realizó mediante una calibración del equipo y las curvas patrón utilizadas se detallan a continuación.

XI.3 CURVAS PATRÓN

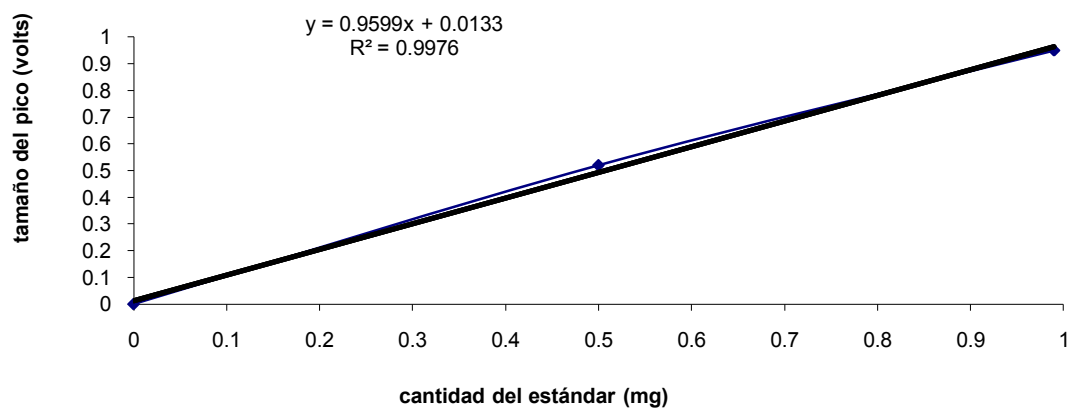
XI.3.1 β -sitosterol



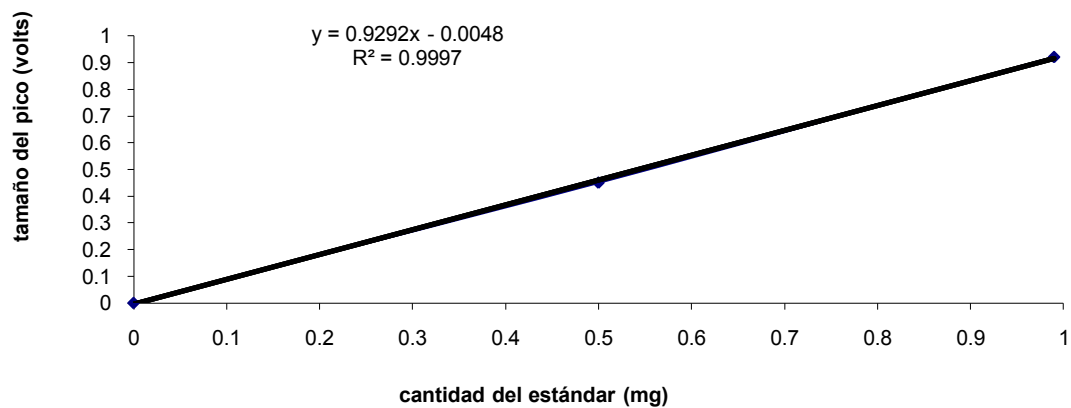
XI.3.2 Estigmasterol



XI.3.3 Campesterol

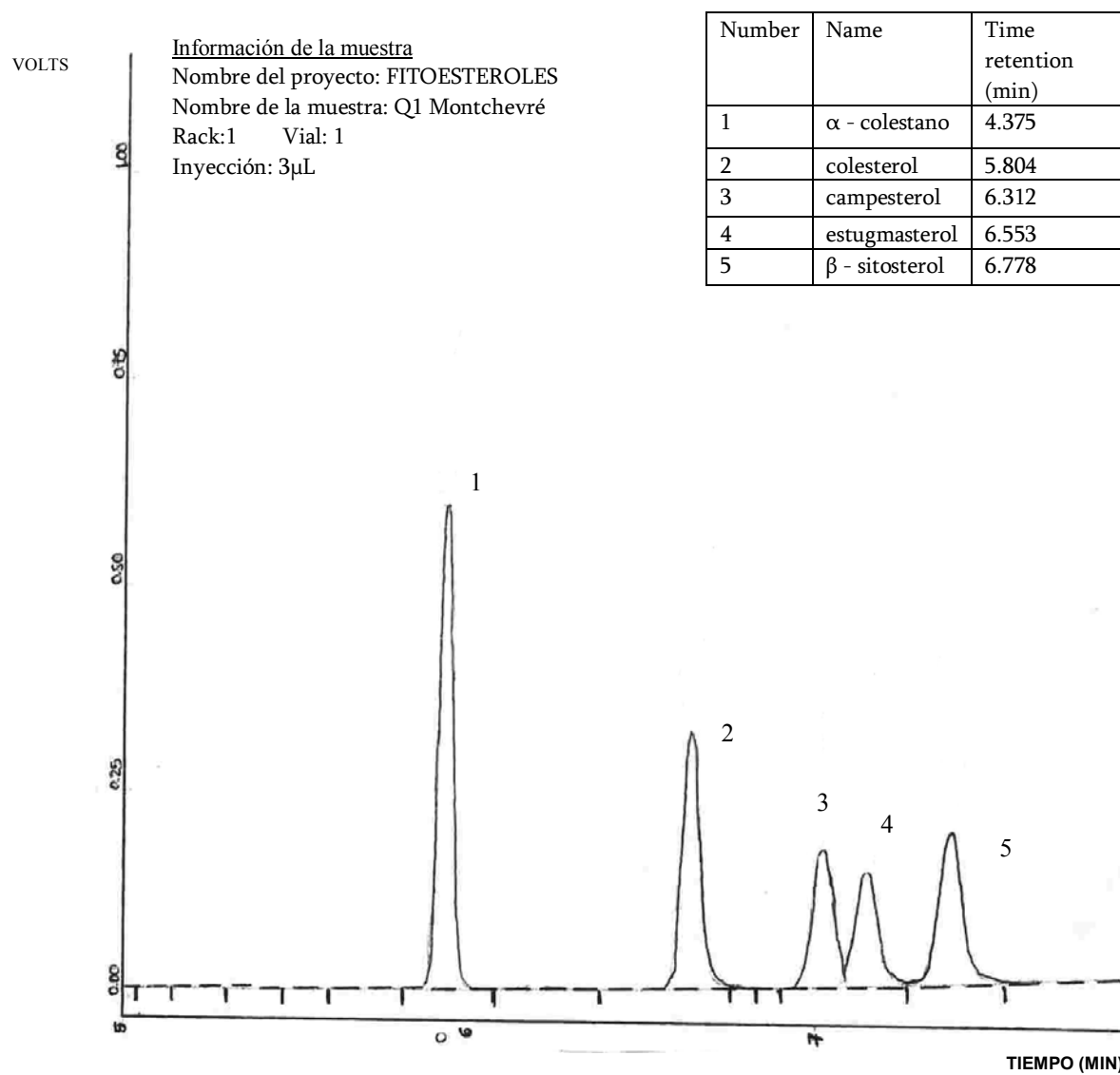


XI.3.4 Colesterol



XI.4 CROMATOGRAMA CROMATOGRAFÍA DE GASES

XI.4.1 Cromatograma obtenido de la muestra de tipo Sainté-Mauré de leche de cabra identificado por su marca comercial como Montchevré.



XI. 5. Contenido de humedad (g/100g) en quesos de leche de cabra manufacturados en México (Fuentes, 2009).

	Producto comercial	Humedad (%)
Quesos del tipo Sainte- Mauré	Montchevré	54.5 ± 2.24
	Notre Dame	58.6 ± 0.96
	R. Vistalegre	60.3 ± 0.37
	La Parroquia de Xico	50.9 ± 1.58
	Lanzarote	50.7 ± 2.82
	Chateau Blanc	54.4 ± 3.45
	Carol	54.9 ± 0.64
	La Texana	58.6 ± 0.56
	Queso Caprina	57.4 ± 2.85
	El Queso de Cabra	51.6 ± 0.57
	Bon Rennés	52.6 ± 0.20
	Castevell	52.9 ± 1.46
	Mikonos	56.3 ± 1.54
	Le Blanc	52.8 ± 1.11
	Laclette	54.8 ± 0.45
	Gourmand	54.5 ± 2.81
Romandie	58.2 ± 1.10	
Diane	58.4 ± 0.76	
Queso del tipo Panela	Cabrero	60.6 ± 1.02
Quesos del tipo Feta	Bon Rennés	41.9 ± 0.98
	Rancho Vistalegre	49.4 ± 1.19
	Lanzarote	51.0 ± 0.16
	Castevell	50.0 ± 0.15

XI.6 Contenido de fitoesteroles en quesos de leche
de cabra manufacturados en México.

	Producto Comercial	β-sitosterol (mg/100g BS)	Estigmasterol (mg/100g BS)	Campesterol (mg/100g BS)
	Montchevré	2.17±0.16	0.58±0.07	0.30±0.02
	Notre Dame	2.67±0.22	0.70±0.03	0.92±0.03
	R. Vistalegre	2.73±0.14	0.59±0.02	0.41±0.03
	La Parroquia de Xico	1.90±0.31	0.36±0.03	0.31±0.04
	Lanzarote	2.27±0.07	0.60±0.10	0.78±0.03
	Chateau Blanc	2.64±0.12	0.57±0.02	0.39±0.3
	Carol	2.31±0.08	0.44±0.02	0.37±0.02
	La Texana	2.48±0.12	0.76±0.03	0.35±0.04
	Queso Caprina	2.40±0.08	0.61±0.04	1.22±0.03
Quesos del tipo Sainté- Mauré	El Queso de Cabra	1.42±0.12	0.50±0.03	0.27±0.05
	Bon Rennés	2.17±0.09	0.47±0.03	0.59±0.10
	Castevell	2.39±0.07	0.60±0.03	0.67±0.07
	Mikonos	1.64±0.10	0.41±0.02	0.55±0.02
	Le Blanc	2.41±0.07	0.53±0.05	0.51±0.03
	Laclette	2.74±0.06	0.63±0.03	0.34±0.01
	Gourmand	2.67±0.18	0.66±0.02	0.27±0.03
	Romandie	2.80±0.36	0.74±0.04	0.39±0.03
	Diane	1.83±0.05	0.80±0.03	0.33±0.02
Queso del tipo Panela	Cabrero	1.74±0.07	0.45±0.02	0.24±0.02
	Bon Rennés	1.55±0.05	0.24±0.04	0.25±0.02
Quesos del tipo Feta	Rancho Vistalegre	2.88±0.07	0.69±0.02	0.34±0.04
	Lanzarote	2.52±0.05	0.28±0.03	0.53±0.03
	Castevell	1.54±0.05	0.27±0.05	0.28±0.02