

CONCLUSIONES

1. El método combinado de enriquecimiento de fracciones en α_{s1} -Cn A y F mediante la SP-Sefarosa, y posterior purificación de éstas por FPLC en columna de fase reversa, permite obtener estas proteínas con pureza cromatográfica y en cantidades suficientes para realizar ensayos de hidrólisis.
2. Los enzimas coagulantes del cuajo hidrolizan la β -Cn caprina para dar cinco productos de degradación insolubles a pH 4.6 (β -I a β -V). La α_{s1} -Cn es degradada en iguales condiciones a un producto primario de degradación (PPD) que a su vez es posteriormente hidrolizado. La α_{s2} -Cn se muestra menos sensible a la acción proteolítica de estos enzimas, pero puede ser degradada por ellos dando un perfil complejo de péptidos, que indica la escisión de la molécula en su parte central. En iguales condiciones de hidrólisis la intensidad de degradación de las distintas caseínas caprinas fue $\alpha_{s1} > \beta > \alpha_{s2} > \text{para } \kappa\text{-Cn}$.
3. Los productos de degradación insolubles a pH 4.6, formados en la hidrólisis de las β y α_{s1} -Cn caprinas por acción de los enzimas del cuajo, conservan las zonas fosforiladas de las proteínas originales, por lo que aparecen en PAGE-urea desdobladas en diferentes bandas de idéntico patrón electroforético que éstas. Por otra parte las zonas fosforiladas se muestran resistentes al ataque proteolítico de los enzimas estudiados.
4. Al igual que la caseína bovina, la proteólisis de Cn caprina por los enzimas del cuajo depende fuertemente del pH. La β -Cn es hidrolizada de forma óptima a $\text{pH} \geq 5.4$, pero a diferencia de su homóloga bovina el patrón de degradación obtenido no depende del pH, aunque sí la cantidad de productos formados. En el caso de la α_{s1} -Cn no sólo la cantidad, sino también la naturaleza de los productos de hidrólisis, se ven afectados por este parámetro. Se identificaron dos posibles PPD (α_{s1} -I y α_{s1} -II), apareciendo preferentemente uno u otro, o mezcla de ambos, en función del pH.

-
5. La concentración de NaCl determina la actividad de los enzimas del cuajo sobre las caseínas caprinas, como en las bovinas. La hidrólisis de la β -Cn se ve fuertemente inhibida a concentraciones superiores a 5% de NaCl, pero una vez más el patrón proteolítico no se ve afectado por las condiciones iónicas, contrariamente a lo descrito para la especie bovina. Concentraciones del 5% de NaCl estimulan la hidrólisis de la α_{s1} -Cn, mostrándose actividad enzimática sobre esta proteína incluso para contenidos del 15%. Tanto la naturaleza como la cantidad de los productos de degradación de la α_{s1} -Cn obtenidos dependen de la presencia de sal.
 6. El cuajo, la quimosina y la pepsina mostraron igual especificidad en su acción sobre los distintos substratos caseínicos caprinos, siendo la pepsina el enzima más proteolítico en las mismas condiciones de reacción.
 7. Las interacciones entre los componentes del complejo caseínico determinan su susceptibilidad a la proteólisis. Así la β y α_{s1} -Cn son más intensamente degradadas por el cuajo cuando se utilizan como substrato separadas que cuando se somete a hidrólisis la caseína entera. El patrón electroforético de degradación de la caseína entera por los enzimas coagulantes es muy similar al de la β -Cn, debido a la intensa proteólisis sufrida por la α_{s1} -Cn y sus derivados de hidrólisis, a diferencia de la caseína bovina, en que en iguales condiciones, estos productos permanecen visibles tras períodos de incubación largos.
 8. La hidrólisis de las variantes genéticas A y F de la α_{s1} -Cn caprina por acción de la quimosina muestra cinéticas de degradación diferentes, siendo la variante A más rápidamente hidrolizada que la F. Igualmente los perfiles peptídicos obtenidos son diferentes. Nuestros resultados muestran para la α_{s1} -Cn A 18 enlaces peptídicos susceptibles de hidrólisis por la quimosina: Leu₁₆-Asn₁₇, Glu₁₈-Asn₁₉, Phe₂₃-Val₂₄, Phe₂₈-Pro₂₉, Phe₃₂-Arg₃₃, Ile₄₄-Gly₄₅, Tyr₈₀-Ile₈₁, Gln₈₂-Lys₈₃, Tyr₉₁-Leu₉₂, Tyr₉₄-Leu₉₅, Leu₁₀₁-Lys₁₀₂, Leu₁₀₉-Glu₁₁₀, Leu₁₂₀-His₁₂₁, Leu₁₄₂-Ala₁₄₃, Leu₁₄₉-Phe₁₅₀, Leu₁₅₆-Arg₁₅₇, Trp₁₆₄-Tyr₁₆₅, Phe₁₇₉-Ser₁₈₀. Para la variante F los enlaces hidrolizados fueron: Phe₂₃-Val₂₄, Phe₃₂-Arg₃₃, Leu₆₄-Lys₆₅, Leu₈₃-His₈₄, Leu₁₀₅-Ala₁₀₆, Leu₁₁₂-

- Phe₁₁₃, Leu₁₁₉-Asp₁₂₀ y Trp₁₂₇-Tyr₁₂₈. Muchos de estos puntos de corte coinciden con los descritos para la α_{s1} -Cn B bovina.
9. Los perfiles electroforéticos y cromatográficos obtenidos a partir de hidrolizados de α_{s1} -Cn A con quimosina bovina, cuajo bovino y cuajo caprino no muestran diferencias apreciables, lo que sugiere actividad y especificidad semejantes para estos coagulantes.
 10. La hidrólisis de caseínas con diferentes genotipos para la α_{s1} por acción del cuajo varió sensiblemente en los primeros estadios de proteolisis (sobre todo en la aparición o no del PPD), pero al avanzar el tiempo de incubación los patrones electroforéticos fueron muy similares.
 11. La β -Cn caprina es hidrolizada por la plasmina dando productos de degradación muy similares a los obtenidos en la hidrólisis de su homóloga bovina (γ_1 , γ_2 , γ_3 y fragmentos N-terminales). El patrón electroforético más complejo para estos productos en la especie caprina se debe a los distintos niveles de fosforilación que presenta esta proteína. También la α_{s1} y α_{s2} -Cn son degradadas dando numerosos productos insolubles a pH 4.6, siendo la α_{s2} -Cn mucho más sensible a la hidrólisis por la plasmina que la α_{s1} -Cn. Este resultado coincide con lo descrito para las caseínas bovinas, aunque en iguales condiciones de reacción las proteínas caprinas son más proteolizadas que sus homólogas bovinas.
 12. La hidrólisis de las α_{s1} -Cn A y F por la plasmina presentaron perfiles cromatográficos (solubles a pH 4.6) similares, indicando escasa actividad proteolítica en la zona multifosforilada de la variante A, deleccionada en la F.
 13. La acción conjunta de plasmina y cuajo sobre la caseína caprina conduce a la formación de los productos de hidrólisis descritos para cada enzima. La acción sucesiva de estas enzimas demuestra que las γ -Cn son resistentes a la acción del cuajo, lo que explica la estabilidad de estos péptidos durante la maduración del

queso, mientras que los productos de hidrólisis del cuajo (β -I a β -III) pueden ser posteriormente degradados por la plasmina.

14. Los resultados obtenidos en las hidrólisis *in vitro* realizadas sobre las caseínas caprinas son comparables a los observados en quesos de cabra, por lo que estos estudios de proteolisis pueden aportar información útil sobre los procesos acaecidos durante la maduración del queso.
15. La técnica desarrollada para la obtención de cuajadas modelo, mediante la aplicación de alta presión hidrostática, se considera un método apto para el estudio de la proteolisis del queso en condiciones reales de maduración.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

Adda, J.; Roger, S.; Dumont, J.P. (1978). Some recent advance in the knowledge of cheese flavour. Flavour of foods and beverages, chemistry and technology. Academic Press ed.; London; Charalambous, G. and Inglett, C.E.; 65-74.

Addeo, F.; Garro, G.; Intorcia, N.; Pellegrino, L.; Resmini, P.; Chianese, L. (1995). Gel electrophoresis and immunoblotting for the detection of casein proteolysis in cheese. *J. Dairy Res.* 62, 297-309.

Addeo, F.; Mauriello, R.; Di Luccia, A. (1988). A gel electrophoretic study of caprine casein. *J. Dairy Res.* 55, 413-421.

Addeo, F.; Soulier, S.; Pélissier, J.P.; Chobert, J.M.; Mercier, J.C.; Ribadeau-Dumas, B. (1978). Preparation and fractionation of goat κ -casein: analysis of the glycan and peptide components. *J. Dairy Res.* 45, 191-196.

Agarwal, K.P.; Bhattacharya, N.K. (1980). Note on the composition of colostrum and its transition to normal milk in Indian dwarf goats. *Indian J. Anim. Sci.* 50, 782-784.

Aimutis, W.R.; Eigel, W.N. (1982). Identification of λ -casein as plasmin-derived fragments of bovine a_{s1} -casein. *J. Dairy Sci.* 65, 175-181.

Akroyd, P. (1968). Separation of milk proteins. Chromatography and Electrophoresis Techniques. Smith, Ed. ed.; London; William Heinemann Medical Books; Vol II; 399-405.

Alichanidis, E.; Wrathall, J.H.M.; Andrews, A.T. (1986). Heat stability of plasmin (milk proteinase) and plasminogen. *J. Dairy Res.* 53, 259-269.

Ambrosoli, R.; Di Stasio, L.; Mazzocco, P. (1988). Content of a_{s1} -casein and coagulation properties in goat milk. *J. Dairy Sci.* 71, 24-28.

Andren, A.; Collin, J.-C. Coagulating enzymes. (1986). *Bull. Int. Dairy Fed.*, E-Doc 248.

Andren, A.; Collin, J.-C. Coagulating enzymes. (1988). *Bull. Int. Dairy Fed.*, E-Doc 248.

Andrews, A.T. (1978a). The composition, structure and origin of proteose-peptone component 8F of bovine milk. *Eur. J. Biochem.* 90, 67-71.

Andrews, A.T. (1978b). The composition, structure and origin of proteose-peptone component 5 of bovine milk. *Eur. J. biochem.* 90, 59-65.

Andrews, A.T. (1983). Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins. *J. Dairy Res.* 50, 45-55.

-
- Andrews, A.T.; Alichanidis, E. (1975). Acid phosphatase activity in cheese and starters. *J. Dairy Res.* 42, 327-339.
- Andrews, A.T.; Alichanidis, E. (1983). Proteolysis of caseins and the proteose-peptone fraction of bovine milk. *J. Dairy Res.* 50, 275-290.
- Anifantakis, E.M.; Kandarakis, J.G. (1980). Contribution to the study of the composition of goat's milk. *Milchwissenschaft* 35, 617-619.
- Ardö, Y.; Gripon, J.-C. (1991). Chromatographic methods used to measure proteolysis in cheese. *Bulletin of the IDF* 261, 29-34.
- Ardö, Y.; Meisel, H. (1991). Methods for direct measurement of peptide bond cleavage in cheese. *Bulletin of the IDF* 261, 10-13.
- Argumosa, O.G.; Carballo, J.; Bernardo, A.; Martín, R. (1992). Chemical characterization of a Spanish artisanal goat cheese (Babia-Laciana variety). *Microbiologie-Aliments-Nutrition* 10, 69-76.
- Assenat, L. (1967). Contribution à l'étude d'une méthode d'identification des laits et fromages au moyen de l'électrophorèse en gel de polyacrylamide. *Lait* 47, 393-414.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1990). Official Methods of Analysis. ed. W. Horwitz; Washington.
- Bakke, H.; Steine, T.; Eggum, A. (1977). Flavour score and content of free fatty acids in goat milk. *Acta Agric. Scand.* 27, 245-249.
- Barbieri, M.E.; Manfredi, E.; Elsen, J.M.; Ricordeau, G.; Bouillon, J.; Grosclaude, F.; Mahé, M.F.; Bibé, B. (1995). Influence du locus de la caséine *as1* sur les performances laitières et les paramètres génétiques de chèvres de race Alpine. *Genet. Sel. Evol.* 27, 437-450.
- Le Bars, D.; Desmazeaud, M.J.; Gripon, J.C.; Bergere, J.L. (1975). Etude du rôle des micro-organismes et de leurs enzymes dans la maturation des fromages. 1. Fabrication aseptique d'un caillé modele. *Lait* 55, 377-388.
- Le Bars, D.; Gripon, J.-C. (1993). Hydrolysis of *as1*-casein by bovine plasmin. *Lait* 73, 337-344.
- Le Bars, D.; Gripon, J.-C. (1981). Role *Penicillium roqueforti* proteinases during blue cheese ripening. *J. Dairy Res.* 48, 479-487.
- Le Bars, D.; Gripon, J.-C. (1989). Specificity of plasmin towards bovine α_{s2} -casein. *J. Dairy Res.* 56, 817-821.

- Basch, J.J.; Douglas, F.W.; Procino, L.G.; Holsinger, V.H.; Farrell, H.M. (1985). Quantitation of caseins and whey proteins of processed milks and whey protein concentrates, application of gel electrophoresis, and comparison with Harland-Ashworth procedure. *J. Dairy Sci.* 68, 23-31.
- Beltrán, C.; Rodríguez, I.; Martínez, M.; Bayés, F. (1993). Estudio sobre el queso tipo *Garrotxa* o *Pell Florida* (corteza enmohecida). *Ind. Lác. Esp.* septiembre, 37-42.
- Benali, M.; Guilbaud, E.; Montagne, P.; Humbert, G.; Cuilière, M.L.; Duheille, J.; Faure, G.; Linden, G. (1994). Proteolysis of bovine β -casein by a plasmin-Sepharose conjugate. *Lait* 74, 333-341.
- Benslimane, S.; Dognin-Bergeret, M.J.; Berdague, J.L.; Gaudemer, Y. (1990). Variation with season and lactation of plasmin and plasminogen concentrations in Montbeliard cows' milk. *J. Dairy Res.* 57, 423-435.
- Bhowmik, T.; Marth, E.H. (1990). Role of *Micrococcus* and *Pediococcus* species in cheese ripening: a review. *J. Dairy Sci.* 73, 859-866.
- Boisnard, M.; Hue, D.; Bouniol, C.; Mercier, J.-C.; Gaye, P. (1991). Multiple mRNA species code for two non-allelic forms of ovine α_{s2} -casein. *Eur. J. Biochem.* 201, 633-641.
- Boisnard, M.; Petrissant, G. (1985). Complete sequence of ovine α_{s2} -casein messenger RNA. *Biochimie* 67, 1043-1051.
- Boudjellab, N.; Rolet-Repecaud, O.; Collin, J.-C. (1994). Detection of residual chymosin in cheese by an enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Dairy Res.* 61, 101-109.
- Boulanger, A.; Grosclaude, F.; Mahé, M.F. (1984). Polymorphisme des caséines α_{s1} et α_{s2} de la chèvre (*Capra hircus*). *Génét. Sel. Evol.* 16, 157-175.
- Bouniol, C. (1993). Sequence of the goat α_{s2} -casein-encoding cDNA. *Gene* 125, 235-236.
- Bouniol, C.; Brignon, G.; Mahé, M.F.; Printz, C. (1994). Biochemical and genetic analysis of variant C of caprine α_{s2} -casein (*Capra hircus*). *Animal Genetics* 25, 173-177.
- Bouton, Y.; Grappin, R. (1995). Comparaison de la qualité de fromages à pâte pressée cuite fabriqués à partir de lait cru ou microfiltré. *Lait* 75, 31-44.
- Brignon, G.; Mahé, M.F.; Grosclaude, F.; Ribadeau-Dumas, B. (1989). Sequence of caprine α_{s1} -casein and characterization of those of its genetic variants which are synthesized at a high level, α_{s1} -Cn A, B and C. *Protein Seq. Data Anal.* 2, 181-188.
- Brignon, G.; Mahé, M.F.; Ribadeau-Dumas, B.; Mercier, J.C.; Grosclaude, F. (1990). Two of the three genetic variants of goat α_{s1} -casein which are synthesized at a reduced level have an internal deletion possibly due to altered RNA splicing. *Eur. J. Biochem.* 193, 237-241.

-
- Brignon, G.; Ribadeau-Dumas, B.; Mercier, J.C.; Pélissier, J.P.; Das, B.C. (1977). Complete amino acid sequence of bovine α_{s2} -casein. *FEBS Lett.* 76, 274-279.
- Brignon, G.; Ribadeau-Dumas, B.; Mercier, J.C. (1976). Premiers elements de structure primaire des caseines α_{s2} bovines. *FEBS Lett.* 71(1), 111-116.
- Calvo, M.M.; Leaver, J.; Law, A.J.R.; Banks, J.M. (1992). Changes in casein levels during the ripening of Cheddar type cheese made from overheated milk. *Milchwissenschaft* 47(8), 516-518.
- Capellas, M.; Mor-Mur, M.; Sendra, E.; Pla, R.; Guamis, B. (1996). Mesophilic and *Escherichia coli* counts in fresh goat's milk cheese treated by high pressure and their development during storage. *J. Food Protection* (en prensa).
- Carballo, J.; Fresno, J.M.; Tuero, J.R.; Prieto, J.G.; Bernardo, A.; Martín-Sarmiento, R. (1994). Characterization and biochemical changes during the ripening of a Spanish hard goat cheese. *Food Chem.* 49, 77-82.
- Carlson, A.; Hill, G.C.; Olson, N.F. (1986). The coagulation of milk with immobilized enzymes: a critical review. *Enzyme Microb. Technol.* 8, 642-650.
- Carlson, A.; Hill, C.G.; Olson, N.F. (1985). Improved assay procedure for determination of milk-clotting enzymes. *J. Dairy Sci.* 68, 290-299.
- Carretero, C.; Mor-Mur, M.; Pla, R.; Guamis, B. (1992). SDS-PAGE study of pH 4.6 soluble proteins during ripening of goat milk cheese. *Milchwissenschaft* 47(5), 292-295.
- Carretero, C.; Trujillo, A.J.; Mor-Mur, M.; Pla, R.; Guamis, B. (1994). Electrophoretic study of casein breakdown during ripening of goat's milk cheese. *J. Agric. Food Chem.* 42(7), 1546-1550.
- Casey, M.; Gruskovnjak, J.; Fürst, M. (1987). Die bedeutung von plasmin bei der reifung von Greyerzerkäse. *Schweiz. Milchw. Forschung* 16(1), 21-24.
- Castberg, H.B.; Morris, H.A. (1976). Degradation of milk proteins by enzymes from lactic acid bacteria used in cheese making. A review. *Milchwissenschaft* 31(2), 85-90.
- Cayot, P.; Courthaudon, J.-L.; Lorient, D. (1992). Purification of α_s -, β - and κ -caseins by batchwise ion-exchange separation. *J. Dairy Res.* 59, 551-556.
- Chapman, H.R.; Mabbitt, L.A.; Sharpe, M.E. (1966). Apparatus and techniques for making cheese under controlled bacteriological conditions. *Proc. 17th Int. Dairy Congr.* (Munich), D:55.
- Cheftel, J.-C. (1991). Applications des hautes pressiones en technologie alimentaire. *Industries Alim. et Agro-Alim.* marzo, 141-153.

Chen, J.H.; Ledford, R.A. (1971). Purification and characterization of milk protease. *J. Dairy Sci.* 54, 763.

Chianese, L.; D'Auria, R.; Ferranti, P.; Garro, G.; Mauriello, R.; Rubino, R.; Addeo, F. (1995a). Occurrence of novel α_{s1} -casein variants in Italian goat breeds. *Seminar on Production and Utilization of ewes and goats milk*. Federación Internacional de Lechería, Limin-Hersonissós, Creta, Grecia. Comunicación Oral n° 14.

Chianese, L.; Garro, G.; Ferranti, P.; Malorni, A.; Addeo, F.; Rabasco, A.; Molina, P. (1995b). Discrete phosphorylation generates the electrophoretic heterogeneity of ovine β -casein. *J. Dairy Res.* 62, 89-100.

Chianese, L.; Garro, G.; Nicolai, M.A.; Mauriello, R.; Ferranti, P.; Pizzano, R.; Cappuccio, U.; Laezza, P.; Addeo, F.; Ramunno, L.; Rando, A.; Rubino, R. (1993). The nature of β -casein heterogeneity in caprine milk. *Lait* 73, 533-547.

Chianese, L.; Mauriello, R.; Laezza, P.; Moio, L.; Addeo, F.; Campus, R. (1995c). Application of immunoblotting to the specific control of ovine casein fractionation. *Milchwissenschaft* 50(3), 143-146.

Chianese, L.; Mauriello, R.; Intorcia, N.; Moio, L.; Addeo, F. (1992). New α_{s2} -casein variant from caprine milk. *J. Dairy Res.* 59, 299-305.

Chilliard, Y.; Selselet-Attou, G.; Bas, P.; Morand-Fehr, P. (1984). Characteristics of lipolytic system in goat milk. *J. Dairy Sci.* 67, 2216-2223.

Christensen, T.M.I.E.; Bech, A.-M.; Werner, H. (1991). Methods for crude fractionation (extraction and precipitation) of nitrogen components in cheese. *Bulletin of the IDF* 261, 4-9.

Christensen, T.M.I.E.; Munksgaard, L. (1989). Quantitative fractionation of casein by precipitation or ion exchange chromatography. *Milchwissenschaft* 44(8), 480-484.

Ciafarone N.; Addeo, F. (1984). Composizione della caseina e proprietà del latte di capra. *Il Vergaro* 11, 17-24.

Coll, A.; Folch, J.M.; Sánchez, A. (1993). Nucleotide sequence of the goat κ -casein cDNA. *J. Anim. Sci.* 71, 2833.

Collin, J.C.; Grappin, R.; Legraet, Y. (1977). Etude de la méthode de mesure, selon Berridge, du temps de coagulation du lait additionné d'une solution enzymatique. *Revue Laitière Française* 355, 1-5.

Cousin, M.A. (1982). Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: a review. *J. Food Prot.* 45, 172-207.

-
- Creamer, L.K. (1975). β -Casein degradation in Gouda and Cheddar cheese. *J. Dairy Sci.* 58, 287-292.
- Creamer, L.K. (1991). Electrophoresis of cheese. *Bulletin of the IDF.* 261, 14-28.
- Creamer, L.K. (1976). A further study of the action of rennin on β -casein. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.* 11, 30-39.
- Creamer, L.K.; Lawrence, R.C.; Gilles, J. (1985). Effect of acidification of cheese milk on the resultant Cheddar cheese. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.* 20, 185-203.
- Creamer, L.K.; Mills, O.E.; Richards, E.L. (1971). The action of rennets on the caseins. I. Rennin action on β -casein-B in solution. *J. Dairy Res.* 38, 269-280.
- Creamer, L.K.; Olson, N.F. (1982). Rheological evaluation of maturing Cheddar cheese. *J. Food Sci.* 47, 631-636, 646.
- Creamer, L.K.; Richardson, B.C. (1974). Identification of the primary degradation product of α_{s1} -casein in Cheddar cheese. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.* 9, 9-13.
- Creamer, L.K.; Richardson, T.; Parry, D.A.D. (1981). Secondary structure of bovine α_{s1} - and β -casein in solution. *Arch. of Bioch. and Bioph.* 211(2), 689-696.
- Creamer, L.K.; Zoerb, H.F.; Olson, N.F.; Richardson, T. (1982). Surface hydrophobicity of α_{s1} -I, α_{s1} -casein A and B and its implications in cheese structure. *J. Dairy Sci.* 65, 902-906.
- Dall'Olio, S.; Davoli, R.; Russo, V. (1989). Una nuova variante di β -caseina caprina. *Sci. Tec. Latt.-Casearia* 40, 24-28.
- De Jong, L. (1976). Protein breakdown in soft cheese and its relation to consistency. I. Proteolysis and consistency of "Noordhollandse Meshanger" cheese. *Neth. Milk Dairy J.* 30, 242-253.
- De Jong, L.; Groot-Mostert, A.E.A. (1977). The proteolytic action of rennet on different casein substrate under various conditions. *Neth. Milk Dairy J.* 31, 269-313.
- De Koning, P.J.; Kaper, J. (1981). The effects of soya bean trypsin inhibitor and the Maillard reaction on the gelation of UHTST-sterilized concentrated casein micelle dispersions. *Neth. Milk Dairy J.* 35, 323-327.
- De Rham, O.; Andrews, A.T. (1982a). Qualitative and quantitative determination of proteolysis in mastitic milks. *J. Dairy Res.* 49, 587-596.

- De Rham, O.; Andrews, A.T. (1982b). The roles of native milk proteinase and its zymogen during proteolysis in normal bovine milk. *J. Dairy Res.* 49, 577-585.
- DeFeo, A.A.; Dimick, P.S.; Kilara, A. (1982). Purification and partial characterization of caprine milk lipoprotein lipase. *J. Dairy Sci.* 65, 2308-2316.
- Delacroix-Buchet, A.; Barillet, F.; Lagriffoul, G. (1994). Caractérisation de l'aptitude fromagère des laits de brebis Lacaune à l'aide d'un Formagraph. *Lait* 74, 173-186.
- Delacroix-Buchet, A.; Degas, C.; Lamberet, G.; Vassal, L. (1996). Influence des variants AA et FF de la caséine α_{s1} caprine sur le rendement fromager et les caractéristiques sensorielles des fromages. *Lait* (en prensa).
- Delacroix-Buchet, A.; Fournier, S. (1992). Protéolyse et texture des fromage à pâte cuite pressée. II. Influence de la chymosine et des conditions de fabrication. *Lait* 72, 53-72.
- Delacroix-Buchet, A.; Trossat, P. (1991). Protéolyse et texture des fromages à pâte cuite pressée. I. Influence de l'activité de l'eau. *Lait* 71, 299-311.
- Desmazeurd, M.J.; Gripon, J.C.; Le Bars, D.; Bergere, J.L. (1976). Etude du rôle des micro-organismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. III. Influence des micro-organismes. *Lait* 56, 379-396.
- Desmazeud, M.J.; Gripon, J.-C. (1977). General mechanism of protein breakdown during cheese ripening. *Milchwissenschaft* 32, 731-734.
- DiLuccia, A.; Mauriello, R.; Chianese, L.; Moio, L.; Addeo, F. (1990). κ -Casein polymorphism in caprine milk. *Sci. Tec. Latt.-Casearia* 41, 305-314.
- Do-Ngoc, M.; Lenoir, J.; Choisy, C. (1971). Les acides aminés libres des fromages affinés de Camembert, Saint-Paulin et Gruyère de Comté. *Rev. Lait. Fr.* 288, 447-462.
- Driessen, F.M. (1985). Inactivation of lipases and proteinases (indigenous and bacterial). *Bulletin of the IDF* 238, 71-93.
- Droke, E.A.; Paape, M.J.; Di Carlo, A.L. (1993). Prevalence of high somatic cell counts in bulk tank goat milk. *J. Dairy Sci.* 76, 1035-1039.
- Eigel, W.N. (1977a). Effect of bovine plasmin on α_{s1} -B and κ -A caseins. *J. Dairy Sci.* 60, 1399-1403.
- Eigel, W.N. (1977b). Formation of γ_1 -A², γ_2 -A² and γ_3 -A² caseins by in vitro proteolysis of β -casein A² with bovine plasmin. *Int. J. Biochem.* 8, 187-192.
- Eigel, W.N. (1981). Identification of proteose-peptone component 5 as a plasmin-derived fragment of bovine β -casein. *Int. J. Biochem.* 13, 1081-1086.

Eigel, W.N.; Butler, J.E.; Ernstrom, C.A.; Farrell, H.M.; Harwalkar, V.R.; Jenness, R.; Whitney, R.McL. (1984). Nomenclature of proteins of cow's milk: fifth revision. *J. Dairy Sci.* 67, 1599-1631.

Eigel, W.N.; Hofmann, C.J.; Chibber, B.A.K.; Tomich, J.M.; Keenan, T.W.; Mertz, E.T. (1979). Plasmin-mediated proteolysis of casein in bovine milk. *Biochemistry* 76(5), 2244-2248.

Eigel, W.N.; Keenan, T.W. (1979). Identification of proteose-peptone component 8-slow as plasmin-derived fragments of bovine β -casein. *Int. J. Biochem.* 10, 529-535.

Espie, W.E.; Mullan, W.M. (1990). Compositional aspects of goat milk in Northern Ireland. *Milchwissenschaft* 45, 361-362.

Fairbain, D.J.; Law, B.A. (1986). Proteinases of psychrotrophic bacteria: their production, properties, effects and control. *J. Dairy Res.* 53, 139-177.

Famelart, M.H.; Hardy, C.; Brulé, G. (1989). Etude des facteurs d'extraction de la caséine β . *Lait* 69, 47-57.

Famelart, M.H.; Surel, O. (1994). Caseinate at low temperatures: calcium use in β -casein extraction by microfiltration. *J. Food Sci.* 59(3), 548-553, 587.

Farkas, D.F. (1986). Novel processes-ultra high pressure processing. Food Protection Technology. Lewis Publishers ed. Felix, C.W., Ann Arbor. Michigan, 393.

Farkye, N.; Fox, P.F. (1992). Contribution of plasmin to Cheddar cheese ripening: effect of added plasmin. *J. Dairy Res.* 59, 209-216.

Farkye, N.Y.; Fox, P.F. (1990). Observations on plasmin activity in cheese. *J. Dairy Res.* 57, 413-418.

Farkye, N.Y.; Fox, P.F. (1991). Preliminary study on the contribution of plasmin to proteolysis in cheddar cheese: cheese containing plasmin inhibitor 6-aminohexanoic acid. *J. Agric. Food Chem.* 39, 786-788.

Farr, D. (1990). High pressure technology in the food industry. *Trends in Food Sci. and Tech.* julio, 14-16.

Fédération International de Laiterie. (1982). Fromages et fromages fondus. Détermination de l'extrait sec total (Méthode de référence). Norme FIL International 4A. Fed. Int. Lait., Brussels.

Fédération Internationale de Laiterie. (1987). Fromages et fromages fondus. Détermination de la teneur en phosphore total (Méthode photométrique). Norme FIL Internationale 33C. Fed. Int. Lait., Brussels.

Fédération Internationale de Laiterie. (1991). Lait et produits laitiers. Détermination de la matière grasse. Norme FIL Internationale 152. Fed. Int. Lait., Brussels.

Fédération Internationale de Laiterie. (1987). Lait, crème et lait concentré non-sucré. Détermination de la matière sèche (Méthode de référence). Norme FIL Internationale 21B. Fed. Int. Lait., Brussels.

Fédération Internationale de Laiterie. (1981). Lait. Détermination de la teneur en matière grasse (Butyromètres Gerber). Norme FIL Internationale 105. Fed. Int. Lait., Brussels.

Fédération Internationale de Laiterie. (1993). Lait. Détermination de la teneur en azote. Norme FIL Internationale 20B. Fed. Int. Lait., Brussels.

Fédération Internationale de Laiterie. (1987). Presure et pepsine bovine (Extrait enzymatique d'estomacs de bovins adultes). Détermination des teneurs en chymosine et en pepsine bovine (Méthode chromatographique). Norme FIL Internationale 110A. Féd. Int. Lait., Brussels.

Ferranti, P.; Malorni, A.; Nitti, G.; Laezza, P.; Pizzano, R.; Chianese, L.; Addeo, F. (1995). Primary structure of ovine α_{s1} -caseins: localization of phosphorylation sites and characterization of genetic variants A, C and D. *J. Dairy Res.* 62, 281-196.

Folch, J.M.; Coll, A.; Sanchez, A. (1994). Complete sequence of the caprine β -lactoglobulin gene. *J. Dairy Sci.* 77, 3493-3497.

Fontecha, J.; Peláez, C.; Juárez, M.; Requena, T.; Gómez, C.; Ramos, M. (1990). Biochemical and microbiological characteristics of artisanal hard goat's cheese. *J. Dairy Sci.* 73, 1150-1157.

Fox, P.F. (1969). Milk clotting and proteolytic activities of rennet, and of bovine pepsin and porcine pepsin. *J. Dairy Res.* 36, 427-432.

Fox, P.F. (1970). Influence of aggregation on the susceptibility of Casein to proteolysis. *J. Dairy Res.* 37, 173-180.

Fox, P.F. (1981). Proteinases in dairy technology. *Neth. Milk Dairy J.* 35, 233-253.

Fox, P.F. (1988). Rennets and their action in cheese manufacture and ripening. *Biotech. and Appl. Biochem.* 10, 522-535.

Fox, P.F. (1989). Primary proteolysis of cheese proteins during ripening. A review. *J. Dairy Sci.* 68, 531-540.

Fox, P.F.; Law, J. (1991). Enzymology of cheese ripening. *Food Biotech.* 5(3), 239-262.

Fox, P.F.; Law, J.; McSweeney, P.L.H.; Wallace, J. (1993). Biochemistry of cheese ripening. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Fox, P.F. ed.; Chapman and Hall Publishers; London; Vol I; 389-438.

Fox, P.F.; Lucey, J.A.; Cogan, T.M. (1990). Glycolysis and related reactions during cheese manufacture and ripening. *Food Sci. and Nutrition* 29(4), 237-253.

Fox, P.F.; Stepaniak, L. (1993). Enzymes in cheese technology. *Int. Dairy J.* 3, 509-530.

Fresno, J.M.; Capote, J. Darmanin, N. Martin, P.; Ohinea, E. Corbella, M. (1992). Caracterización de los tipos étnicos de la Agrupación caprina canaria. *Ind. Láct. Esp.* 158, 33-37.

Fresno, J.M.; Rodríguez, J.; Carballo, J.; Bernardo, A.; González, J.; Martín-Sarmiento, R. (1988). Evolución de los componentes nitrogenados durante la maduración del queso de Valdeteja. *An. Fac. Vet. León* 34, 101-109.

García-Olmedo, R.; Carballido, A.; Arnaez-Ortiz, M. (1979). Contribución al estudio de la grasa de leche de cabra. II. Ácidos grasos mayores y sus relaciones. *Anal. Bromatol.* 31, 227-270.

Garnot, P.; Molle, D. (1987). Heat-stability of milk-clotting enzymes in conditions encountered in Swiss cheese making. *J. Food Sci.* 52(1), 75-77, 87.

Georgelet, P. (1993). Producción, consumo y comercialización de los quesos de cabra en la CEE. *ILE* septiembre, 43-47.

Gilles, J. (1976). Control of salt in moisture levels in Cheddar cheese. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.* 11, 219-221.

González, J.; Más, M.; Roa, I. (1993). Quesos de Los Ibores. *Ind. Láct. Esp.* septiembre, 26-29.

Gordon, W.G.; Groves, M.L.; Greenberg, R.; Jones, S.B.; Kalan, E.B.; Peterson, R.F.; Townsend, R.E. (1972). Probable identification of γ -, TS-, R- and S- casein as fragments of β -casein. *J. Dairy Sci.* 55, 261-269.

Gouda, A. (1987). Degradation of casein fractions by milk clotting enzymes and the effect of sodium chloride. *Egyptian J. Dairy Sci.* 15, 15-23.

Grandison, A.S.; Ford, G.D. (1986). Effects of variations in somatic cell count on the rennet coagulation properties of milk and on the yield, composition and quality of Cheddar cheese. *J. Dairy Res.* 53, 645-655.

Grandpierre, C.; Ghisolfi, J.; Thouvenot, J.P. (1988). Etude biochimique du lait de chèvre. *Cah. Nutr. Diet.* 23, 367-374.

Grappin, R.; Jeunet, R.; Pillet, R.; Le Toquin, A. (1981). Etude des laits de chèvre. 1. Teneur du lait de chèvre en matière grasse, matière azotée et fractions azotées. *Lait* 61, 117-133.

Grappin, R.; Rank, T.C.; Olson, N.F. (1985). Primary proteolysis of cheese proteins during ripening: a review. *J. Dairy Sci.* 68, 531-540.

Green, M.L.; Foster, P.M.D. (1974). Comparison of the rates of proteolysis during ripening of Cheddar cheese made with calf rennet and swine pepsin as coagulants. *J. Dairy Res.* 41, 269-282.

Green, M.R.; Pastewka, J.V. (1976). Molecular weights of three mouse milk caseins by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis and κ -like characteristics of a fourth casein. *J. Dairy Sci.* 59, 1738-1745.

Grieve, P.A.; Kitchen, B.J. (1985). Proteolysis in milk: the significance of proteinases originating from milk leucocytes and a comparison of the action of leucocyte, bacterial and natural milk proteinases on casein. *J. Dairy Res.* 52, 101-112.

Gripon, J.C. (1993). Mould-ripening cheeses. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Fox, P.F. ed.; Chapman and Hall Publishers; London; 111-136.

Gripon, J.C.; Desmazeaud, M.J.; Le Bars, D.; Bergere, J.L. (1975). Etude du rôle des micro-organismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. II. Influence de la presure commerciale. *Lait* 55, 502-516.

Grosclaude, F.; Mahé, M.F.; Brignon, G.; Di Stasio, L.; Jeunet, R. (1987). A mendelian polymorphism underlying quantitative variations of goat α_{s1} -casein. *Génét. Sel. Evol.* 19, 399-411.

Groves, M.L.; Gordon, W.G.; Kalan, K.E.B.; Jones, S.B. (1972). Composition of bovine γ -caseins A1 and A3, and further evidence for a relationship in biosynthesis of γ - and β -caseins. *J. Dairy Sci.* 55, 1041-1046.

Grufferty, M.B.; Fox, P.F. (1988). Factors affecting the release of plasmin activity from casein micelles. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.* 23, 153-163.

Grufferty, M.B.; Fox, P.F. (1988). Milk alkaline proteinase. *J. Dairy Res.* 55, 609-630.

Guinee, T.P.; Fox, P.F. (1993). Salt in cheese: Physical, Chemical and Biological aspects. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Fox, P.F. ed.; Chapman and Hall Publishers; London; Vol I; 257-302.

Harper, J.W.; Hemmi, K.; Powers, J.C. (1985). Reaction of serine proteases with substituted isocoumarins: discovery of 3,4-dichloroisocoumarin, a new general mechanism based serine protease inhibitor. *Biochemistry* 24, 1831-1841.

Hayashi, R. (1989). Application of high pressure to food processing and preservation: philosophy and development. Engineering and Food. Elsevier Applied Science ed.; Spiers, W.E.L. and Schubert, M.; London; Vol II; 815-826.

Hemme, D.; Bouillanne, C.; Métro, F.; Desmazeaud, M.J. (1982). Microbial catabolism of amino acids during cheese ripening. *Sci. Aliments* 2, 113-123.

Hicks, C.L.; Onuorah, C.; O'Leary, J.; Langlois, B.E. (1986). Effect of milk quality and low temperature storage on cheese yield. A summation. *J. Dairy Sci.* 69, 649-657.

Hill, R.D.; Lahav, E.; Givol, D. (1974). A rennin-sensitive bond in α_{s1} -B casein. *J. Dairy Res.* 41, 147-153.

Hipp, N.J.; Groves, M.L.; Custer, J.H.; McMeekin, T.L. (1955). Separation of α -, β - and γ -casein. *J. Dairy Sci.* 35, 272-281.

Holt, C.; Jenness, R. (1984). Interrelationships of constituents and partition of salts in milk samples from eight species. *Comp. Biochem. Physiol.* 77, 275-282.

Hoover, D.G. (1993). Pressure effects on biological systems. *Food Tech.* 47(6), 150-155.

Hoover, D.G.; Metrick, C.; Papineau, A.M.; Farkas, D.F.; Knorr, D. (1989). Biological effects of high hydrostatic pressure on food microorganisms. *Food Tech.* 43(3), 99-107.

Humbert, G.; Alais, Ch. (1979). Review of the progress of dairy science: the milk proteinase system. *J. Dairy Res.* 46, 559-571.

Humbert, G.; Berbar, A.; Godbillon, G.; Le Deaut, J.Y.; Linden, G. (1990). Purification of bovine milk alkaline proteinase and comparison with purified bovine blood plasminogen or plasmin. *Lait* 70, 191-203.

ICMSF. Microorganismos de los alimentos. Técnicas de análisis microbiológicos. Acribia ed.; Zaragoza.

Igarashi, Y. (1995). An improved procedure for the preliminary fractionation of milk proteins. *Int. Dairy J.* 5, 305-310.

Igoshi, K.; Arima, S. (1993). Acid and semi-alkaline proteinase in Swiss-type cheese. *Milchwissenschaft* 48(11), 623-626.

Igoshi, K.; Kaminogawa, S.; Yamauchi, K. (1986). Profiles of proteinases in Gouda-type cheese. *J. Dairy Sci.* 69, 2018-2026.

Le Jaoen, J.C.; Toussaint, G. (1993). Le lait de chèvre en Europe. *Lait* 73, 407-415.

- Jarret, W.D.; Aston, J.W.; Dulley, J.R. (1982). A simple method for estimating free amino acids in Cheddar cheese. *Australian J. Dairy Tech.* 37, 55-58.
- Jaubert, A. (1992). Influence de divers paramètres physico-chimiques (pH, température, force ionique) sur le composition et les caractéristiques structurales de la micelle de caséine caprine. Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes; Rennes.
- Jaubert, A.; Martin, P. (1992). Reverse-phase HPLC analysis of goat caseins. Identification of α_{s1} and α_{s2} genetic variants. *Lait* 72, 235-247.
- Jenness, R. (1979). Comparative aspects of milk proteins. *J. Dairy Res.* 46, 197-210.
- Jenness, R. (1980). Composition and characteristics of goat milk: review 1968-1979. *J. Dairy Sci.* 63, 1605-1630.
- Jenness, R. (1982). Inter-species comparison of milk proteins. Developments in Dairy Chemistry. 1. Proteins. Fox, P.F. ed.; Applied Science Publishers; London; 87-114.
- Juárez, M.; Ramos, M. (1986). Physico-chemical characteristics of goat's milk as distinct from those of cow's milk. *Bull. FIL* 202, 54-67.
- Juárez, M.; Ramos, M.; Martín-Hernández, C. (1991). Quesos Españoles de Leche de Cabra. FESLAC. Madrid.
- Kamaly, K.M.; Marth, E.H. (1989). Enzyme activities of lactic Streptococci and their role in maturation of cheese: a review. *J. Dairy Sci.* 72, 1945-1966.
- Kamaly, K.M.; Takayama, K.; Marth, E.H. (1990). Acylglycerol acylhydrolase (lipase) activities of *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, and their mutants. *J. Dairy Sci.* 73, 280-290.
- Kaminogawa, S.; Mizobuchi, H.; Yamauchi, K. (1972). Comparison of bovine milk protease with plasmin. *Agri. Biol. Chem.* 36(12), 2163-2167.
- Kaminogawa, S.; Yamuchi, K. (1972). Acid protease of bovine milk. *Agri. Biol. Chem.* 36(13), 2351-2356.
- Kaminogawa, S.; Yamauchi, K.; Miyazawa, S.; Koga, Y. (1980). Degradation of casein components by acid protease of bovine milk. *J. Dairy Sci.* 63, 701-704.
- Khalid, N.M.; Marth, E.H. (1990). Lactobacilli. Their enzymes and role in ripening and spoilage of cheese: a review. *J. Dairy Sci.* 73, 2669-2684.

-
- Khatoon, J.A.; Joshi, V.K. (1987). Physico-chemical characteristics of the proteose-peptone fraction from goat milk. I. Gel electrophoretic and filtration pattern. *Milchwissenschaft* 42(2), 236-237.
- Kim Ha, J.; Lindsay, R.C. (1991). Contributions of cow, sheep, and goat milks to characterizing branched-chain fatty acid and phenolic flavors in varietal cheeses. *J. Dairy Sci.* 74, 3267-3274.
- Kitchen, B.J. (1981). Review of the progress of dairy science: bovine mastitis; milk compositional changes and related diagnostic tests. *J. Dairy Res.* 48, 167-188.
- Kleter, G. (1976). The ripening of Gouda cheese made under strict aseptic conditions. 1. Cheese with no other bacterial enzymes than those from a starter *Streptococcus*. *Neth. Milk Dairy J.* 30, 254-270.
- Kleter, G.; de Vries, T. (1974). Aseptic milking of cows. *Neth. Milk Dairy J.* 28, 212-219.
- Konings, W.N.; Smid, E.J. Laan, H. Driessen, A.J.M. (1991). From casein to cheese: the role of *Lactococcus lactis*. *Food Biotech.* 5(3), 263-277.
- Kosikowski, F.V.; Brown, D.P. (1973). Influence of carbon dioxide and nitrogen on microbial population and shelf life of Cottage cheese and sour cream. *J. Dairy Sci.* 56, 12-18.
- Kuchroo, C.N.; Fox, P.F. (1982). Soluble nitrogen in Cheddar cheese: comparison of extraction procedures. *Milchwissenschaft* 37, 331-335.
- Laan, H.; Smid, E.J.; Tan, P.S.T.; Konings, W.N. (1989). Enzymes involved in the degradation and utilization of casein in *Lactococcus lactis*. *Neth. Milk Dairy J.* 43, 327-345.
- Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227, 680-685.
- Law, A.J.R.; Tziboula, A. (1992). Quantitative fractionation of caprine casein by cation-exchange FPLC. *Milchwissenschaft* 47, 558-562.
- Law, A.J.R.; Tziboula, A. (1993). Fractionation of caprine κ -casein and examination of polymorphism by FPLC. *Milchwissenschaft* 48(2), 68-71.
- Law, B.A. (1981). Accelerated ripening of Cheddar cheese with microbial proteinases. *Neth. Milk Dairy J.* 34, 313-317.
- Law, B.A. (1984). Flavour development in cheese. Advance in the microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk. Elsevier Applied Science Publishers ed.; Davies, L. and Law, B.A.; London; 187-208.

Lawrence, R.C.; Gilles, J.; Creamer, L.K. (1983). The relationship between cheese texture and flavour. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.* 18, 175-190.

Leaver, J.; Law, A.J.R. (1992). Preparative-scale purification of bovine caseins on a cation-exchange resin. *J. Dairy Res.* 59, 557-561.

Ledford, R.A.; O'Sullivan, A.C.; Nath, K.R. (1966). Residual casein fractions in ripened cheese determined by polyacrylamide-gel electrophoresis. *J. Dairy Sci.* 49, 1098-1101.

Leroux, C.; Mazure, N.; Martin, P. (1992). Mutations away from splice site recognition sequences might cis-modulate alternative splicing of goat α_{s1} -casein transcripts. Structural organization of the relevant gene. *J. Biol. Chem.* 267, 6147-6157.

Luquet, F.M. (1985). Les laits. de la mamelle à la laiterie. Laits et Produits laitiers. Vache, Brebis, Chèvre. Luquet, F.M. ed.; Apria; Paris.

Mabbit, L.A.; Chapman, H.R.; Berridge, N.J. (1955). Experiments in cheesemaking without starter. *J. Dairy Res.* 22, 365-373.

Mabbit, L.A.; Chapman, H.R.; Sharpe, M.E. (1959). Making Cheddar cheese on a small scale under controlled bacteriological conditions. *J. Dairy Res.* 26, 105-112.

Madkor, S.A. (1992). Susceptibility of α_{s1} - and β -casein of buffalo milk to proteolysis by plasmin. *Egyptian J. Dairy Sci.* 20, 227-236.

Madkor, S.A.; Fox, P.F. (1991). Plasmin activity in buffalo milk. *Food Chem.* 39, 139-156.

Maes, E.; Prieels, J.P.; Dolmans, M. Leonis, J. (1976). Identification of two genetic variants of goat α -lactalbumin. *Arch. Int. Physiol. Biochim.* 84, 641-642.

Mahé, M.F.; Grosclaude, F. (1989). α_{s1} -Cn D, another allele associated with a decreased synthesis rate at the caprine α_{s1} -casein locus. *Génét. Sel. Evol.* 21, 127-129.

Mahé, M.F.; Grosclaude, F. (1993). Polymorphism of β -casein in the Creole goat of Guadeloupe: evidence for a null allele. *Génét. Sel. Evol.* 25, 403-408.

Mahé, M.F.; Manfredi, E.; Ricordeau, G.; Piacère, A; Grosclaude, F. (1993). Effets du polymorphisme de la caséine α_{s1} caprine sur les performances laitières: analyse intradescendance de boucs de race Alpine. *Génét. Sel. Evol.* 26, 151-157.

Mahieu, H.; Le Jaouen, J.C.; Luquet, F.M.; Mouillet, L. (1977). Etude comparative de la composition et de la contamination des laits des espèces laitières bovines, ovines et caprines. 1ère partie. Laits de producteurs. *Lait* 57, 287-300.

Majeed, G.H. Survival of porcine pepsine during Cheddar cheese making and its effect on casein during cheese ripening. Tesis. Universidad Estatal de Utah, Logan, Utah 84321, USA.

-
- Marcos, A.; Esteban, M.A.; León, F.; Fernández-Salguero, J. (1979). Electrophoretic patterns of european cheeses: comparison and quantitation. *J. Dairy Sci.* 62, 892-900.
- Mariani, P.; Corriani, F.; Fossa, E.; Pecorari, M. (1987). Composizione chimica, ripartizione delle frazioni azotate e caratteristiche di coagulazione del latte di capra durante un ciclo di produzione. *Sci. Tec. Latt.-Casearia* 38, 7- 30.
- Marshall, R.J.; Hatfield, D.S.; Green, M.L. (1982). Assessment of two instruments for continuous measurement of the curd-firming of renneted milk. *J. Dairy Res.* 49, 127-132.
- Martin, P. (1993). Polymorphisme génétique des lactoprotéines caprines. *Lait* 73, 511-532.
- Martín-Hernández, M.C.; Juárez, M.; Ramos, M. (1992). Biochemical characteristics of three types of goat cheese. *J. Dairy Sci.* 75, 1747-1752.
- Martín-Hernández, M.C.; Juárez, M.; Ramos, M. (1992). Biochemical characteristics of three types of goat cheese. *J. Dairy Sci.* 75, 1747-1752.
- Martín-Hernández, M.C.; Juárez, M.; Ramos, M.; Martín-Alvarez, P.J. (1988). Composición de la leche de cabra de razas Murciana y Granadina. *Anal. Bromatol.* 40, 237-248.
- Martley, F.G.; Crow, V.L. (1993). Interactions between non-starter microorganisms during cheese manufacture and ripening. *Int. Dairy J.* 3, 461-483.
- Matheson, A.R. (1981). The immunochemical determination of chymosin activity in cheese. *N.Z. J. Dairy Sci. and Technol.* 15, 33-41.
- Mati, A.; Girardet, J.M.; Xenakis, D.; Linden, G. (1991). Isolement et caractérisation de la fraction hydrophobe des protéose-peptones des laits bovin, ovin et caprin. *Lait* 71, 259-273.
- McGann, T.C.A.; Mathiassen, A.; O'Connell, J.A. (1972). Applications of the Pro-Milk Mk II. Part III. Rapid estimation of casein in milk and protein in whey. *Laboratory Practice* 21, 628-631, 650.
- McGillivray, R.T.; Brew, K.; Barnes, K. (1979). The amino acid sequence of goat α -lactalbumin. *Arch. Biochem. Biophys.* 197, 404-414.
- McSweeney, P.L.H.; Fox, P.F.; Lucey, J.A.; Jordan, K.N.; Cogan T.M. (1993a). Contribution of the indigenous microflora to the maturation of Cheddar cheese. *Int. Dairy J.* 3, 613- 634.
- McSweeney, P.L.H.; Fox, P.F.; Law, J. (1993b). Contribution of cell wall-associated proteinases of *Lactococcus* to the primary proteolysis of β -casein in Cheddar cheese. *Milchwissenschaft* 48(3), 319-321.

- McSweeney, P.L.H.; Olson, N.F.; Fox, P.F.; Healy, A.; Hojrup, P. (1993c). Proteolytic specificity of plasmin on bovine α_{s1} -casein. *Food Biotech.* 7(2), 143-158.
- McSweeney, P.L.H.; Olson, N.F.; Fox, P.F.; Healy, A.; Hojrup, P. (1993d). Proteolytic specificity of chymosin on bovine α_{s1} -casein. *J. Dairy Res.* 60, 401-412.
- McSweeney, P.H.L.; Olson, N., F.; Fox, P.F.; Healy, A. (1994a). Proteolysis of bovine α_{s2} -casein by chymosin. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 199, 429-432.
- McSweeney, P.L.H.; Pochet, S.; Fox, P.F.; Healy, A. (1994b). Partial identification of peptides from the water-insoluble fraction of Cheddar cheese. *J. Dairy Res.* 61, 587-590.
- McSweeney, P.L.H.; Walsh, E.M.; Fox, P.F.; Cogan, T.M.; Drinan, F.D.; Castelo-González, M. (1994c). A procedure for the manufacture of Cheddar cheese under controlled bacteriological conditions and the effect of adjunct lactobacilli on cheese quality. *Irish J. Agri. Food Res.* 33, 183-192.
- Medina, M.; Gaya, P.; Núñez, M. (1992). Gredos goats' milk cheese: microbiological and chemical changes throughout ripening. *J. Dairy Res.* 59, 563-566.
- Mehaia, M.A. (1995). The fat globule size distribution in camel, goat, ewe and cow milk. *Milchwissenschaft* 50(5), 260-263.
- Le Mens, P. (1985). Propriétés physico-chimiques nutritionnelles et chimiques. Laites et Produits Laitiers. Vache, Brebis, Chèvre. Luquet, F.M. ed.; Apria; Paris.
- Mercier, J.C. (1981). Phosphorylation of casein. Present evidence for an amino acid triplet code posttranslationally recognized by specific kinases. *Biochimie* 63, 1-17.
- Mercier, J.C.; Addeo, F.; Pélissier, J.P. (1976a). Structure primaire du caséinomacropéptide de la caséine κ caprine. *Biochimie* 58, 1303-1310.
- Mercier, J.C.; Brignon, G.; Ribadeau-Dumas, B. (1973). Structure primaire de la caséine κ B bovine. Séquence complète. *Eur. J. Biochem.* 35, 222-235.
- Mercier, J.C.; Chobert, J.M.; Addeo, F. (1976b). Comparative study of the amino acid sequences of the caseinomacropéptides from seven species. *FEBS Lett.* 72, 208-214.
- Mercier, J.C.; Grosclaude, F.; Ribadeau-Dumas, B. (1971). Structure primaire de la caséine α_{s1} bovine. Séquence complète. *Eur. J. Biochem.* 23, 41-51.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. (1990). Catálogo de quesos de España.
- Miranda, G.; Gripon, J.-C. (1986). Origine, nature et incidences technologiques de la protéolyse dans le lait. *Lait* 66, 1-18.

Moio, L.; Sasso, M.L.; Chianese, L.; Addeo, F. (1990). Rapid detection of bovine milk in ovine, caprine, and water buffalo milk or cheese by gel isoelectric focusing on Phastsystem. *Ital. J. Food Sci.* 2(3), 185-190.

Mor-Mur, M.; Carretero, C.; Pla, R.; Guamis, B. (1992). A survey on the microbiological quality of a semi-soft on-farm manufactured goat cheese. *Food Microbiology* 9, 345-352.

Mor-Mur, M.; Carretero, C.; Pla, R.; Guamis, B. (1994). Microbiological changes during ripening of a semi-soft goat's raw milk cheese. *Food Microbiology* 11, 177-185.

Mora-Gutiérrez, A.; Kumosinski, T.F.; Farrell, H.M.J. (1991). Quantification of α_{s1} -casein in goat milk from French-Alpine and Anglo-Nubian breeds using reversed-phase high performance liquid chromatography. *J. Dairy Sci.* 74, 3303-3307.

Mulvihill, D.M.; Collier, T.M.; Fox, P.F. (1979). Manufacture of coagulant-free cheese with piglet gastric proteinase. *J. Dairy Sci.* 62, 1567-1569.

Mulvihill, D.M.; Fox, P.F. (1977). Proteolysis of α_{s1} -casein by chymosin: influence of pH and urea. *J. Dairy Res.* 44, 533-540.

Mulvihill, D.M.; Fox, P.F. (1978). Proteolysis of bovine β -casein by chymosin: influence of pH, urea and sodium chloride. *Ir. J. Food Sci. Tech.* 2, 135-139.

Mulvihill, D.M.; Fox, P.F. (1979a). Proteolytic specificity of chymosin on bovine α_{s1} -casein. *J. Dairy Res.* 46, 641-651.

Mulvihill, D.M.; Fox, P.F. (1979b). Proteolysis specificity of chymosins and pepsins on β -caseins. *Milchwissenschaft* 34(11), 680-683.

Mulvihill, D.M.; Fox, P.F. (1980). Proteolysis of α_{s1} -casein by chymosin in dilute NaCl solutions and in Cheddar cheese. *Ir. J. Food. Sci. Technol.* 4, 13-23.

Munro, G.L.; Grieve, P.A.; Kitchen, B.J. (1984). Effects of mastitis on milk yield, milk composition, processing properties and yield and quality of milk products. *Aust. J. Dairy Technol.* march, 7-16.

Murphy, J.M.; Fox, P.F. (1991). Fractionation of sodium caseinate by ultrafiltration. *Food Chem.* 39, 27-38.

Ng-Kwai-Hang, K.F.; Pélissier, J.P. (1989). Rapid separation of bovine caseins by mass ion exchange chromatography. *J. Dairy Res.* 56, 391-397.

Noomen, A. (1977a). Noordhollandse Meshanger cheese: a model for research on cheese ripening. 2. The ripening of the cheese. *Neth. Milk Dairy J.* 31, 75-102.

- Noomen, A. (1977b). Noordhollandse Meshanger cheese: a model for research on cheese ripening. 3. Manufacture of the cheese on a small scale. *Neth. Milk Dairy J.* 31, 103-108.
- O'Keeffe, R.B.; Fox, P.F.; Daly, C. (1975). Proteolysis in Cheddar cheese influence of the rate of acid production during manufacture. *J. Dairy Res.* 42, 111-122.
- O'Keeffe, R.B.; Fox, P.F.; Daly, C. (1976a). Contribution of rennet and starter proteases to proteolysis in Cheddar cheese. *J. Dairy Res.* 43, 97-107.
- O'Keeffe, R.B.; Fox, P.F.; Daly, C. (1976b). Manufacture of Cheddar cheese under controlled bacteriological conditions. *Irish J. Agri. Food Res.* 15, 151-155.
- O'Keeffe, R.B.; Fox, P.F.; Daly, C. (1977). Denaturation of porcine pepsin during Cheddar cheese manufacture. *J. Dairy Res.* 44, 335-343.
- O'Keeffe, R.B.; Fox, P.F.; Daly, C. (1978). Proteolysis in Cheddar cheese: role of coagulant and starter bacteria. *J. Dairy Res.* 45, 465-477.
- Ollikainen, P.; Kivelä, T. (1989). The importance of plasmin in Swiss-type cheese ripening. *Milchwissenschaft* 44(4), 204-206.
- Ollikainen, P.; Nyberg, K. (1988). A study of plasmin during ripening of Swiss-type cheese. *Milchwissenschaft* 43(8), 497-499.
- Ono, T.; Creamer, L.K. (1986). Structure of goat casein micelles. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.* 21, 57-64.
- Pahkala, E., Pihlanto-Leppälä, A.; Laukkanen, M.; Antila, V. (1989). Decomposition of milk proteins during the ripening of cheese. 2. Enzymatic hydrolysis of β -casein. *Finnish J. Dairy Sci.* 47(1), 63-70.
- Pahkala, E.; Pihlanto-Leppälä, A.; Laukkanen, M.; Antila, V. (1989). Decomposition of milk proteins during the ripening of cheese. 1. Enzymatic hydrolysis of α_s -casein. *Finnish J. Dairy Sci.* 47(1), 39-47.
- Papoff, C.M.; Delacroix-Buchet, A.; Le Bars, D.; Campus, R.L.; Vodret, A. (1995). Hydrolysis of bovine β -casein C by plasmin. *Ital. J. Food Sci.* 2, 157-168.
- Parkash, S.; Jenness, R. (1968). The composition and characteristics of goat's milk: a review. *Dairy Sci. Abstr.* 30, 67-87.
- Pasquini, M.; Greppi, G.F.; Ballou, L.U.; Bremel, R.D. (1993). Determination of plasmin and plasminogen in goat and sheep milk. *J. Dairy Sci.* 76(supl. 1), 108.
- Pearce, K.N. (1977). The complexometric determination of calcium in dairy products. *N. Z. J. Dairy Sci. and Techn.* 12, 113-115.

-
- Pélissier, J.-P. (1984). Protéolyse des caséines. *Sci. des Aliments* 5, 1-35.
- Pélissier, J.P.; Mercier, J.C.; Ribadeau-Dumas, B. (1974). Etude de la protéolyse des caséines α_{s1} et β bovines par la présure. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 14(2), 343-362.
- Perry, K.D.; McGillivray, W.A. (1964). The manufacture of "normal" and "starter-free" Cheddar cheese under controlled bacteriological conditions. *J. Dairy Res.* 31, 155-165.
- Peterson, S.D.; Marshall, R.T. (1990). Nonstarter Lactobacilli in cheddar cheese: a review. *J. Dairy Sci.* 73, 1395-1410.
- Phelan, J.A.; Guiney, J.; Fox, P.F. (1973). Proteolysis of β -casein in cheddar cheese. *J. Dairy Res.* 40, 105-112.
- Phillips, N.; Jenness, R. (1965). Some physical and chemical properties of goat β -lactoglobulin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 21, 16-20.
- Pirisi, A.; Colin, O.; Laurent, F.; Scher, J.; Parmentier, M. (1994). Comparison of milk composition, cheesemaking properties and textural characteristics of the cheese from two groups of goats with a high or low rate of α_{s1} -casein synthesis. *Int. Dairy J.* 4, 329-345.
- Politis, I.; Ng Kwai Hang, K.F.; Giroux, R.N. (1989). Environmental factors affecting plasmin activity in milk. *J. Dairy Sci.* 72, 1713-1718.
- Politis, I.; White, J.H.; O'Hare, K.; Zavizion, B.; Gilmore, J.; Caler, W. (1994). Distribution of plasminogen activator forms in fractions of goat milk. *J. Dairy Sci.* 77, 2900-2906.
- Preaux, G.; Braunitzer, G.; Schrank, B.; Stangel, A. (1979). The amino acid sequence of goat β -lactoglobulin. *Physiol. Chem.* 360, 1595-1604.
- Quiles, A.; Hevia, M.; Fuentes, F.; Barcina, Y.; Ramírez, A. (1992). Fraccionamiento electroforético de las proteínas de leche de cabra de raza Murciano-Granadina. *An. Vet. Murcia* 8, 7-13.
- Ramos, M.; Sánchez, R.M.; Olano, A.; Sanz, J. Martínez-Castro, I. (1988). Comparative studies on "acid-stable, heat-stable polypeptides" of ovine, caprine and bovine milks. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 186, 22-24.
- Rank, T.C.; Grappin, R.; Olson, N.F. (1985). Secondary proteolysis of cheese during ripening: a review. *J. Dairy Sci.* 68, 801-805.
- Reiter, B.; Fryer, T.F.; Pickering, A.; Chapman, H.R.; Lawrence, R.C.; Sharpe, M.E. (1967). The effect of the microbial flora on the flavour and free fatty acid composition of Cheddar cheese. *J. Dairy Res.* 34, 257-272.

- Reiter, B.; Sorokin, Y.; Pickering, A.; Hall, A.J. (1969). Hydrolysis of fat and protein in small cheeses made under aseptic conditions. *J. Dairy Res.* 36, 65-76.
- Remeuf, F. (1993). Influence du polymorphisme génétique de la caséine α_{s1} caprine sur les caractéristiques physico-chimiques et technologiques du lait. *Lait* 73, 549-557.
- Remeuf, F.; Cossin, V.; Dervin, C.; Lenoir, J.; Tomassone, R. (1991). Relations entre les caractères physico-chimiques des laits et leur aptitude fromagère. *Lait* 71, 397-421.
- Remeuf, F.; Lenoir, J. (1985). Caractéristiques physico-chimiques de laits de chèvre et leur aptitude à la coagulation par la présure. *Rev. Lait. Fr.* 446, 32-40.
- Remeuf, F.; Lenoir, J.; Duby, C. (1989). Etude des relations entre les caractéristiques physico-chimiques des laits de chèvre et leur aptitude à la coagulation par la présure. *Lait* 69, 499-518.
- Reville, W.J.; Fox, P.F. (1978). Soluble protein in Cheddar cheese: a comparison of analytical methods. *Irish J. Food Sci. Tech.* 2, 67-76.
- Ribadeau-Dumas, B.; Brignon, G.; Grosclaude, F.; Mercier, J.C. (1972). Structure primaire de la caséine β bovine. Séquence complète. *Eur. J. Biochem.* 25, 505-514.
- Richardson, B.C. (1983). Variation of the concentration of plasmin and plasminogen in bovine milk with lactation. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.* 18, 247-252.
- Richardson, B.C.; Creamer, L.K. (1974). Comparative micelle structure. III. The isolation and chemical characterization of caprine β_1 -casein and β_2 -casein. *Bioch. Biophys. Acta* 365, 133-137.
- Richardson, B.C.; Creamer, L.K.; Pearce, K.N.; Munford, R.E. (1974). Comparative micelle structure. II. Structure and composition of casein micelle in ovine and caprine milk as compared with those in bovine milk. *J. Dairy Res.* 41, 239-247.
- Richardson, B.C.; Creamer, L.K. (1975). Comparative micelle structure. IV. The similarity between caprine α -casein and bovine α_{s3} -casein. *Biochim. Biophys. Acta* 393, 37-47.
- Richardson, B.C.; Pearce, K.N. (1981). The determination of plasmin in dairy products. *N. Z. J. Dairy Sci. Tech.* 16, 209-220.
- Roberts, B.T.; Ditullio, P.; Vitale, J.; Hehir, K.; Gordon, K. (1992). Cloning of goat β -casein gene and expression in transgenic mice. *Gene* 121, 255-262.
- Rogers, S.A.; Mitchell, G.E. (1994). The relationship between somatic cell count, composition and manufacturing properties of bulk milk. 6. Cheddar cheese and skim milk yoghurt. *Australian J. Dairy Tech.* 49, 70-74.

-
- Rollema, H.S.; Visser, S.; Poll, J.K. (1981). On the determination, purification and characterization of the alkaline proteinase from bovine milk. *Neth. Milk Dairy J.* 35, 396-399.
- Sahlström, S.; Espinosa, C.; Langsrud, T.; Sorhaug, T. (1989). Cell wall, membrane, and intracellular peptidase activities of *Propionibacterium shermanii*. *J. Dairy Sci.* 72, 342-350.
- Sanogo, T.; Paquet, D.; Linden, G. (1987). Protéolyse de la caséine bovine en milieu salin: étude de quatre protéases. *Sci. Aliments* 7, 385-398.
- Sanogo, T.; Paquet, D.; Aubert, F.; Linden, G. (1989). Purification of α_{s1} -casein by Fast Liquid Chromatography. *J. Dairy Sci.* 72, 2242-2246.
- Schaar, J. (1985). Plasmin activity and proteose-peptone content of individual milks. *J. Dairy Res.* 52, 369-378.
- Schaller, J.; Richkli, E.E. (1988). Structural aspects of the plasminogen of various species. *Enzyme* 40(2-3), 63-69.
- Schmidt, D.G. (1982). Association of caseins and casein micelle structure. Developments in Dairy chemistry. 1. Proteins. Fox, P.F. ed.; Applied Science Publishers; London; 61-86.
- Schmidt, J.L. (1982). Activité protéolytique des levures isolées du fromage de Camembert. XXI Int. Dairy Congr.; Moscou.; Vol I, 365.
- Senyk, G.F.; Barbano, D.M.; Shipe, W.F. (1985). Proteolysis in milk associated with increasing somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* 68, 2189-2194.
- Shalabi, S.I.; Fox, P.F. (1987). Electrophoretic analysis of cheese: comparison of methods. *Ir. J. Food Sci. Tech.* 11, 135-151.
- Shammet, K.M.; Brown, R.J.; McMahon, D.J. (1992a). Proteolytic activity of some milk-clotting enzymes on κ -casein. *J. Dairy Sci.* 75, 1373-1379.
- Shammet, K.M.; McMahon, D.J.; Brown, R.J. (1992b). Characteristics of macropetide fraction isolated from whole casein and purified κ -casein. *Milchwissenschaft* 47(10), 615-619.
- Shewale, J.G., Sinha, S.K.; Brew, K. (1984). Evolution of α -lactalbumins. The complete amino acid sequence of the α -lactalbumin from a marsupial (*Macropus rufogriseus*) and corrections to regions of sequence in bovine and goat α -lactalbumins. *J. Biol. Chem.* 259, 4947-4956.
- Singh, H.; Creamer, L.K. (1990). A sensitive quantitative assay for milk coagulants in cheese and whey products. *J. Dairy Sci.* 73, 1158-1165.

- Singh, N.P.; Sachdeva, K.K.; Sengar, O.P. (1972). A study on the nitrogen distribution in goats' milk. *Milchwissenschaft* 27, 165-167.
- Snoeren, T.H.M.; Van Riel, J.A.M. (1979). Milk proteinase, its isolation and action on α_{s2} - and β -casein. *Milchwissenschaft* 34, 528-531.
- Storry, J.E.; Grandison, A.S.; Millard, D.; Owen, A.J.; Ford, G.D. (1983). Chemical composition and coagulating properties of renneted milks from different breeds and species of ruminant. *J. Dairy Res.* 50, 215-229.
- Strange, E.D.; Van Hekken, D.L.; Holsinger, V.H. (1994). Effect of sodium chloride on the solubility of caseins. *J. Dairy Sci.* 77, 1216-1222.
- Swaigood, H.E. (1993). Genetic perspectives on milk proteins: comparative studies and nomenclature. Review and update of casein chemistry. *J. Dairy Sci.* 76, 3054-3061.
- Tan, P.S.T.; Poolman, B. Konings, W.N. (1993). Proteolytic enzymes of *Lactococcus lactis*. *J. Dairy Res.* 60, 269-286.
- Thomas, T.D.; Mills, O.E. (1981). Proteolytic enzymes of starter bacteria. *Neth. Milk Dairy J.* 35, 255-273.
- Thomas, T.D.; Pearce, K.N. (1985). Influence of salt on lactose fermentation and proteolysis in Cheddar cheese. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.* 16, 253-259.
- Thomas, T.D.; Pritchard, G.G. (1987). Proteolytic enzymes of dairy starter cultures. *FEMS Microb. Rev.* 46, 245-268.
- Thompson, M.P.; Tarassuk, N.P.; Jenness, R.; Lillevik, H.A.; Ashworth, V.S.; Rose, D. (1965). Nomenclature of the proteins of cow's milk. Second revision. *J. Dairy Sci.* 48, 159-169.
- Trieu-Cuot, P.; Addeo, F. (1981). Occurrence of γ -caseins in buffalo milk. *J. Dairy Res.* 48, 311-317.
- Trieu-Cuot, P.; Archieri-Haze, M.J.; Gripon, J.-C. (1982). Effect of aspartyl proteinases of *Penicillium caseicolum* and *Penicillium roqueforti* on caseins. *J. Dairy Res.* 49, 487-500.
- Trieu-cuot, P.; Gripon, J.-C. (1981). Electrofocusing and two-dimensional electrophoresis of bovine caseins. *J. Dairy Res.* 48, 303-310.
- Trieu-Cuot, P.; Gripon, J.-C. (1982). A study of proteolysis during Camembert cheese ripening using isoelectric focusing and two-dimensional electrophoresis. *J. Dairy Res.* 49, 501-510.

-
- Turner, K.W.; Lawrence, R.C. (1986). A microbiological specification for milk for aseptic cheesemaking. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.* 21, 249-254.
- Tutta, C.; Curioni, A.; Peruffo, A.D.B. (1991). A two-dimensional electrophoresis method for the study of caprine α_{s1} - and α_{s2} -casein polymorphism. *J. Dairy Res.* 58, 247-250.
- Uriel, J. (1966). Electrophoretic method on acrylamide-agarose gels. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 48, 969-982.
- Van den Berg, G.; Exterkate, F.A. (1993). Technological parameters involved in cheese ripening. *Int. Dairy J.* 3, 485-507.
- Varshney, G.C.; Mathur, M.P. (1979). Purification and properties of goat milk protease. *Indian J. Bioch. Bioph.* 16, 375-378.
- Vassal, L.; Delacroix-Buchet, A.; Bouillon, J. (1994). Influence des variants AA, EE et FF de la caséine α_{s1} caprine sur le rendement fromager et les caractéristiques sensorielles de fromages traditionnels: premières observations. *Lait* 74, 89-103.
- Vilotte, J.L.; Soulier, S.; Printz, C.; Mercier, J.C. (1991). Sequence of the goat α -lactalbumin-encoding gene: comparison with the bovine gene and evidence of related sequences in the goat genome. *Gene* 98, 271-276.
- Visser, F.M.W. (1976). Method for the manufacture of rennet-free cheese. *Neth. Milk Dairy J.* 30, 41-54.
- Visser, F.M.W. (1977a). Contribution of enzymes from rennet, starter bacteria and milk to proteolysis and flavour development in Gouda cheese. 1. Description of cheese and aseptic cheesemaking techniques. *Neth. Milk Dairy J.* 31, 120-133.
- Visser, F.M.W. (1977b). Contribution of enzymes from rennet, starter bacteria and milk to proteolysis and flavour development in Gouda cheese. 3. Protein breakdown: analysis of the soluble nitrogen and amino acid nitrogen fractions. *Neth. Milk Dairy J.* 31, 210-239.
- Visser, F.M.W.; De Groot-Mostert, A.E.A. (1977). Contribution of enzymes from rennet, starter bacteria and milk to proteolysis and flavour development in Gouda cheese. 4. Protein breakdown: a gel electrophoretic study. *Neth. Milk Dairy J.* 31, 247-264.
- Visser, S. (1981). Proteolytic enzymes and their action on milk proteins. A review. *Neth. Milk Dairy J.* 35, 65-88.
- Visser, S. (1993). Proteolytic enzymes and their relation to cheese ripening and flavour: an overview. *J. Dairy Sci.* 76, 329-351.

Visser, S.; Slangen, K.J. (1977). On the specificity of chymosin (rennin) in its action on bovine β -casein. *Neth. Milk Dairy J.* 31, 13-30.

Visser, S.; Slangen, K.J.; Alting, A.C.; Vreeman, H.J. (1989). Specificity of bovine plasmin in its action on bovine α_{s2} -casein. *Milchwissenschaft* 44(6), 335-339.

Wei, T.M.; Whitney, R. McL. (1985). Batch fractionation of bovine caseins with diethylaminoethyl cellulose. *J. Dairy Sci.* 68, 1630-1636.

Weinstein, M.J.; Doolittle, R.F. (1972). Differential specificities of trombim, plamin and trysin with regard to synthetic and natural substrates and inhibitors. *Biochim. Biophys. Acta* 258, 577-590.

Yamauchi, K.; Kaminogawa, S. (1972). Decomposition of milk proteins by milk protease. *Agr. Biol. Chem.* 36(2), 249-254.

Zamorani, A.; Crapisi, A.; Curioni, A.; Spettoli, P. (1992). Activities of proteolytic enzymes at different ripening ages in Asiago Pressato cheese produced by several milk coagulants. *Acta Alimentaria* 21(1), 87- 84.

Zittle, C.A. (1966). Purification of goat κ -casein and its stabilization of bovine α_s -casein. *J. Dairy Sci.* 49, 706-707.

Zittle, C.A. (1967). Precipitation of caprine and bovine caseins from acidic solutions by sodium polyphosphate: influence of pH and urea. Utilization for separation of α_s - and κ -caseins. *J. Dairy Sci.* 50, 1352-1355.

Zittle, C.A.; Custer, J.H. (1966). Identification of the κ -casein among the components of whole goat casein. *J. Dairy Sci.* 49, 788-791.

UNIVERSITAT AUTONÒMA DE BARCELONA
UNITAT DE TECNOLOGIA DELS ALIMENTS

TESIS DOCTORAL

*PROCESOS DE PROTEOLISIS PRIMARIA QUE
INTERVIENEN EN LA MADURACION DEL QUESO
DE CABRA*

TABLAS Y FIGURAS

ANTONIO JOSE TRUJILLO MESA
Bellaterra, 1996

Departament de Patologia i Producció Animals
Facultat de Veterinària
Universitat Autònoma de Barcelona

**PROCESOS DE PROTEOLISIS PRIMARIA QUE
INTERVIENEN EN LA MADURACION DEL QUESO
DE CABRA**

TABLAS Y FIGURAS



Facultat de Veterinària

Data	16.01.96
Entrada núm.	99
Sortida núm.	12

Dirigida por:

DRA. CARMEN CARRETERO ROMAY

Presentada por:

ANTONIO JOSE TRUJILLO MESA

Bellaterra, enero 1996.



Universitat Autònoma de Barcelona

Biblioteca General
Edifici A
08193 Bellaterra (Barcelona) Espanya

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Composición de la leche de cabra de algunos países y comparación con los valores medios de la leche de vaca.	1
Tabla 2. Composición media de las diferentes fracciones nitrogenadas en leche de algunas razas de cabras y comparación con la leche de vaca.	1
Tabla 3. Distribución de las fracciones caseínicas en la leche de cabra y comparación con la leche de vaca	2
Tabla 4. Frecuencia alélicas para el locus de la caseína α_{s1} en diversas razas lecheras caprinas europeas	2
Tabla 5. Posiciones de las sustituciones aminoacídicas en la estructura primaria de las diferentes variantes genéticas de la α_{s1} -Cn.	3
Tabla 6. Consecuencias más importantes derivadas de la acidificación.	3
Tabla 7. Principales funciones de la sal en el queso.	4
Tabla 8. Principales factores que afectan la actividad de la quimosina en queso.	4
Figura 1. Mecanismo general de actuación de los diferentes agentes proteolíticos en el queso y formación de gustos y aromas	5
Tabla 9. Principales factores que afectan la actividad de la plasmina en queso.	5
Tabla 10. Actividad relativa de los enzimas del cuajo y plasmina en cuatro variedades de queso.	6
Tabla 11. Composición nitrogenada media de algunas variedades de queso de leche de cabra en su estado óptimo de maduración	6
Figura 2. Diagrama de obtención de fracciones caseínicas por el método selectivo de precipitación en soluciones de urea	7
Figura 3. Diagrama de obtención de fracciones caseínicas caprinas por un procedimiento estático con DEAE-celulosa	8
Figura 4. Diagrama de fraccionamiento de la caseína caprina por un procedimiento discontinuo con <i>SP-Sefarose</i>	9
Figura 5. Esquema de fabricación de queso de cabra de pasta prensada no cocida	10

Figura 21. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de la β -Cn hidrolizada por el cuajo en presencia del 5% de NaCl.	25
Figura 22. Estructuras primarias de las β -Cn caprina y bovina mostrando los enlaces peptídicos susceptibles a la hidrólisis de la quimosina en la proteína bovina.	26
Figura 23. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de los productos de degradación provenientes de la hidrólisis de la β -Cn caprina y bovina por acción del cuajo.	27
Figura 24. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de la β -Cn caprina con múltiples grados de fosforilación hidrolizada por el cuajo.	28
Figura 25. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de la α_{s1} -Cn caprina hidrolizada por el cuajo (0.1 UC/mL) a diferentes pH.	29
Figura 26. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de la α_{s1} -Cn caprina hidrolizada por el cuajo (1 UC/mL) a diferentes pH.	30
Figura 27. Gráfico de los electroforegramas obtenidos en la hidrólisis de la α_{s1} -Cn por acción del cuajo a diferentes pH	31
Figura 28. Electroforesis bidimensional de la α_{s1} -Cn caprina hidrolizada por el cuajo.	32
Figura 29. Electroforesis obtenida en PAGE-urea de la α_{s1} -Cn caprina hidrolizada por el cuajo adicionada de NaCl	33
Figura 30. Electroforesis obtenida en PAGE-urea de la α_{s1} -Cn caprina hidrolizada por el cuajo en presencia del 5% NaCl.	34
Figura 31. Secuencia de formación de productos de degradación a partir de la α_{s1} -Cn en diferentes condiciones iónicas.	35
Figura 32. Electroforesis obtenida en PAGE-urea de la α_{s1} -Cn caprina hidrolizada por el cuajo, quimosina y pepsina bovinas.	36
Figura 33. Perfil de elución obtenidos por RP-HPLC de los péptidos solubles a pH 4.6 producidos a partir de las α_{s1} -Cn A y F por la quimosina.	37
Figura 34. Perfiles cromatográficos obtenidos por RP-HPLC de los péptidos solubles a pH 4.6 correspondientes a las α_{s1} -Cn A y F hidrolizadas por la quimosina durante 24 h	38

Tabla 14. Frecuencias alélicas para el locus de α_{s1} -Cn en la Graja Experimental	54
Figura 49. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de la caseína caprina con genotipos diferentes para la α_{s1} -Cn.	55
Figura 50. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de la caseína caprina con genotipos diferentes para la α_{s1} -Cn hidrolizada por el cuajo	56
Figura 51. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de la α_{s2} -Cn caprina hidrolizada por el cuajo	57
Figura 52. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea a partir de la β -Cn caprina hidrolizada por la plasmina	58
Figura 53. Estructura primaria de las β -Cn caprina y bovina indicando los puntos de hidrólisis más susceptibles a la plasmina en la especie bovina	59
Figura 54. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea a partir de la caseína caprina hidrolizada por la plasmina	60
Figura 55. Electroforegramas obtenidos en PAGE-SDS a partir de la caseína caprina hidrolizada por la plasmina	60
Figura 56. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de la caseína bovina hidrolizada por la plasmina	61
Figura 57. Electroforegramas obtenidos en PAGE-SDS a partir de la caseína bovina hidrolizada por la plasmina	61
Figura 58. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de la β -Cn bovina hidrolizada por la plasmina	62
Tabla 15. Posiciones de las sustituciones aminoacídicas en la estructura primaria de diferentes variantes genéticas de la β -Cn bovina.	62
Figura 59. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de las β -Cn bovina y caprina hidrolizadas por la plasmina	63
Figura 60. Electroforesis bidimensional de la β -Cn caprina hidrolizada por la plasmina	64
Figura 61. Electroforesis bidimensional de la β -Cn bovina hidrolizada por la plasmina	65

Figura 76. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de la β -Cn bovina hidrolizada por la plasmina y los enzimas del cuajo de forma consecutiva 78

Figura 77. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de la β -Cn bovina hidrolizada por los enzimas del cuajo y plasmina de forma consecutiva 79

Figura 78. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de la β -Cn caprina hidrolizada por los enzimas del cuajo y plasmina de forma consecutiva 79

Figura 79. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de la fracción insoluble en agua de diferentes quesos de cabra y vaca comerciales. 80

Figura 80. Esquema general de los perfiles electroforéticos presentados en PAGE-urea de las fracciones insolubles en agua de los quesos de cabra y vaca 81

Figura 81. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de la fracción insoluble en agua de un queso de pasta prensada no cocida elaborado en el CeR 82

Figura 82. Diagramas que muestran las diferencias básicas entre la presión isostática y la uniaxial. 83

Figura 83. Diagrama que muestra los componentes principales de un equipo de alta presión. 83

Tabla 16. Evolución del pH en cuajadas acidificadas con fermentos o con diferentes concentraciones de GDL 84

Figura 84. Curvas de acidificación obtenidas en cuajadas acidificadas con fermentos y con ácido láctico y GDL. 84

Tabla 17. Composición fisicoquímica de cuajadas acidificadas por fermentos o control (CC), con ácido láctico y GDL o libres de fermentos (CLF), libres de fermentos y coagulantes (CLFC) y presurizadas (CLFP y CLFCP) 85

Figura 85. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea pertenecientes a la CC, CLF, CLFP, CLFC y CLFCP 86

Tabla 18. Efecto de las altas presiones hidrostáticas sobre la actividad enzimática de la plasmina de leche de cabra. 86

Figura 86. Efecto de las altas presiones hidrostáticas sobre la actividad coagulante de diferentes preparaciones enzimáticas 87

Tabla 19. Resultados de los análisis microbiológicos obtenidos en las cuajadas libres de fermentos y libres de fermentos y coagulantes antes y después del tratamiento de presurización 88

País	Raza	Estraco Seco	Grasa	Proteína	Lactosa	Cenizas	Autores
España	Murciano-Granadina	13.2-15.7	4.5-6.6	3.5-3.6	-	0.82-0.89	(1)
"	Murciana	14.10-17.18	4.7-7.4	3.11-3.91	-	0.84-0.95	(2)
"	Granadina	12.04-13.83	3.7-5.2	3.19-3.75	-	0.75-0.86	(2)
"	Canaria	-	-	3.8-4.4	-	-	(3)
Francia	Alpina	11.65	3.13	2.91	-	-	(4)
"	Saenen	11.74	3.09	2.82	-	-	(4)
"	Alpina-Saenen	-	3.33	2.94	4.40	-	(5)
Grecia	Saenen	10.15-12.58	2.41-4.06	2.86-3.54	4.15-4.70	0.73-0.91	(6)
"	Indígena	14.20-15.89	5.25-6.18	3.52-4.00	4.58-5.11	0.68-0.77	(6)
India	Barbari	13.38	4.00	5.17	4.52	0.97	(7)
"	Black Bengal	15.02	5.52	6.40	4.38	0.76	(7)
Irlanda	-	12.27	3.63	3.39	-	0.78	(8)
Italia	Aplina-Saenen	11.31*	3.05*	3.00*	4.49*	0.80*	(9)
Leche de vaca		13.00	3.90	3.27	4.90	0.90	(10)

* en g/100 g

- (1) Juárez y col. (1991) (6) Anifantakis y Kandarakis (1980)
 (2) Martín-Hernández y col. (1988) (7) Agarwal y Bhattacharya (1980)
 (3) Fresno y col. (1992) (8) Espie y Mullan (1990)
 (4) Mahieu y col. (1977) (9) Mariani y col. (1987)
 (5) Grandpierre y col. (1988) (10) Luquet (1985)

Tabla 1. Composición (% p/v) de la leche de cabra de algunos países en comparación con los valores medios de la leche de vaca.

Raza	Proteína total	Proteína verdadera	Caseína	Proteína soluble	Nitrógeno no proteico	Autores
Jamunapari	4.78*	4.50*	3.39*	1.09*	0.16*	(1)
Saenen	2.82	2.48	2.07	0.41	0.31	(2)
Alpina	2.91	2.45	2.00	0.45	0.39	(2)
Alpina-Saenen	3.09*	2.81*	2.33*	0.61*	0.27*	(3)
Murciana	3.61	3.38	2.57	0.81	0.23	(4)
Granadina	3.48	3.20	2.44	0.76	0.27	(4)
Leche de vaca	3.30	3.27	2.80	0.47	0.03	(5)

*en g/100 g

- (1) Singh y col. (1972) (4) Martín-Hernández y col. (1988)
 (2) Mahieu y col. (1977) (5) Luquet (1985)
 (3) Grappin y col. (1981)

Tabla 2. Composición media (% p/v) de las diferentes fracciones nitrogenadas en leche de algunas razas de cabras en comparación con la leche de vaca.

Autores	α_s		β	κ	Métodos de análisis
	α_{s1}	α_{s2}			
CABRA					
Le Mens, 1985	5	25	50	20	Electroforesis
Remeuf y Lenoir, 1985	5.6	19.2	54.8	20.4	"
Grosclaude y col., 1987	5.3-1.4	17.3-21.2	38.1-45.3	26.6-32.1	Inmunoelectrof.
Martín-Hernández y col., 1988	29.37-29.47		53.14-53.17	17.37-17.44*	Electroforesis
Mora-Gutiérrez y col. 1991	0.12-2.70**				HPLC
Law y Tziboula, 1992	4.4-26.0	5.0-19.2	42.2-64.0	9.8-23.5	FPLC
Quiles y col., 1993	26.43		65.5	8.03	Electroforesis
VACA					
Jeness, 1982	38.5	10	35.7	15.8*	Electroforesis

* caseínas $\kappa+\gamma$

** en g/l

Tabla 3. Distribución de las fracciones caseínicas en la leche de cabra en comparación con la leche de vaca (en % de la caseína total).

Razas	País	Efectivo	Alelos						
			A	B	C	D	E	F	O
Alpina	Francia	213	0.14	0.05	0.01	--	0.34	0.41	0.05
Alpina	Italia	80	--	--	--	--	0.35	0.59	0.06
Saanen	Francia	159	0.07	0.06	--	--	0.41	0.43	0.03
Saanen	Italia	70	0.03		--0.003--		0.49	0.46	--
Poitevine	Francia	172	0.05	0.35	--	--	0.45	0.14	--
Garganica	Italia	54	0.61		--0.37--		--	0.02	--
Maltesa	Italia	81	0.33		--0.28--		0.11	0.27	0.01
Murciano-Granadina	España	77	0.08	0.25	--	--	0.62	0.05	--
Malagueña	España	56	--	0.25	--	--	0.70	0.05	--
Payoya	España	39	0.04	0.14	--	--	0.82	--	0.20
Canaria	España	74	0.28	0.32	--	--	0.20	--	0.20

Tabla 4. Frecuencias alélicas para el locus de la α_{s1} -Cn en diversas razas lecheras caprinas europeas (tomado de Martín, 1993).

Variante	8	16	Delección	77	100	195
A	His	Leu		Gln	Arg	Thr
B	His	Pro		Glu	Arg	Thr
C	Ile	Pro		Glu	Lys	Ala
D	His	Pro	(59-69)	Glu	Arg	Thr
E	His	Pro		Glu	Lys	Ala
F	His	Pro	(59-95)		Arg	Thr
G	His	Leu	(14-26)	Gln	Arg	Thr

Tabla 5. Posiciones de las sustituciones aminoacídicas en la estructura primaria de las diferentes variantes genéticas de la α_1 -Cn. Los números indican las posiciones de las sustituciones o de las delecciones (éstas últimas entre paréntesis) en las cadenas peptídicas.

- (1) Actividad del coagulante durante la fabricación
- (2) Retención del coagulante en la cuajada
- (3) Actividad y quizás especificidad del coagulante durante el madurado
- (4) Actividad de la plasmina (enzima endógeno de la leche)
- (5) Tensión y sinéresis de la cuajada
- (6) Solubilidad del complejo fosfato cálcico coloidal, que afecta directamente a la textura
- (7) Retención de sal
- (8) Presencia y/o crecimiento de bacterias patógenas
- (9) Sabor típico a ácido en quesos de coagulación ácida o quesos jóvenes de coagulación enzimática
- (10) Los lactatos son sustrato en la producción de ácido propiónico, ácido acético y CO₂ durante el madurado quesos tipo Suizo

Tabla 6. Consecuencias más importantes derivadas de la acidificación (tomado de Fox y col., 1990).

-
- Modificación directa del sabor, favorece la sinéresis regulando así la humedad de la cuajada.
 - Reducción de la a_w , que a su vez tiene influencia sobre la actividad enzimática (cuajo, bacterias y enzimas endógenos de la leche).
 - Suprime el crecimiento de la microflora no deseable.
 - Influye en el nivel de maduración y calidad final del queso.
-

Tabla 7. Principales funciones de la sal en el queso (tomado de Guinee y Fox, 1993).

-
- (1) Cantidad de enzima añadido.
 - (2) pH durante la preparación de la cuajada.
 - (3) Uso de CaCl_2 .
 - (4) Temperatura de recalentamiento o cocción de la cuajada.
 - (5) Humedad del queso.
 - (6) Concentración en sal del queso.
 - (7) pH del queso.
 - (8) Intensidad del tratamiento térmico de pasterización.
-

Tabla 8. Principales factores que afectan la actividad de la quimosina en queso (tomado de Van den Berg y Exterkate, 1993).

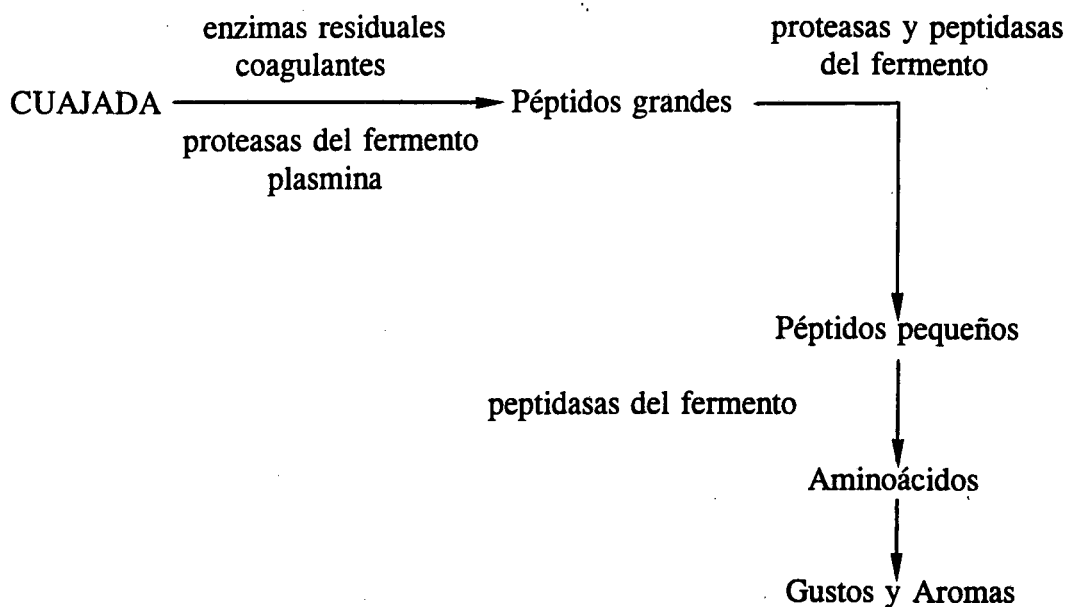


Figura 1. Mecanismo general de actuación de los diferentes agentes proteolíticos en el queso y formación de gustos y aromas (tomado de Visser, 1993).

-
- (1) Contenido en leche (especie, raza, época lactación,...)
 - (2) Intensidad tratamiento térmico de la leche.
 - (3) Temperatura de cocción.
 - (4) pH durante la preparación de la cuajada.
 - (5) Concentración de sal en queso.
 - (6) pH del queso.
-

Tabla 9. Principales factores que afectan la actividad de la plasmina en queso (tomado de Van den Berg y Exterkate, 1993).

	Chershire	Cheddar	Gouda	Suizo
Cuajo	4+	3+	2+	+
Plamina	+	2+	3+	4+

Tabla 10. Actividad relativa de los enzimas del cuajo y plasmina en cuatro variedades de quesos (escala: 4+, alto; +, bajo. Tomado de Lawrence y col., 1983).

Queso	NS/NT(%)	NNP/NT(%)	NNP/NS(%)	NNH2/NT(%)	NNH2/NS(%)	Autores
Babia-Laciana	9.75	5.14	52.72	0.64	6.56	(1)
<i>Cendrat del Montsec</i>	28.59	20.29	70.97	-	-	(2)
Semiduro de pasta lavada	41.14	22.91	55.69	-	-	(3)
Pasta blanda y corteza enmohecida	16.00	13.44	84.00	2.90	18.12	(4)

(1) Argumosa y col. (1992)

(2) Carretero y col. (1991)

(3) Martín-Hernández y col. (1992)

(4) Martín-Hernández y Juárez (1988)

Tabla 11. Composición media de las fracciones nitrogenadas media de algunas variedades de quesos de leche de cabra en su estado óptimo de maduración.

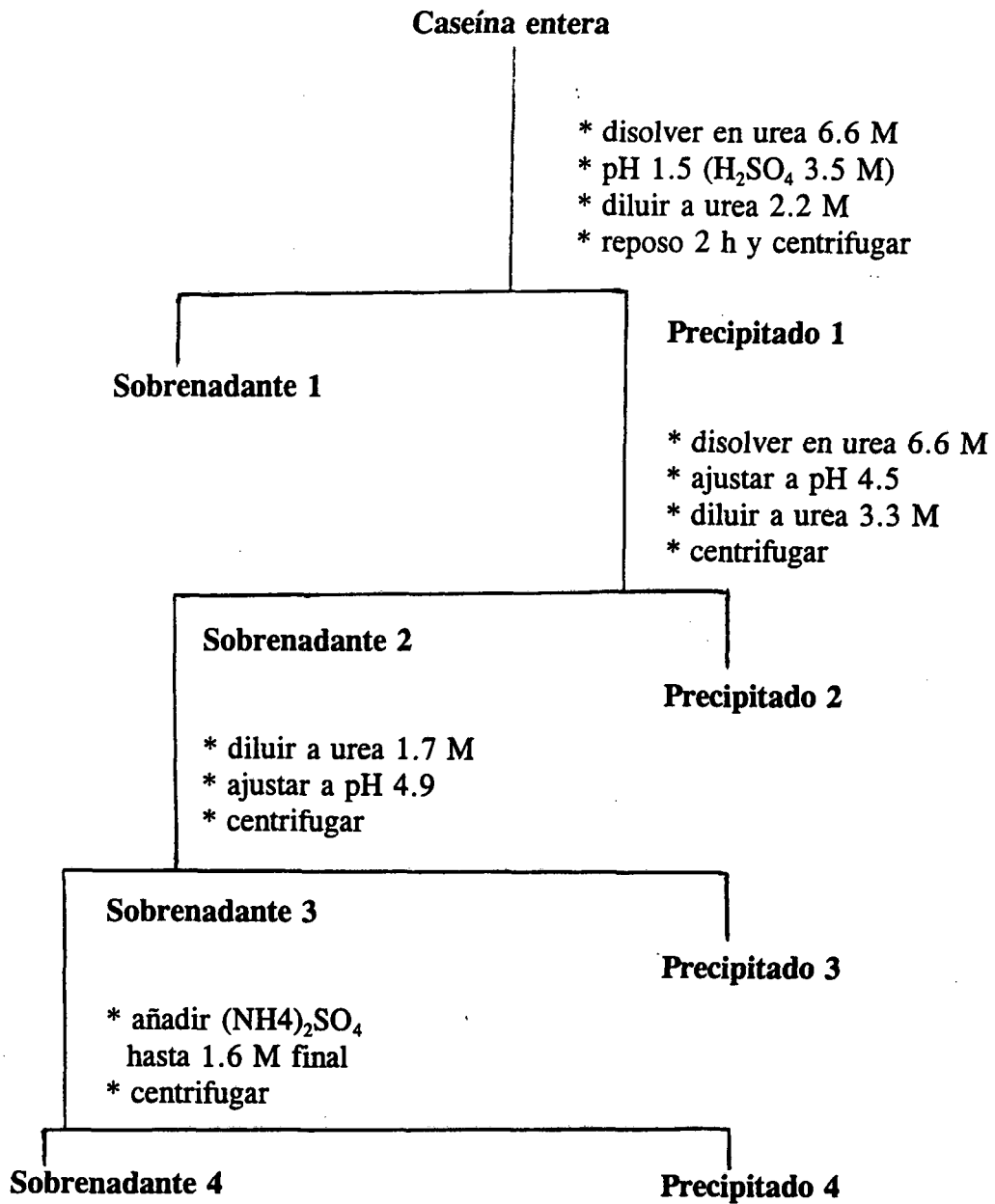


Figura 2. Diagrama de obtención de fracciones caseínicas por el método selectivo de precipitación en soluciones de urea.

2 g caseína entera
 en 80 mL urea 3.3 M
 conteniendo DTT 2 mM

- * mezclar con 4 g DEAE-celulosa
- * dilución con TU 25:1
- * agitación 15 min y filtrar
- * 2 extracciones con TU

* 3 extracciones con TU conteniendo NaCl 0.035 M **FRACCION 0 (Filtrados 0₁, 0₂, 0₃)**

* 3 extracciones con TU conteniendo NaCl 0.085 M **FRACCION 1 (Filtrados 1₁, 1₂, 1₃)**

* 4 extracciones con TU conteniendo NaCl 0.12 M **FRACCION 2 (Filtrados 2₁, 2₂, 2₃, 2₄)**

* 4 extracciones con TU conteniendo NaCl 0.175 M **FRACCION 3 (Filtrados 3₁, 3₂, 3₃, 3₄)**

* 1 extracción con TU conteniendo NaCl 0.3 M **FRACCION 4 (Filtrados 4₁, 4₂, 4₃, 4₄)**

CELULOSA (almacenar y reciclar) **FRACCION 5 (Filtrado 5₁)**

Figura 3. Diagrama de obtención de fracciones caseínicas caprinas por un procedimiento estático con DEAE-celulosa.

1 g caseína entera
 en 30 ml tampón A
 conteniendo β -mercaptoetanol 14 mM

- * mezclar con la sefarosa acondicionada
- * 1 extracción con tampón A (100 mL)
- * agitar 5 min y filtrar

* 4 extracciones con tampón A conteniendo NaCl 0.12 M **FRACCION 0 (Filtrado 0)**

* 4 extracciones con tampón A conteniendo NaCl 0.20 M **FRACCION 1 (Filtrados 11, 12, 13, 14)**

* 2 extracciones con tampón A conteniendo NaCl 0.35 M **FRACCION 2 (Filtrados 21, 22, 23, 24)**

SEFAROSA
 (almacenar y reciclar)

FRACCION 3 (Filtrado 3,)

Figura 4. Diagrama de fraccionamiento de la caseína caprina por un procedimiento discontinuo con SP-Sefarose.

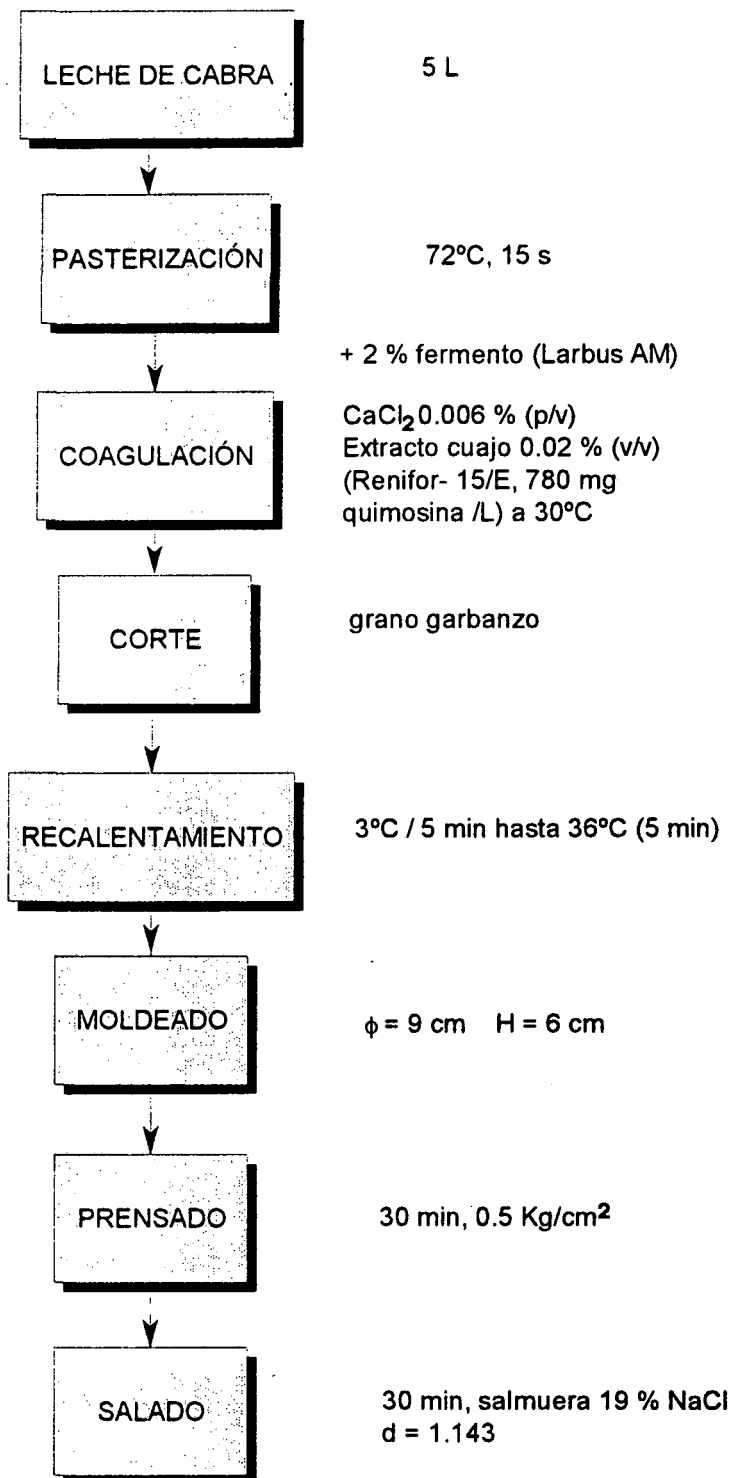


Figura 5. Esquema de fabricación de queso de cabra de pasta prensada no cocida a escala de laboratorio.

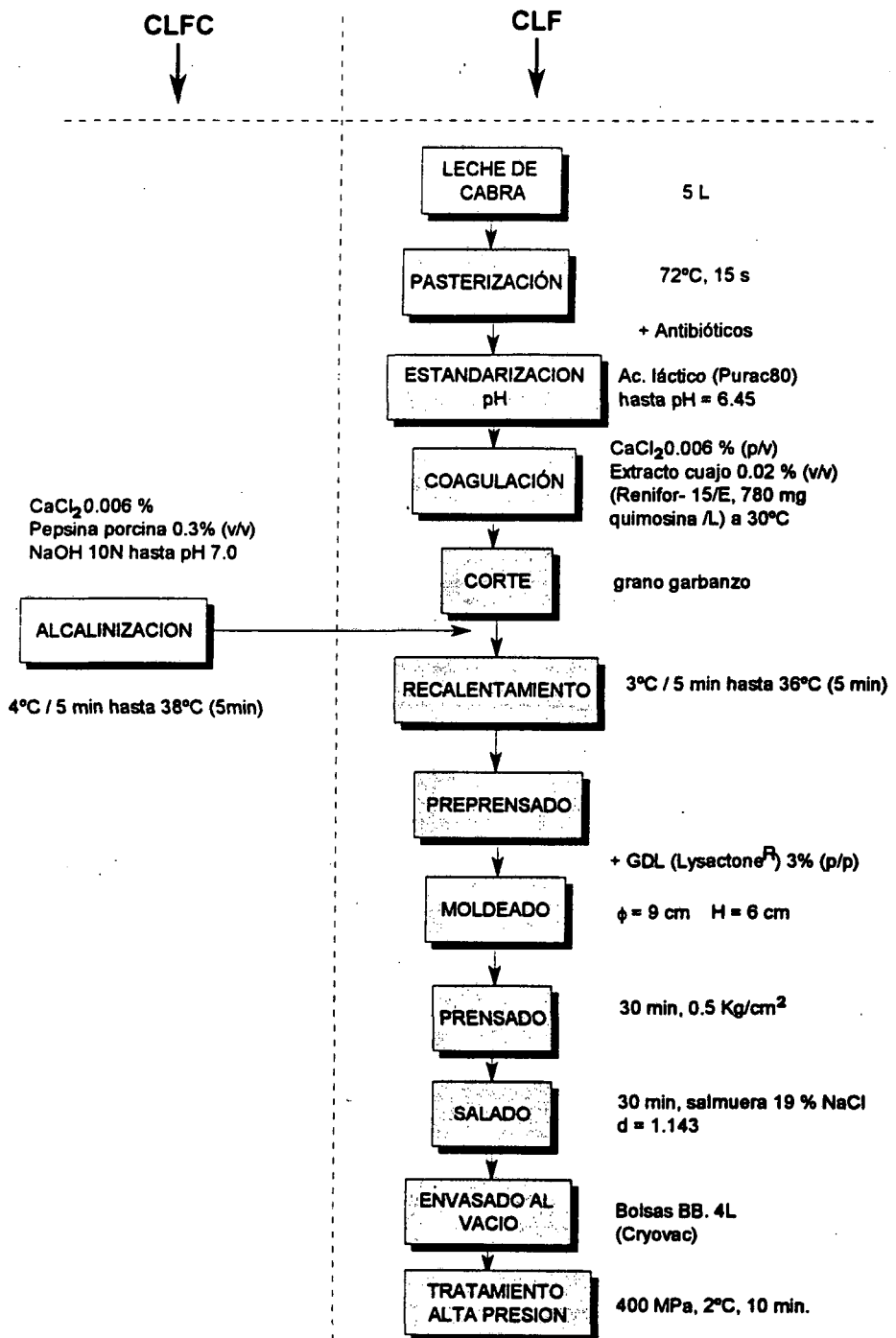


Figura 6. Esquema de fabricación de cuajadas libres de fermentos (CLF) y cuajadas libres de fermentos y coagulante (CLFC).

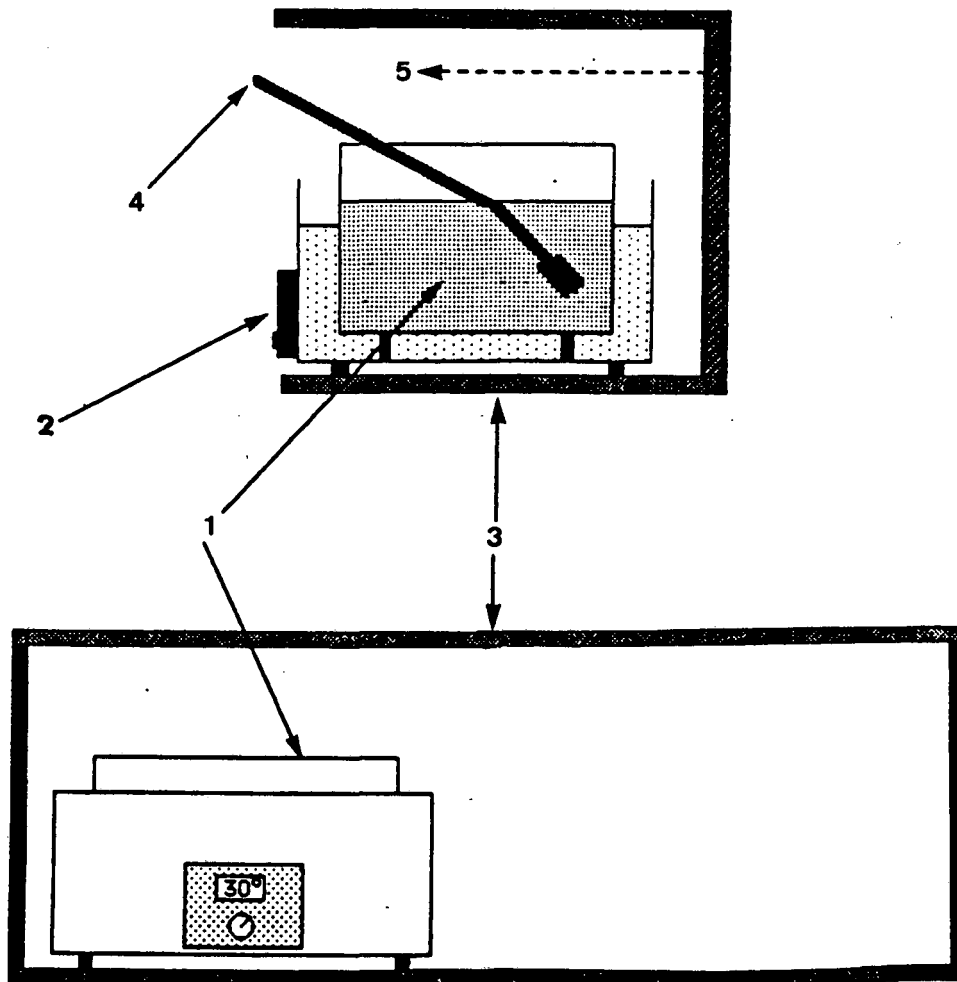


Figura 7. Sistema de fabricación de queso en cámara de flujo laminar. (1) Cuba de acero inoxidable, (2) baño termoestabilizado de agua, (3) cámara flujo laminar, (4) material de agitación y (5) dirección del aire estéril.

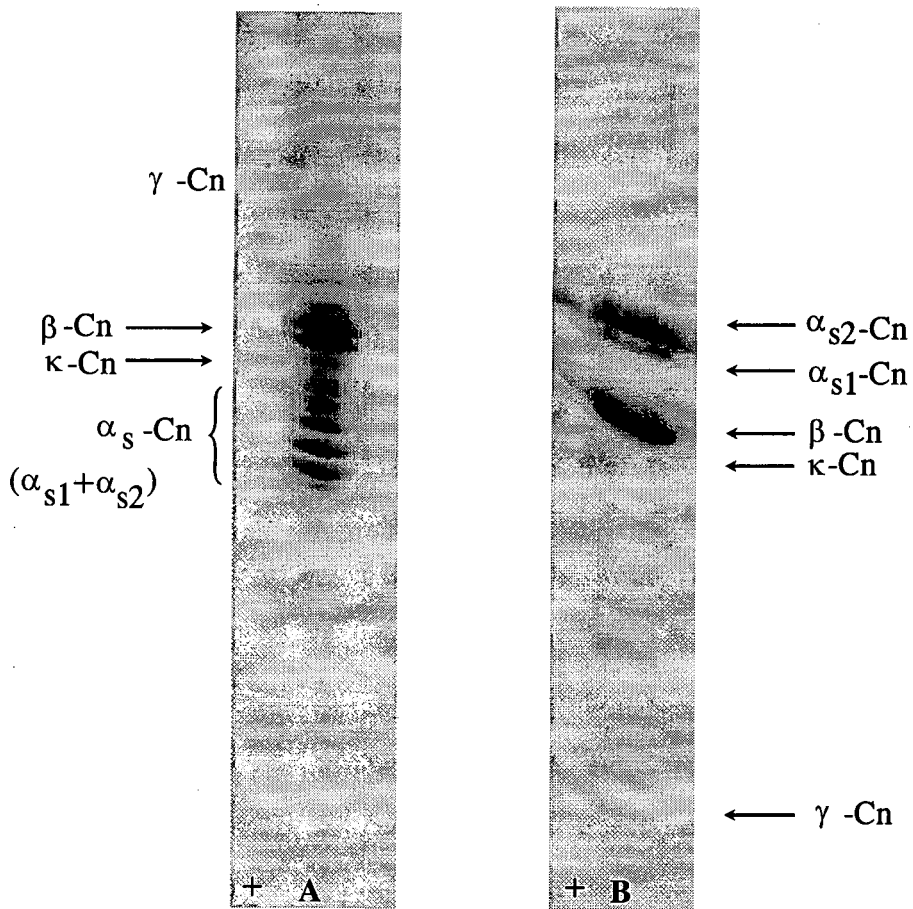


Figura 8. Electroforegramas de la caseína caprina obtenidos en PAGE-urea (A) a pH 8.9 y PAGE-SDS (B).

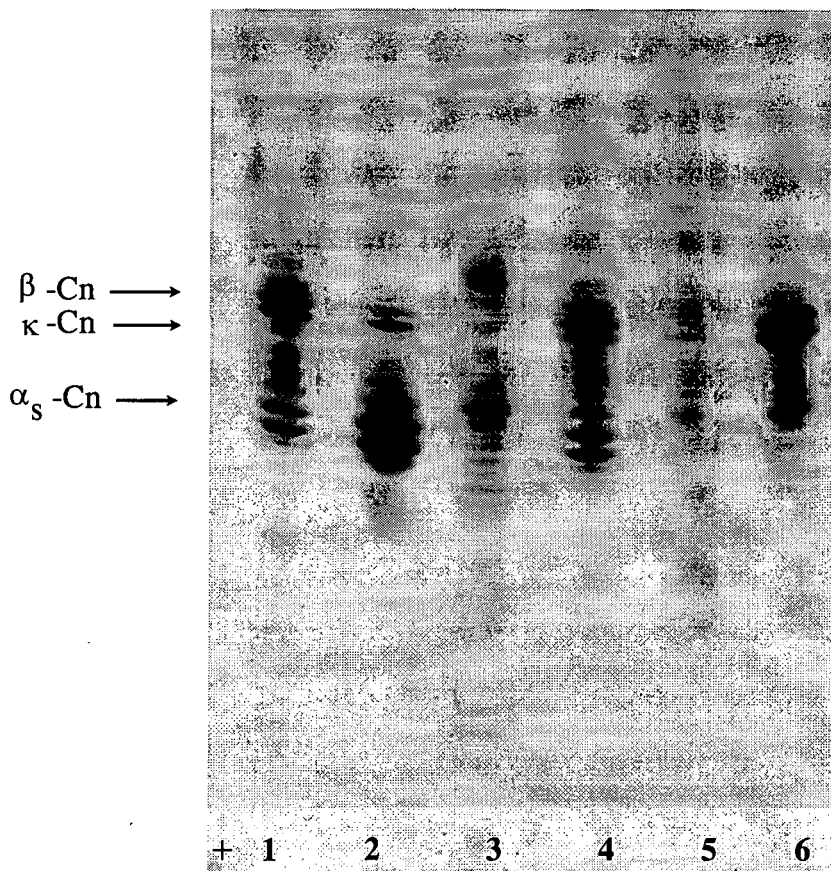


Figura 9. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea pertenecientes a las fracciones caseínicas obtenidas por la técnica de precipitación (Hipp y col., 1955). 1 y 4. Caseína caprina; 2. Precipitado 2; 3 y 5. Sobrenadante 1; 6. Sobrenadante 2.

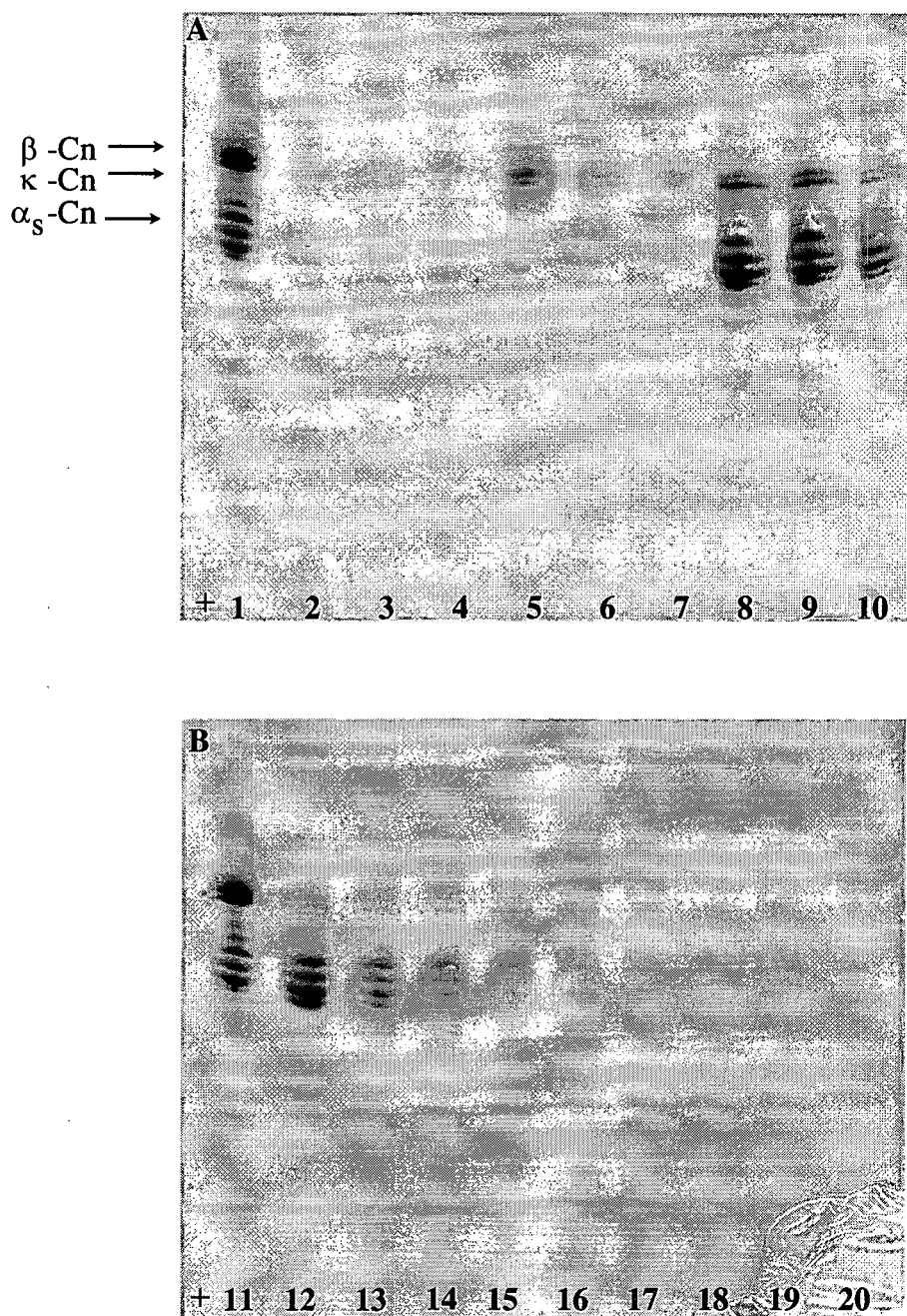


Figura 10. Perfiles PAGE-urea obtenidos en el fraccionamiento de la caseína caprina con DEAE-celulosa. 1 y 11. Caseína caprina; 2-4. Filtrados 0_1 - 0_3 ; 5-7. Filtrados 1_1 - 1_3 ; 8-10. Filtrados 2_1 - 2_3 ; 12-14. Filtrados 3_1 - 3_3 ; 15-17. Filtrados 4_1 - 4_3 ; 18-20. Filtrados 5_1 - 5_3 .

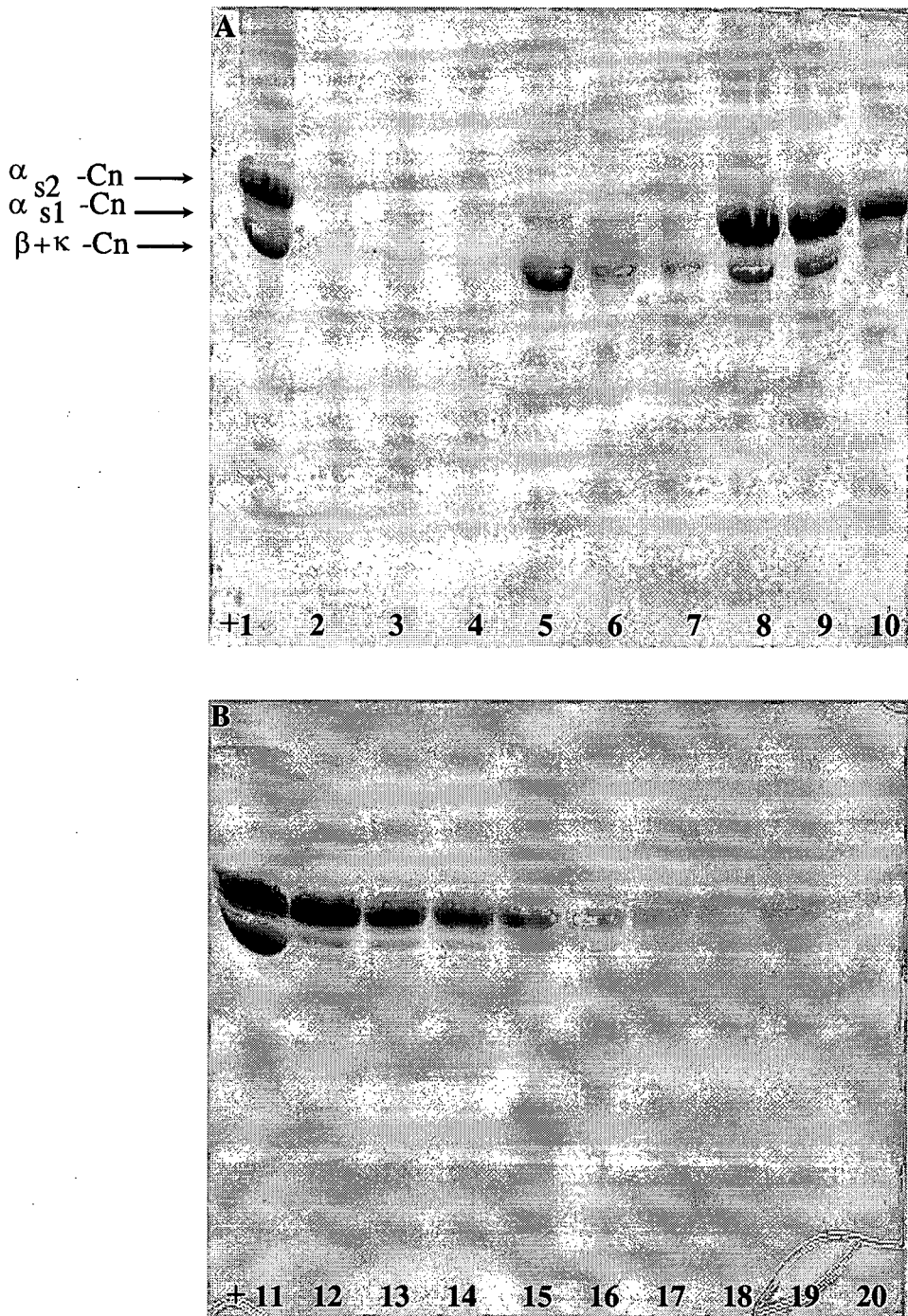


Figura 11. Perfiles PAGE-SDS obtenidos en el fraccionamiento de la caseína caprina con DEAE-celulosa. 1 y 11. Caseína caprina; 2-4. Filtrados 0_1-0_3 ; 5-7. Filtrados 1_1-1_3 ; 8-10. Filtrados 2_1-2_3 ; 12-14. Filtrados 3_1-3_3 ; 15-17. Filtrados 4_1-4_3 ; 18-20. Filtrados 5_1-5_3 .

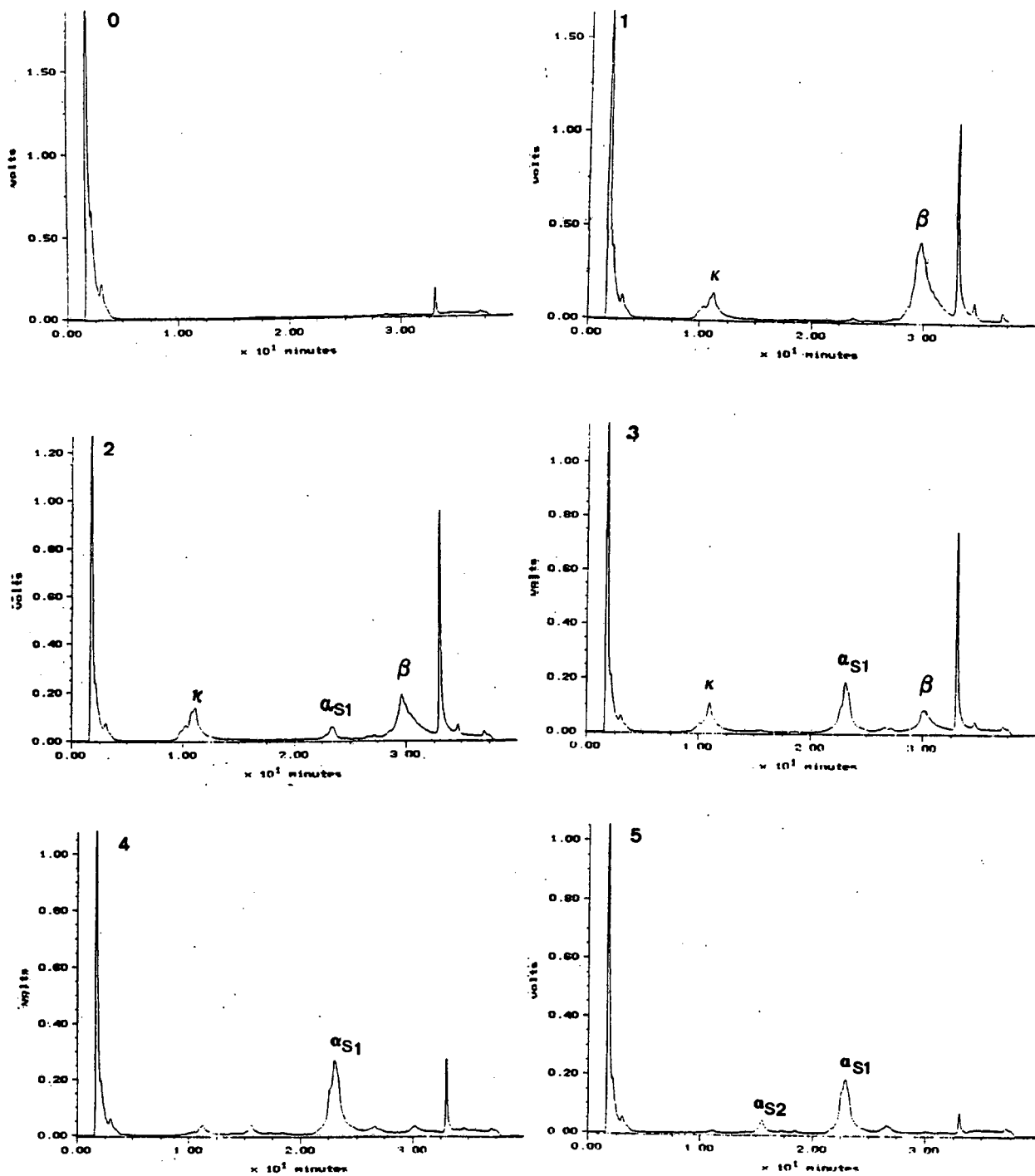


Figura 12. Perfiles cromatográficos obtenidos por RP-HPLC en el fraccionamiento de la caseína caprina con *SP-Sepharose Fast Flow*. 0. Filtrado 0; 1. Filtrados 1₁-1₃; 2. Filtrados 2₁-2₃; 4. Filtrado 2₄; 5. Filtrado 3₁.

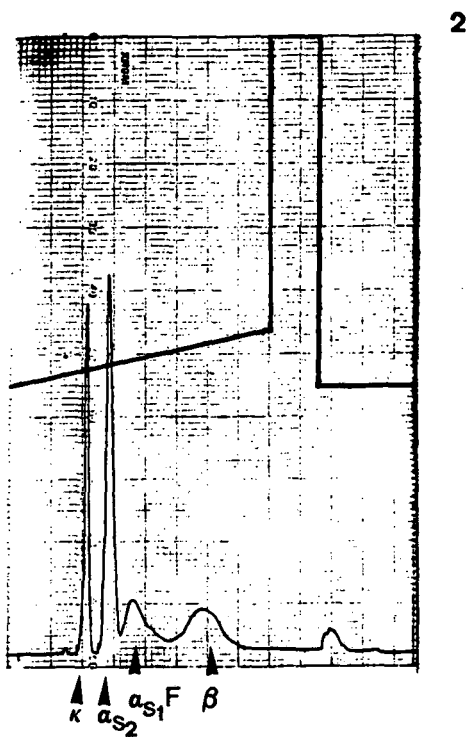
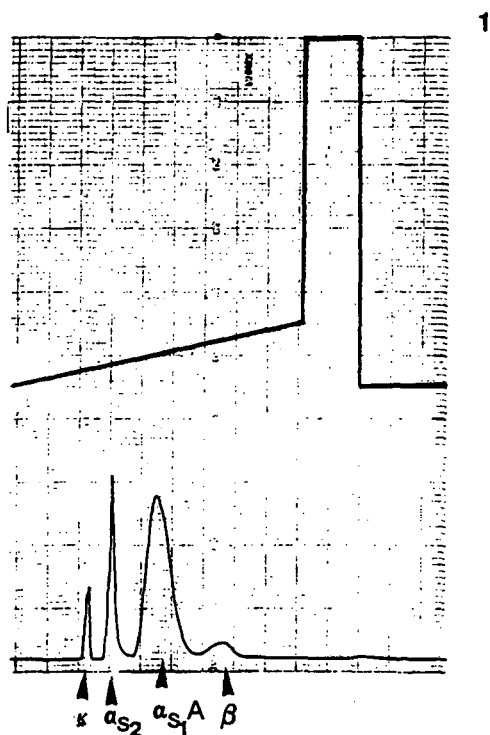


Figura 13. Perfiles cromatográficos obtenidos por FPLC de las fracciones enriquecidas en las caseínas α_{s1} A(1) y F(2).

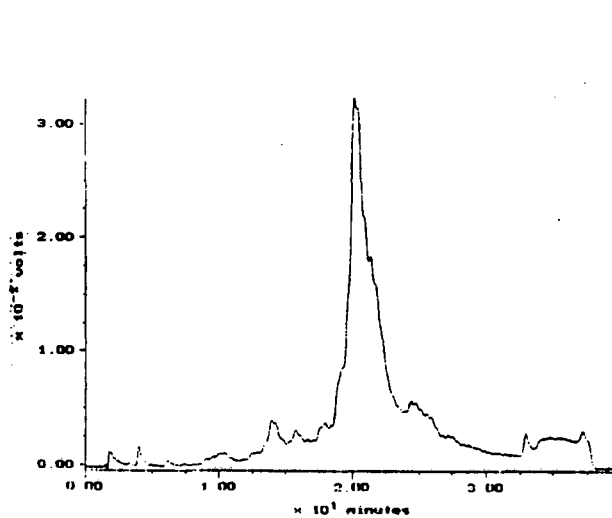
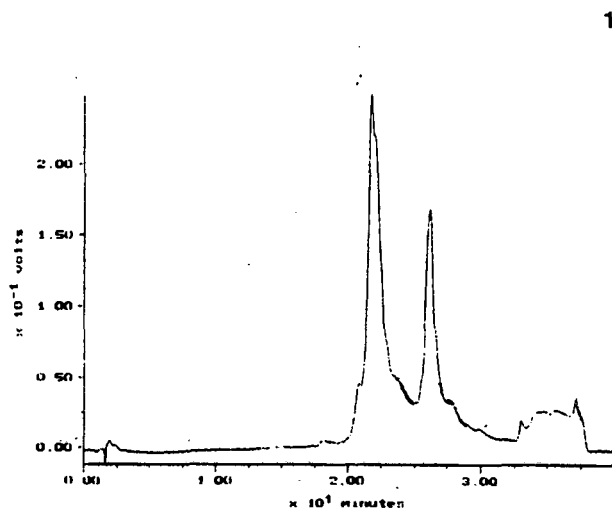


Figura 14. Análisis cromatográfico (RP-HPLC) de las caseínas α_{s1} A(1) y F(2) caprinas purificadas.

FRACCION CASEINICA			
Fracción número	Concentración NaCl (M)	Componentes	Filtrados
0	0	ND*	0 ₁
1	0.12	κ y β -Cn κ y β -Cn κ y β -Cn κ , β y α_{s1} -Cn	1 ₁ 1 ₂ 1 ₃ 1 ₄
2	0.20	α_{s1} , κ y β -Cn α_{s1} -Cn α_{s1} -Cn α_{s1} y α_{s2} -Cn	2 ₁ 2 ₂ 2 ₃ 2 ₄
3	0.35	α_{s2} y α_{s1} -Cn α_{s2} -Cn α_{s2} -Cn	3 ₁ 3 ₂ 3 ₃

* ND (No detectado)

Tabla 12. Composición caseínica de los filtrados obtenidos en el fraccionamiento de la caseína caprina con *SP-sepharose*.

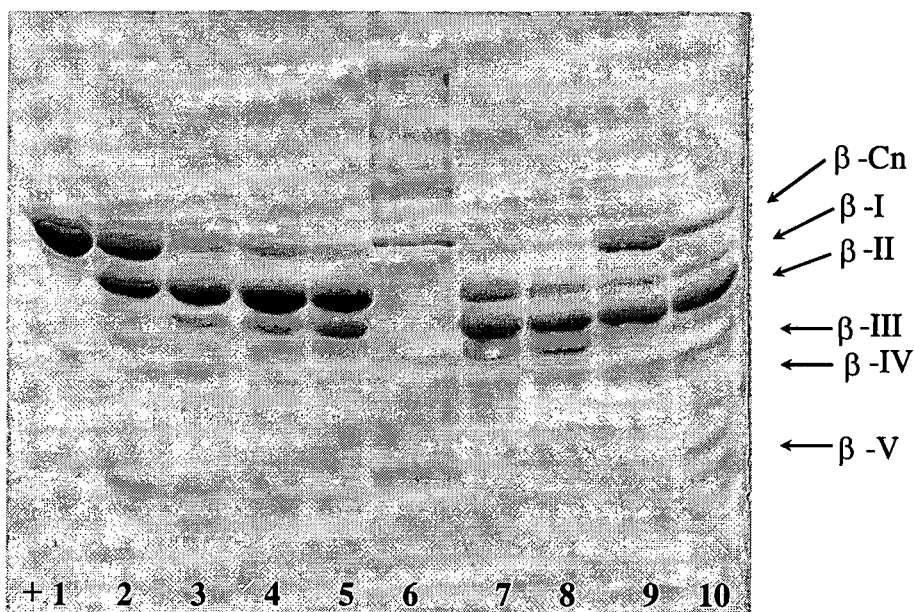


Figura 16. Electroforegramas obtenidos en PAGE-SDS de la fracción insoluble a pH 4.6 provenientes de la hidrólisis de la β -Cn caprina por acción del cuajo. 1. β -Cn; 2-5. β -Cn hidrolizada a pH 5.4 durante 1, 6, 15 y 30 h; 6. Kit de calibración de peso molecular; 7-8. β -Cn hidrolizada a pH 5.4 durante 48 y 72 h; 9. β -Cn hidrolizada a pH 3.8 y 30 h.

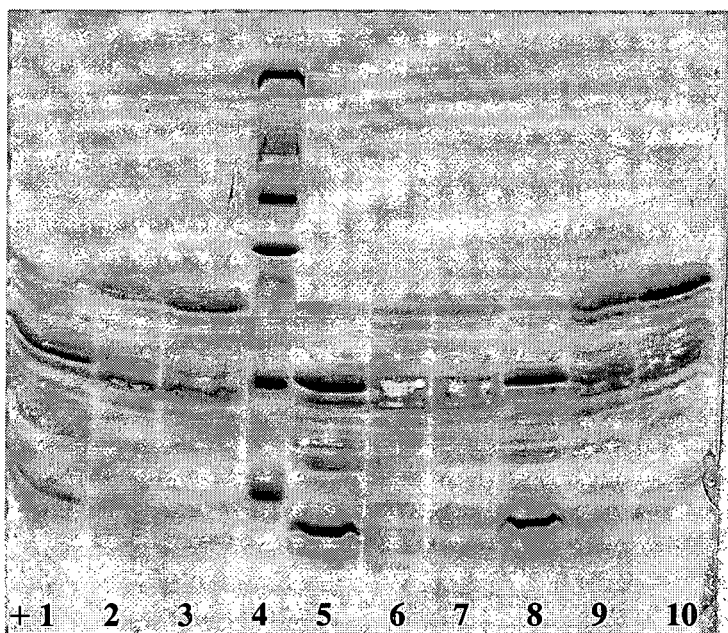


Figura 17. Electroforegramas obtenidos en PAGE-SDS de la fracción soluble a pH 4.6 provenientes de la hidrólisis de la β -Cn caprina por acción del cuajo a pH 3.8 (1-3), pH 5.4 (5-7), y pH 6.6 (8-10) durante 1, 6 y 15 h, respectivamente. (4) Kit de calibración de peso molecular.

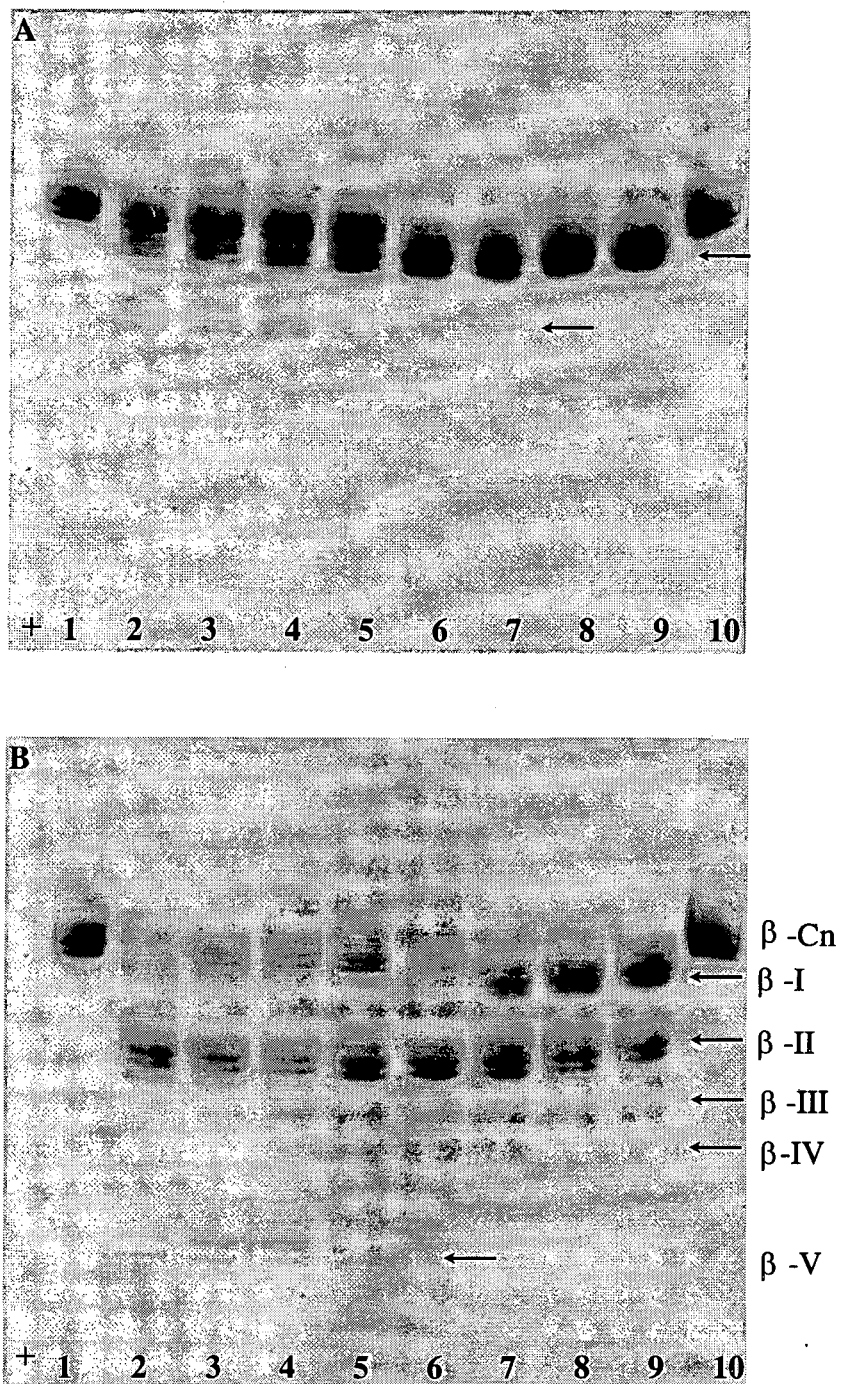


Figura 18. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de la β -Cn caprina hidrolizada por la quimosina (A) y pepsina (B) bovinas a 30°C durante 15 h. 1 y 10. β -Cn; 2-9. β -Cn hidrolizada a pH 3.8, 4.2, 4.6, 5.0, 5.4, 5.8, 6.2 y 6.6, respectivamente.

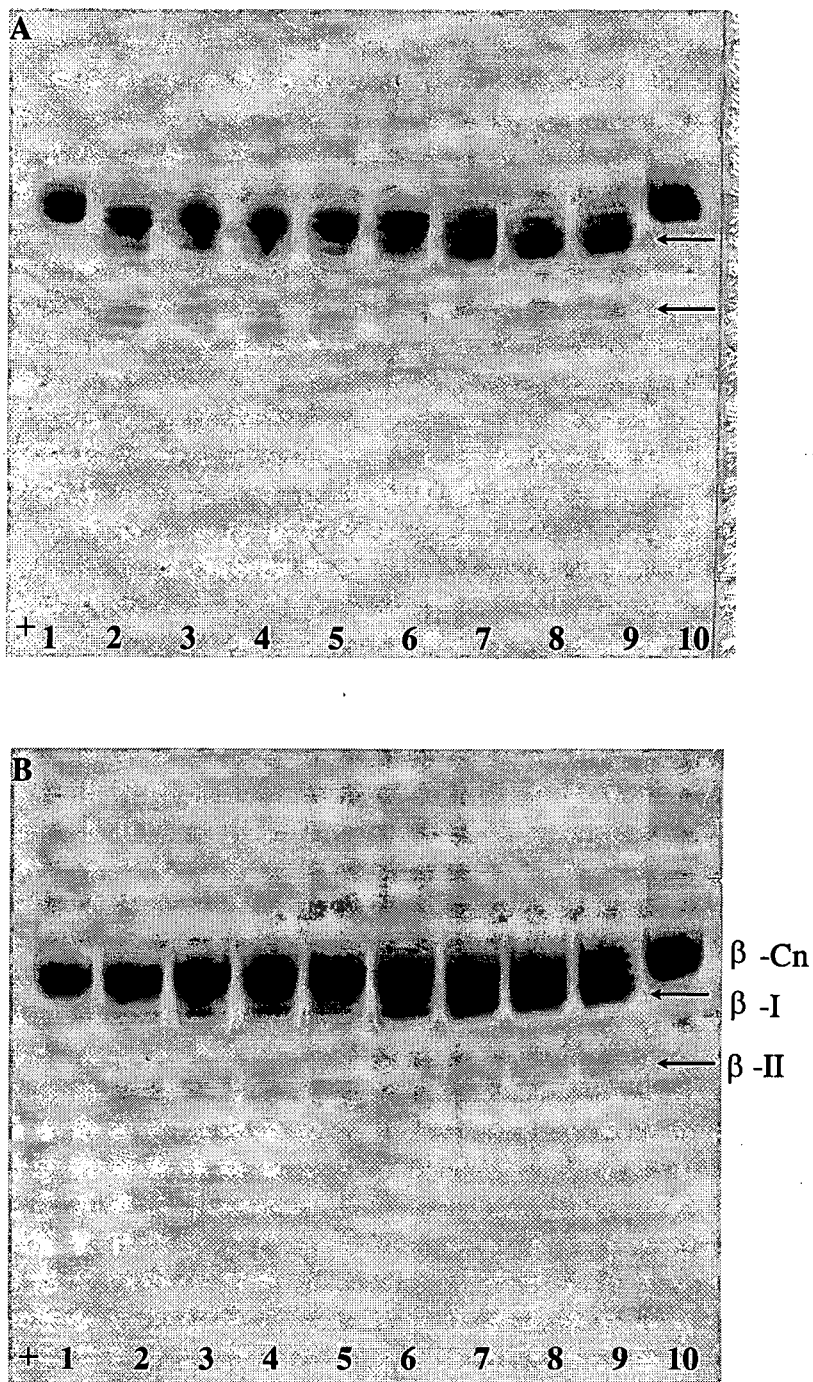


Figura 19. Electroforegramas obtenidos por PAGE-urea de la β -Cn caprina hidrolizada por el cuajo a nivel de 4×10^3 (A) y 1.2×10^3 (B) UC/mL a 30°C durante 15 h. 1 y 10. β -Cn; 2-9. β -Cn hidrolizada a pH 3.8, 4.2, 4.6, 5.0, 5.4, 5.8, 6.2 y 6.6, respectivamente.

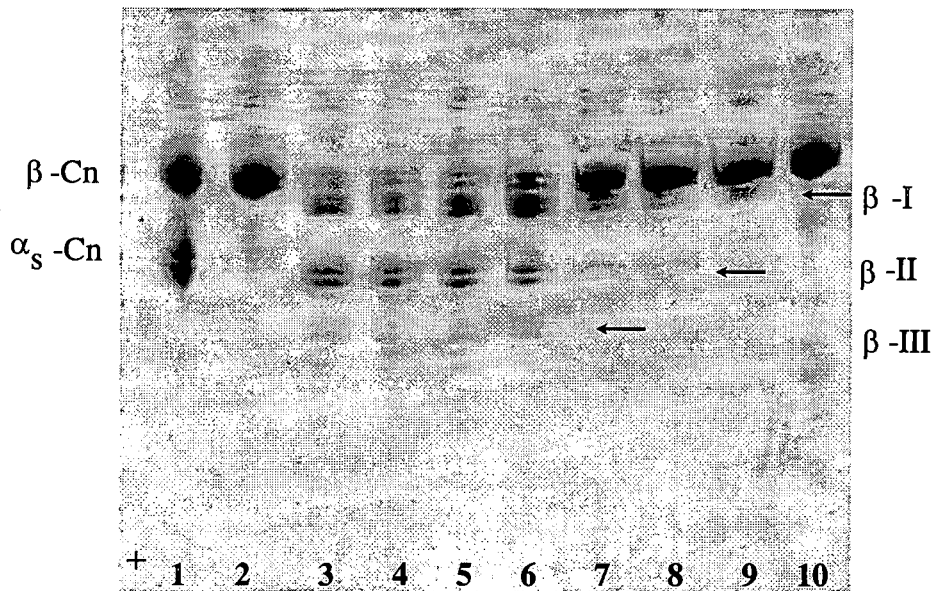


Figura 20. Electroforegramas obtenidos por PAGE-urea de la β -Cn caprina hidrolizada por el cuajo a pH 5.4, 30°C y 15 h, adicionada de NaCl. 1. Caseína caprina; 2 y 10. β -Cn; 3-9. β -Cn adicionada de 0, 0.5, 1, 2.5, 5, 10 y 15% (p/v) de NaCl, respectivamente.

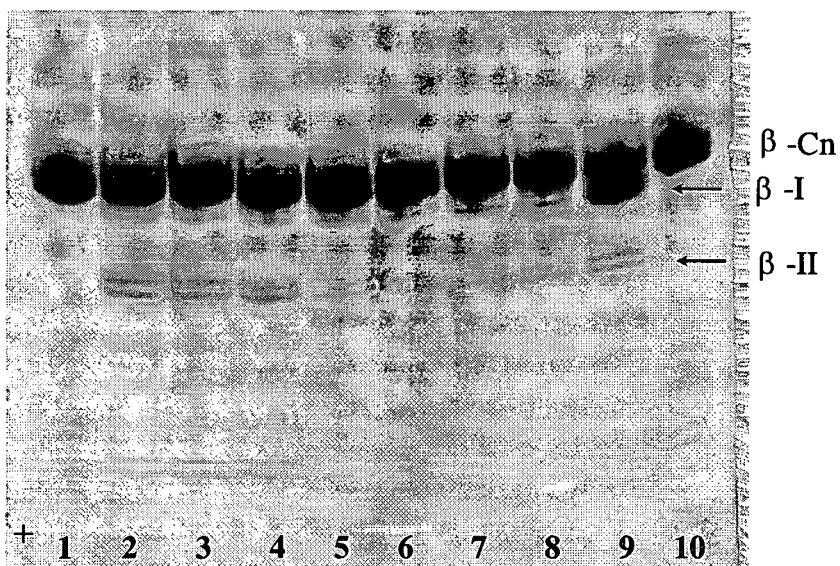


Figura 21. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de la β -Cn caprina hidrolizada por el cuajo en presencia de NaCl (5%, p/v), 30°C y 15 h a diferentes pH. 1 y 10. β -Cn; 2-9. β -Cn hidrolizada a pH 3.8, 4.2, 4.6, 5.0, 5.4, 5.8, 6.2 y 6.6, respectivamente.



Figura 22. Estructura primaria de la β -Cn caprina (Roberts y col., 1992) comparada con la β -Cn A² bovina (Ribadeau-Dumas y col., 1972; Grosclaude y col., 1973; Carles y col., 1988). En la secuencia bovina sólo los residuos que difieren de la secuencia caprina aparecen en trazo *itálico*. Las flechas indican los enlaces peptídicos susceptibles a la hidrólisis de la quimosina en la β -Cn bovina (Creamer, 1976; Pélissier y col., 1974; Visser y Slangen, 1977). Los asteriscos indican la delección del dipéptido en la especie caprina.

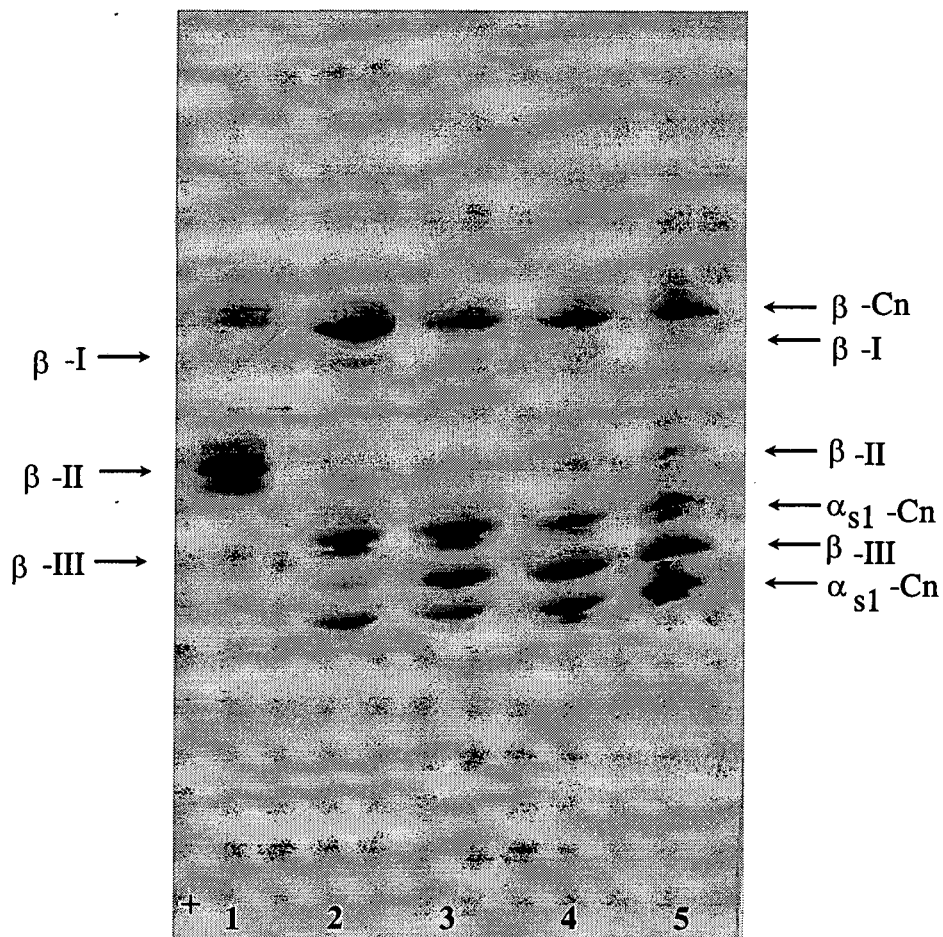


Figura 23. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de los productos de degradación provenientes de la hidrólisis de las β -Cn caprina y bovina a pH 5.4 por los enzimas del cuajo. 1. β -Cn hidrolizada durante 15 h; 2-5. Caseína bovina hidrolizada durante 6, 15, 30 y 48 h.

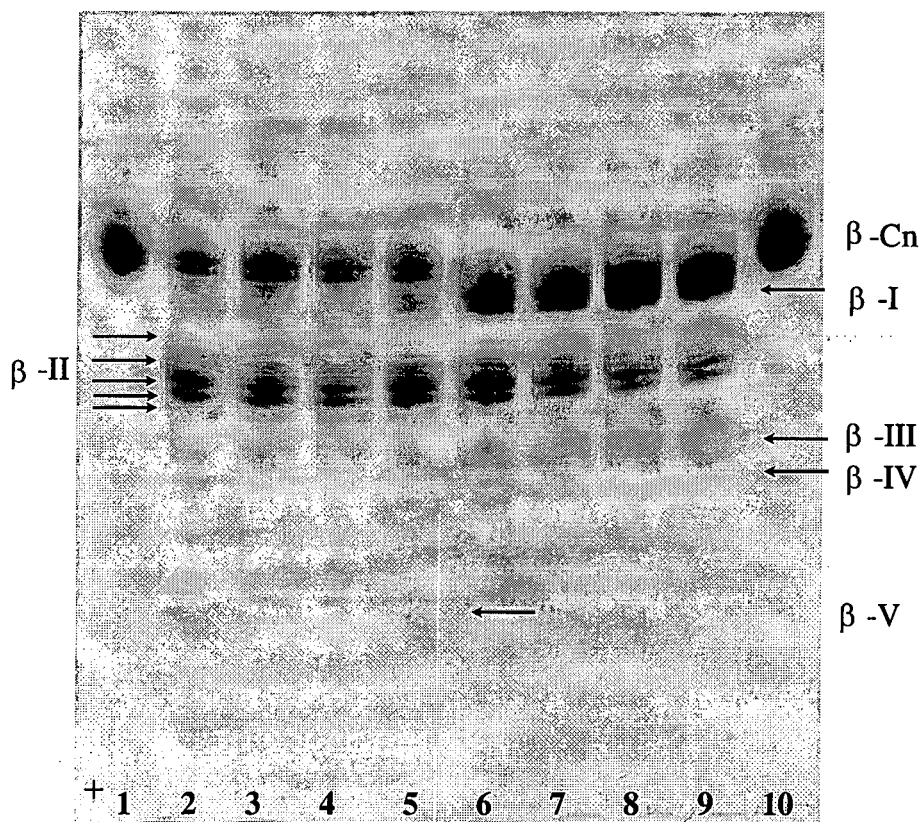


Figura 24. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de la β -Cn caprina con múltiples grados de fosforilación hidrolizada por el cuajo a 30°C durante 48 h a diferentes pH. 1 y 10. β -cn caprina; 2-9. β -Cn hidrolizada a pH 3.8, 4.2, 4.6, 5.0, 5.4, 5.8, 6.2 y 6.6, respectivamente.

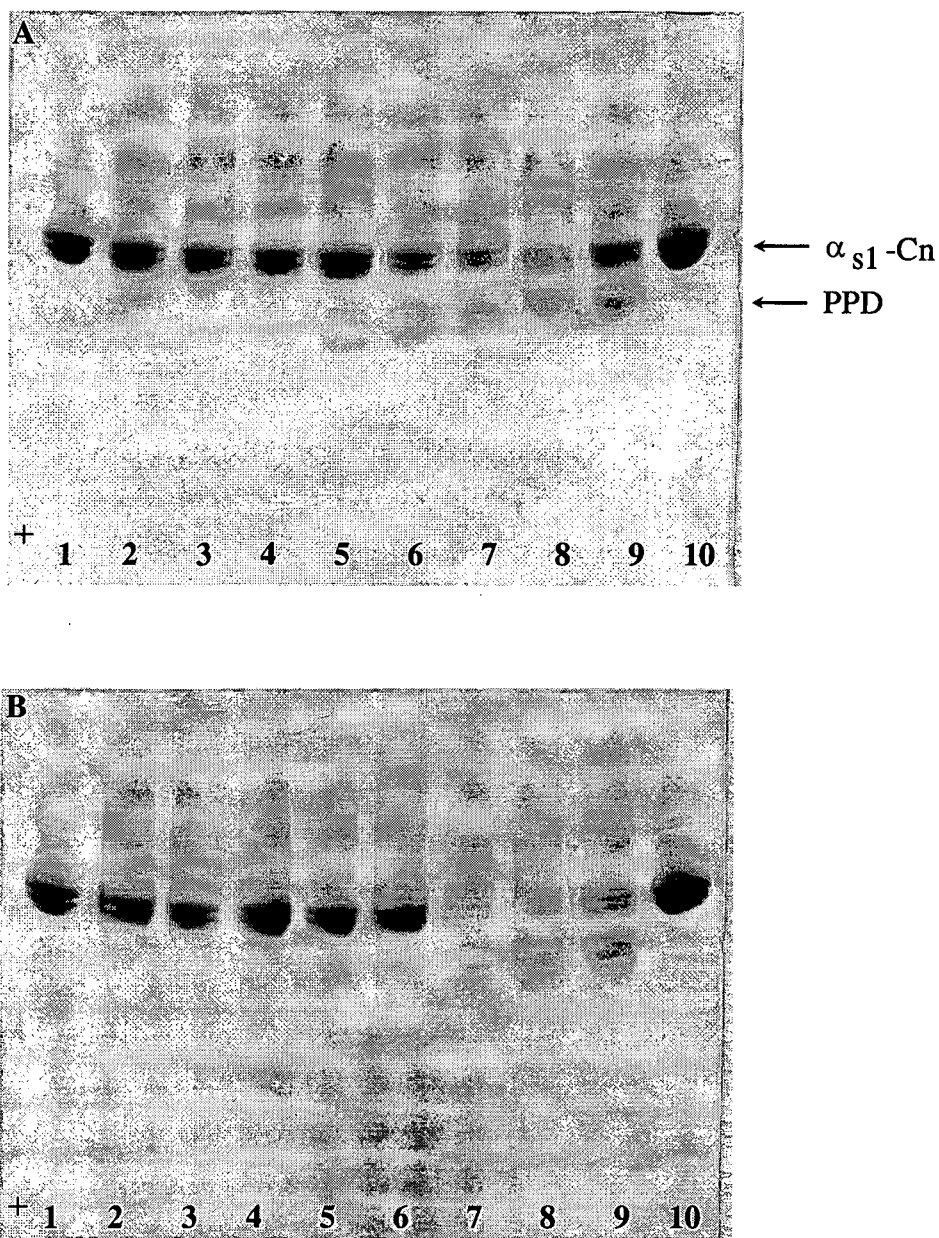


Figura 25. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de la α_{s1} -Cn caprina hidrolizada por el cuajo (0.1 UC/mL) a 30°C durante 4 h(A) y 6 h(B) a diferentes pH. 1 y 10. α_{s1} -Cn; 2-8. α_{s1} -Cn hidrolizada a pH 3.8, 4.2, 4.6, 5.0, 5.4, 5.8, 6.2 y 6.6, respectivamente. PPD. Producto de degradación primario procedente de la α_{s1} -Cn.

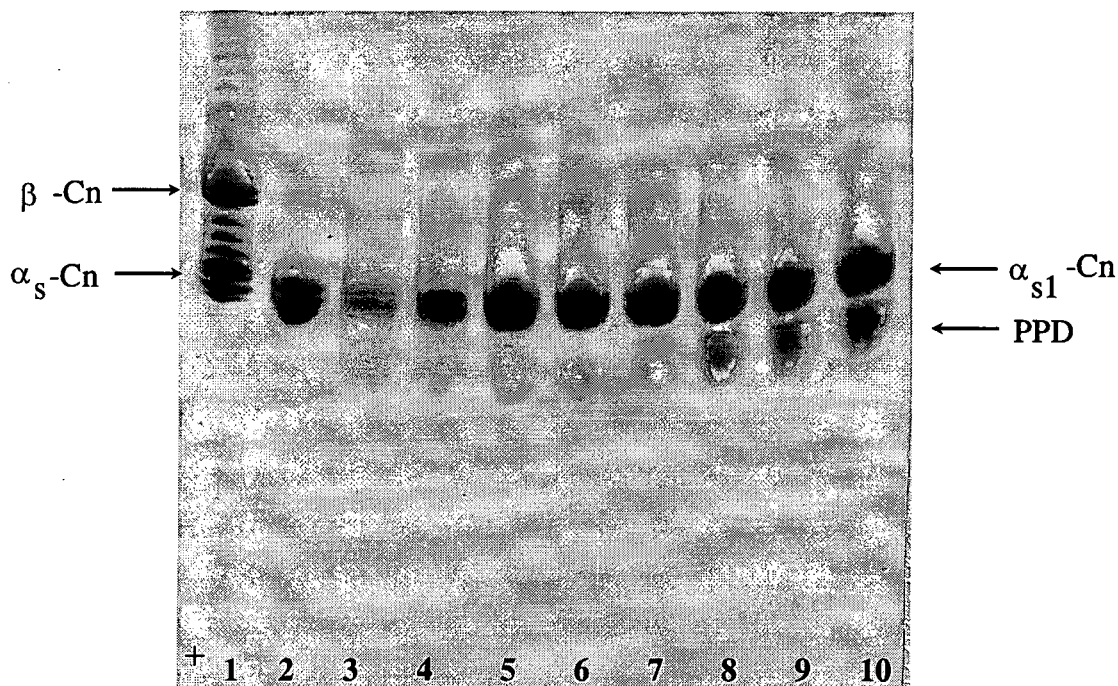


Figura 26. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de la α_{s1} -Cn caprina hidrolizada por el cuajo (12 UC/mL) a 30°C durante 1 h a diferentes pH. 1. Caseína caprina; 2. α_{s1} -Cn; 3-10. α_{s1} -Cn hidrolizada a pH 3.8, 4.2, 4.6, 5.0, 5.4, 5.8, 6.2 y 6.6, respectivamente.

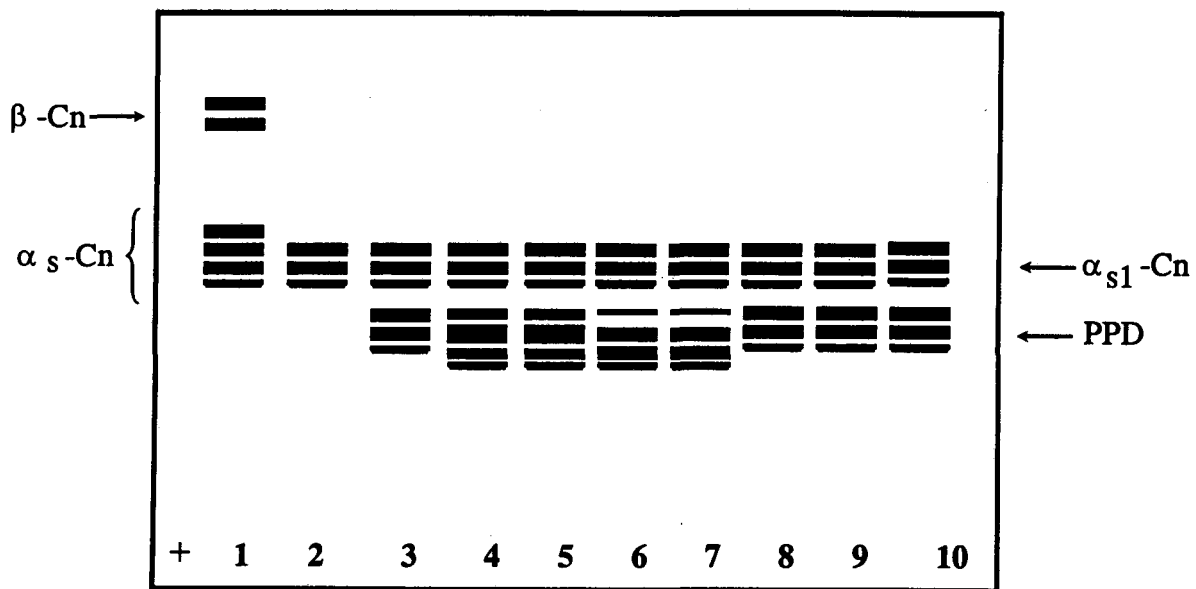


Figura 27. Gráfico de los electroforegramas mostrados en la Figura 26.

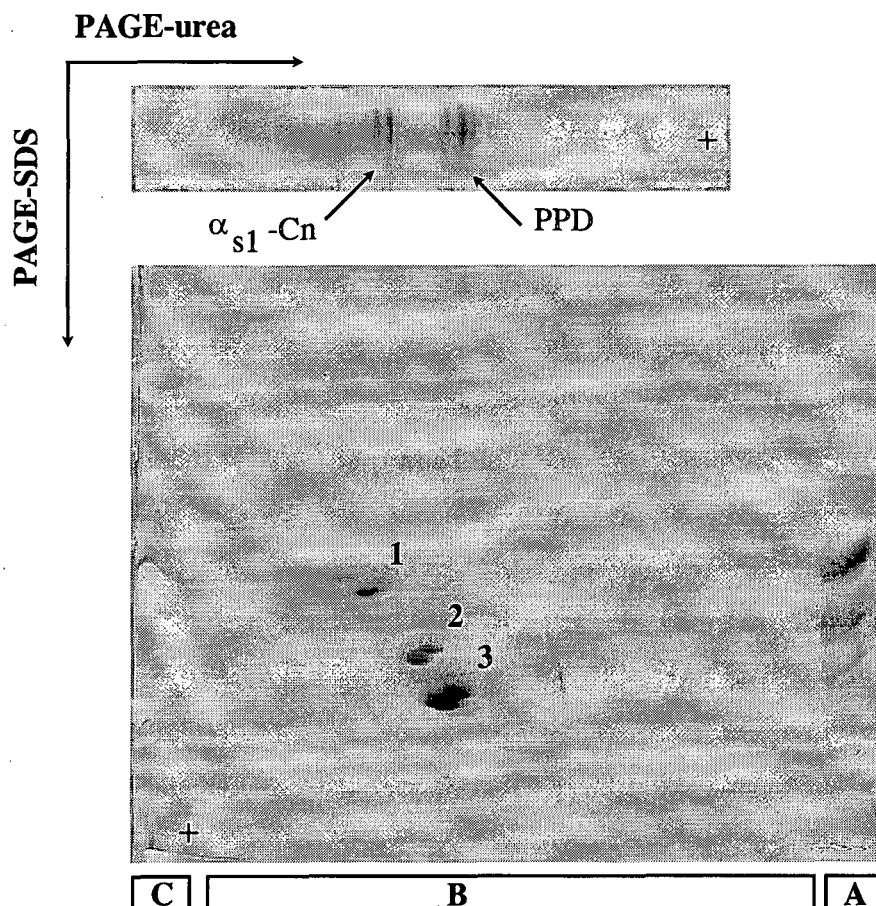


Figura 28. Electroforesis bidimensional de la α_{s1} -Cn caprina hidrolizada por el cuajo a pH 5.4 y 30°C.
 A. PAGE-SDS proveniente del hidrolizado de la α_{s1} -Cn;
 B. Electroforesis bidimensional del hidrolizado de la α_{s1} -Cn (1. α_{s1} -Cn residual; 2 y 3. PPD);
 C. PAGE-SDS del kit marcador de peso molecular.

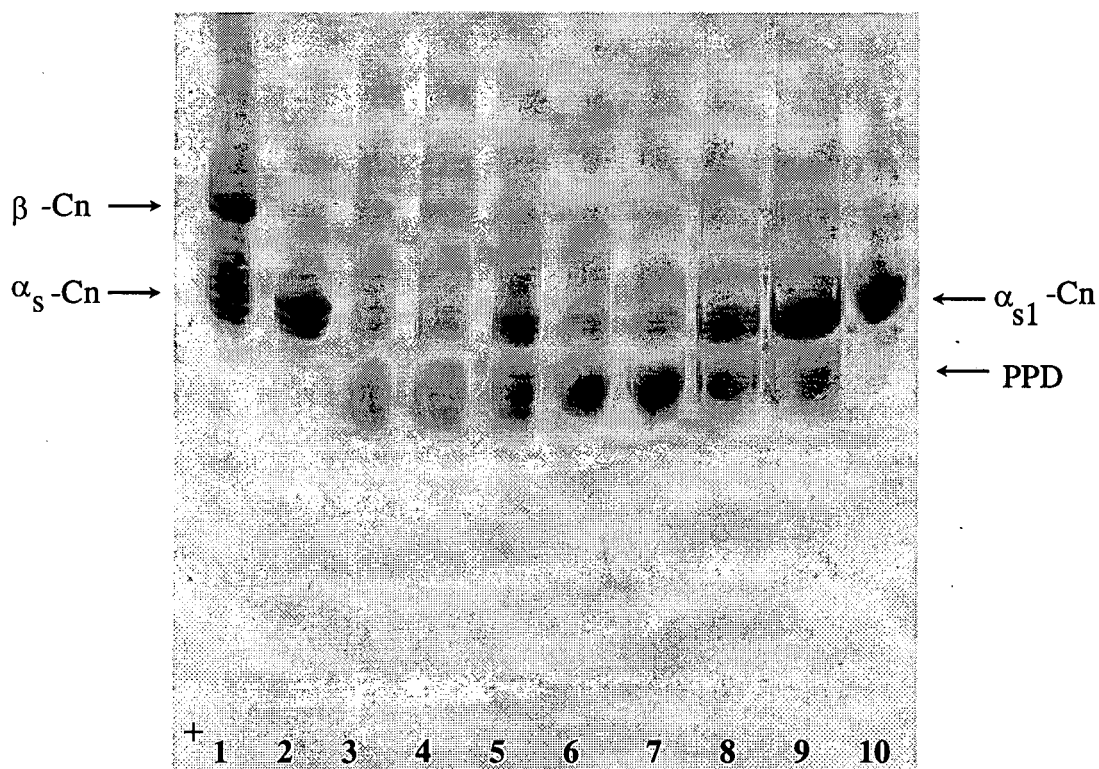


Figura 29. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de la α_{s1} -Cn caprina hidrolizada por el cuajo a pH 5.4, 30°C y 6 h, adicionada de NaCl. 1 y 9. α_{s1} -Cn; 2-8. α_{s1} -Cn adicionada de 0. 0.5, 1, 2.5, 5, 10 y 15% (p/v) de NaCl, respectivamente.

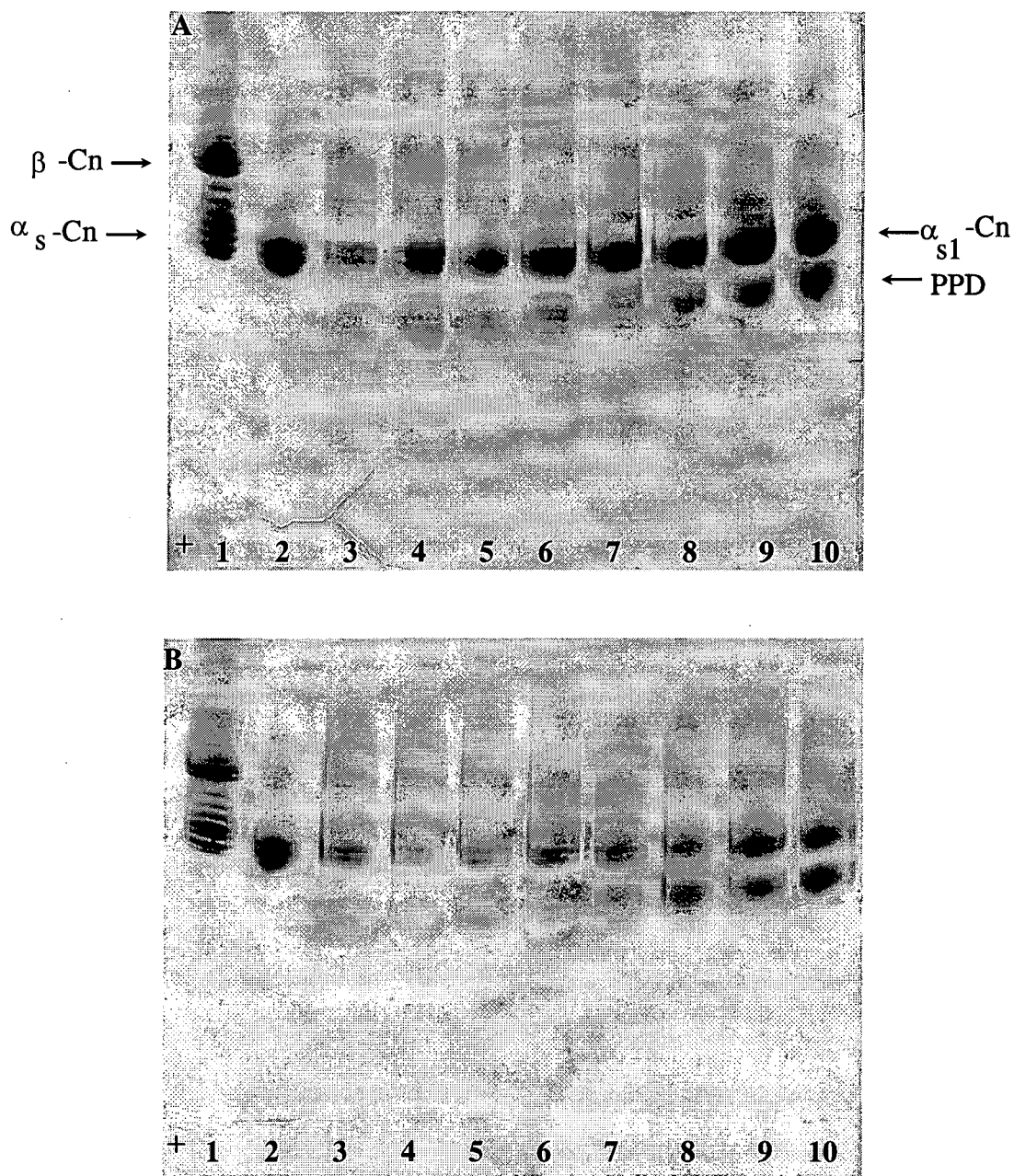


Figura 30. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de la α_{s1} -Cn caprina hidrolizada por el cuajo en presencia de NaCl (5%, p/v), 30°C durante 2(A) y 4(B) h a diferentes pH. 1. Caseína caprina; 2. α_{s1} -Cn; 3-10. α_{s1} -Cn hidrolizada a pH 3.8, 4.2, 4.6, 5.0, 5.4, 5.8, 6.2 y 6.6, respectivamente.

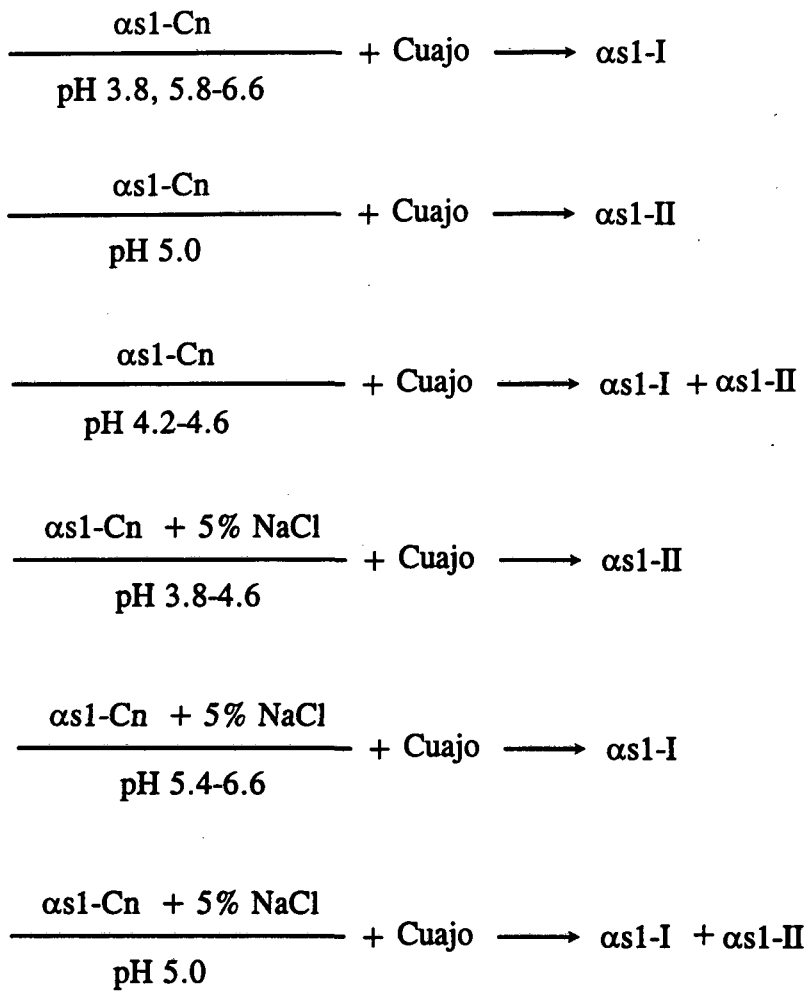


Figura 31. Secuencia de formación de productos de degradación a partir de la α_1 -Cn en diferentes condiciones iónicas.

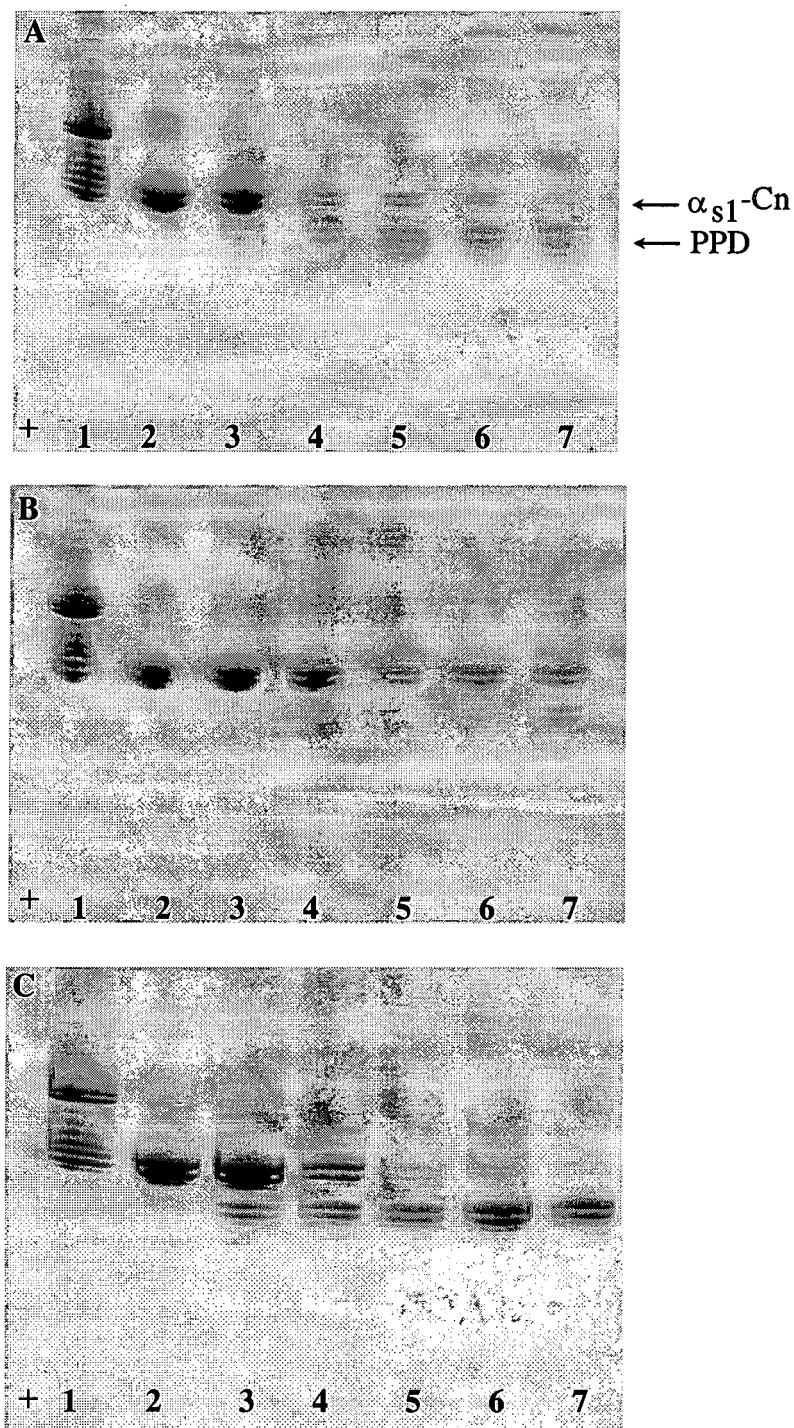


Figura 32. Electroforegramas obtenidos en PAGE-urea de la α_{s1} -Cn caprina hidrolizada por el cuajo (A), quimosina (B) y pepsina (C) bovinos a 30°C, pH 6.6 y 0.1 UC/mL durante diferentes períodos de tiempo. 1 y 7. α_{s1} -Cn; 2-6. α_{s1} -Cn hidrolizada durante 0.5, 1, 2, 4 y 6 h, respectivamente.

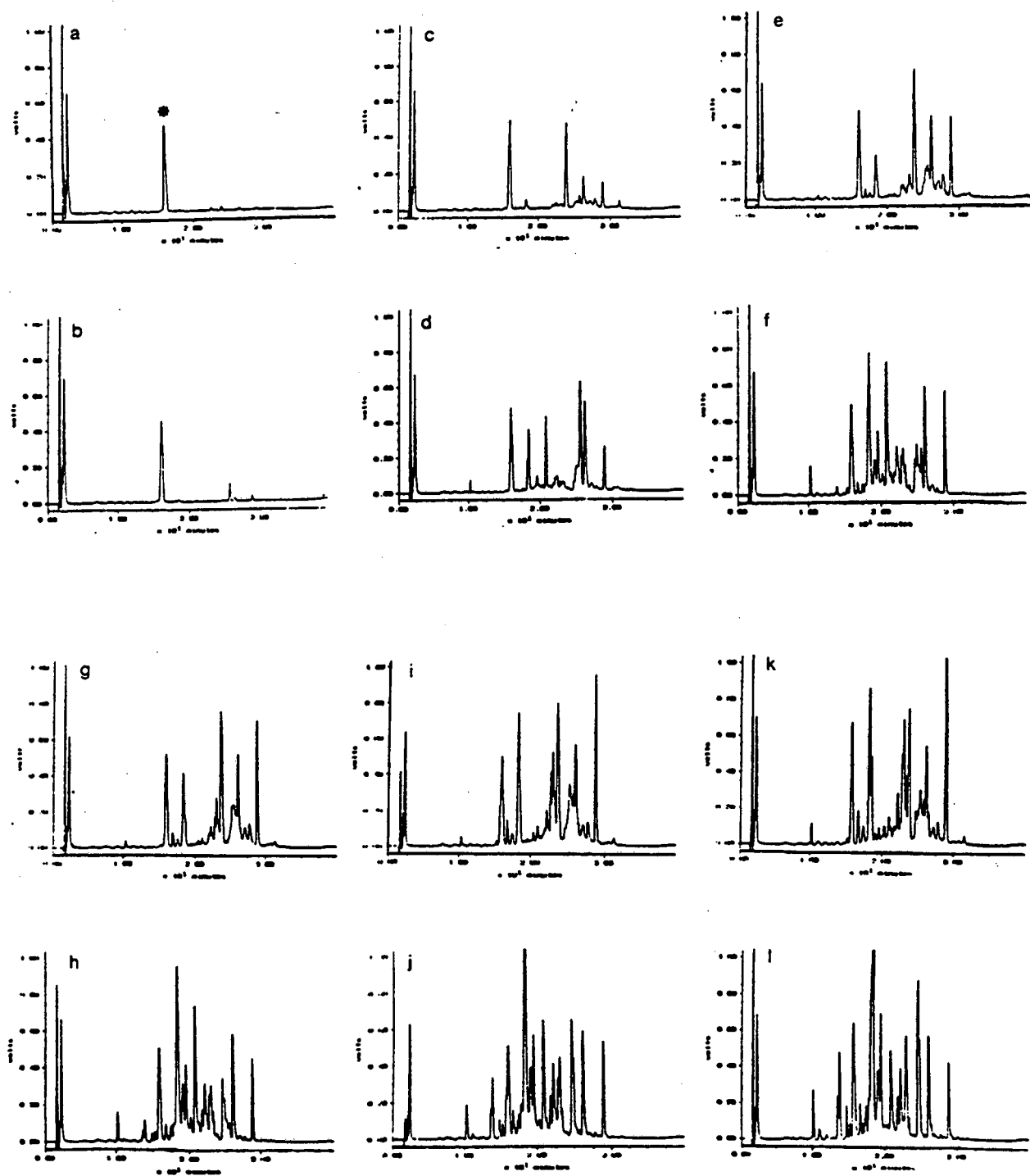


Figura 33. Perfiles de elución obtenidos por RP-HPLC de los péptidos solubles a pH 4.6 producidos a partir de las α_{s1} -Cn A y F por la quimosina a pH 5.2 en presencia de NaCl (3%, p/v) en los períodos de incubación de 0, 1, 3, 6, 12 y 24 h (a, c, e, g, i, k para la variante F, y b, d, f, h, j, l para la variante A). *Benzoato sódico.

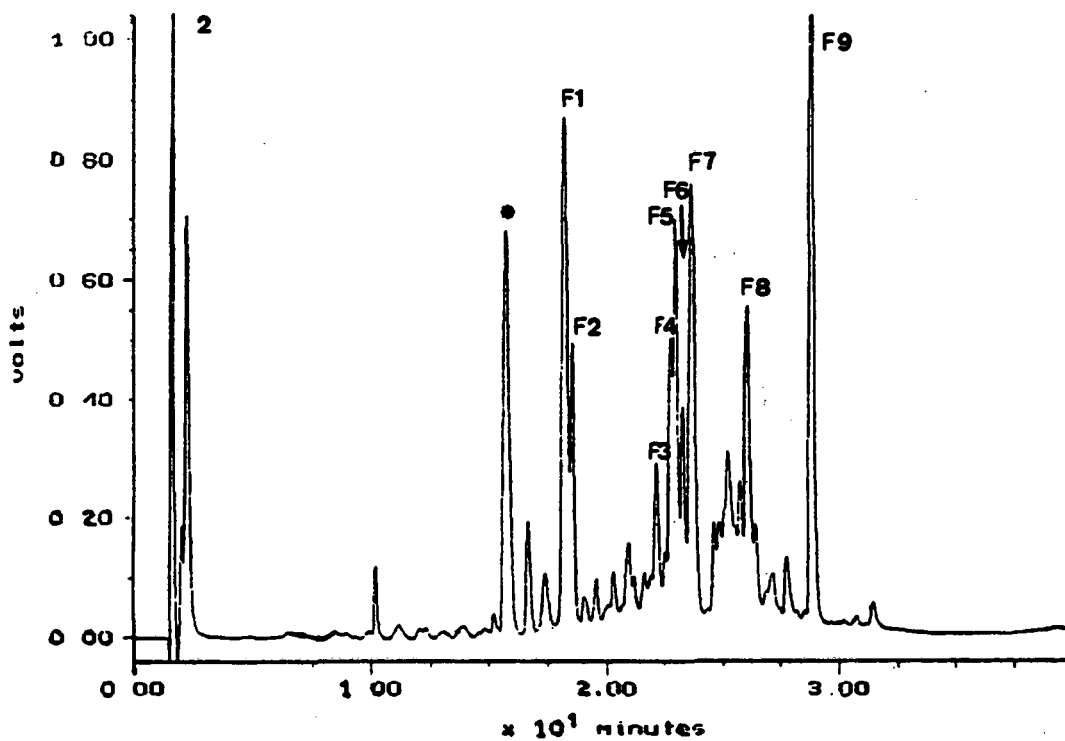
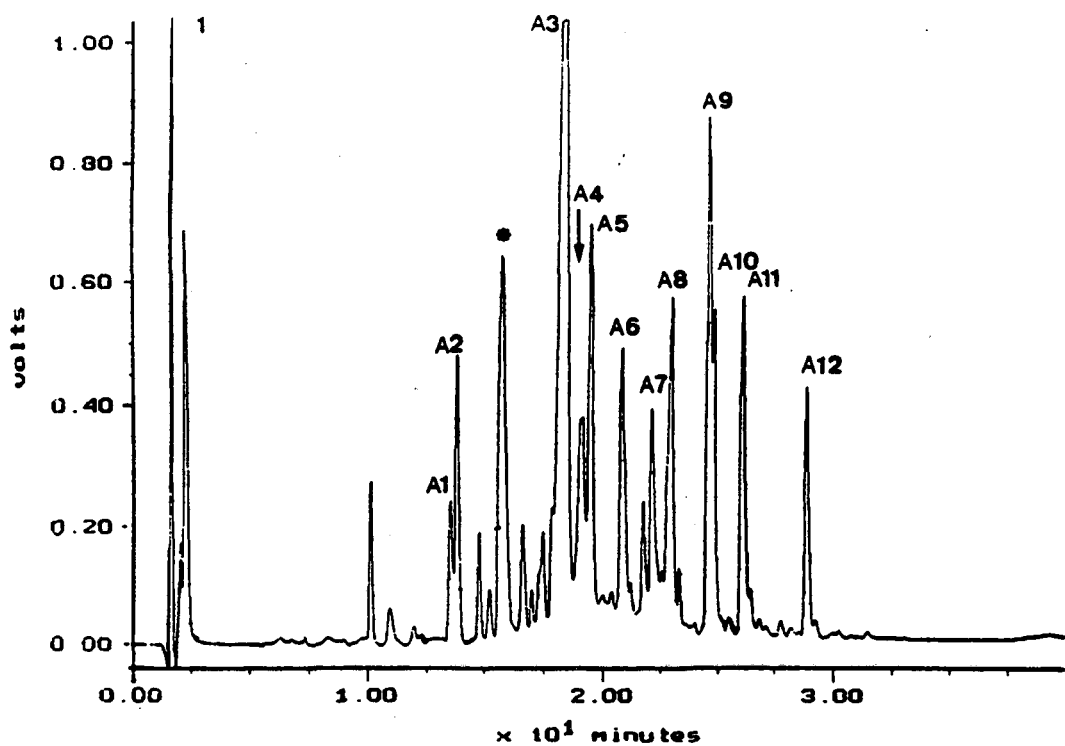


Figura 34. Perfiles cromatográficos obtenidos por RP-HPLC de los péptidos solubles a pH 4.6 correspondientes a las α_{s1} -Cn A(1) y F(2) caprinas hidrolizadas por la quimosina a 30°C durante 24 h. *Benzonato sódico.

Pico HPLC n°	Secuencia determinada VARIANTE A	Identidad Probable	Pico HPLC n°	Secuencia determinada VARIANTE F	Identidad Probable
A1	L.G.Y	f92-94	F1	D.A.Y.P.*	f120-127
A2	K.E.D.V.P.S.E.R.Y	f83-91		L.R.F	f21-23
A3	D.A.Y.P.S.G.A.W	f157-164			
A4	L.R.F	f21-23			
A5	I.Q.K.E.D.V.P.S.R.Y.L.*	f81-?	F2	R.P.K.H.*	f1-?
	R.K.E.N.I.N.E.L.S.K.D.I	f33-44	F7	R.P.K.H.P.I.N.H.Q.G.L.S.P.E.V.L.N.E.N.L.L.R.F.	f1-23
	R.P.K.H.P.I.H.Q.G.L.S.P.L.E.V.L	f1-16			
A6	H.S.M.K.E.G.N.P.A.H.Q.K.Q.P.M.I.A.V.N.Q.E.L	f121-142			
A7	K.I.V.P.K.S.A.E.E.Q.L.H.S.M...N.P.A.H.Q.P.Q.P.*	f110-142			
	N.L.L.R.F	f19-23			
	K.K.Y.N.V.P.G.L.E.*	f102-120			
A8	A.Y.F.Y.P.Q.L	f143-149	F2	K.K.Y.N.*	f65-?
A9	S.D.I.P.N.P.I.G.S.E.N.S.G.E...G.K.T.T.M.P.L.W	f180-199	F3	K.K.Y.N.V.P.Q.L.E.I.V.P.K.S.A.G.E.Q.L	f65-83
A10	Y.Y.L.P.L.G.T.Q.Y.T.D.A.P.S.F	f165-179	F4	K.K.Y.N.V.P.P.Q.L.E.I.V.P.K.S.A.*	f65-?
A11	V.V.A.P.F.F.E.V.F	f24-32	F6	K.K.Y.N.V.P.Q.L.E.I.V.P.K.S...M.I.A.V.N.Q.E.L	f65-105
A12	V.V.A.R.F	f24-28	F5	A.Y.F.*	f106-112
	Y.Y.L.P.L.G.T.Q.Y.F.D.*	f165-199	F8	V.V.A.P.F.F.E.V.F	f24-32
			F9	Y.Y.L.P.L.G.T.Q.Y.T.D.A.P.S.D.I.P.N.P.*	f128-162

Tabla 13. Identidad de los péptidos solubles a pH 4.6 producidos en la hidrólisis de las α_1 -Cn A y F por la acción de la quimosina a pH 5.2 adicionada de NaCl (3%, p/v). * Secuencia incompleta.

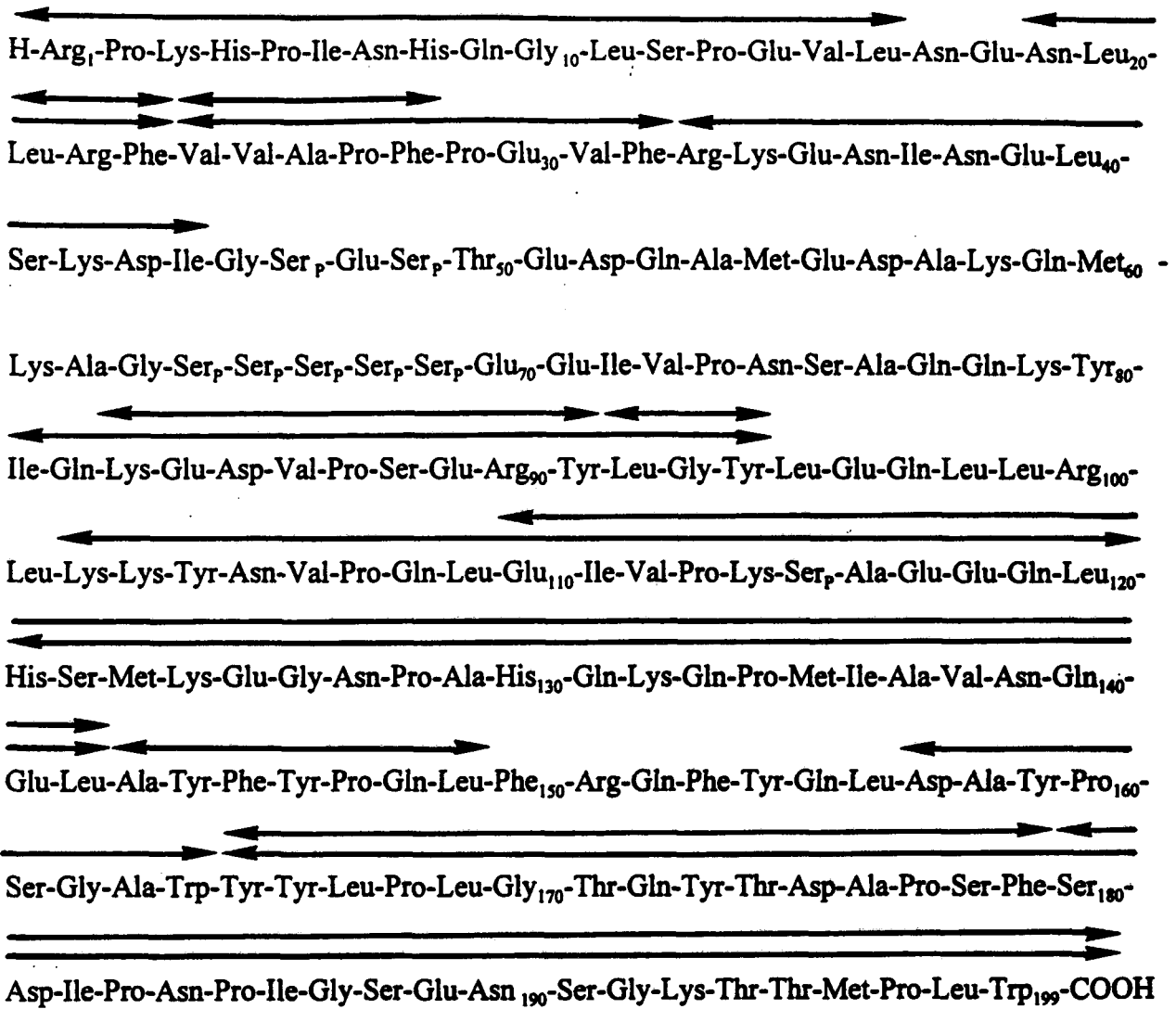


Figura 35. Secuencias aminoacídicas de la α_1 -Cn A 8-P(1) y α_1 -Cn F 3-P(2) (Brignon y col., 1989, 1990) mostrando la posición de los péptidos solubles a pH 4.6 producidos por la quimosina.



Figura 35. (Continuación). * Secuencia incompleta.

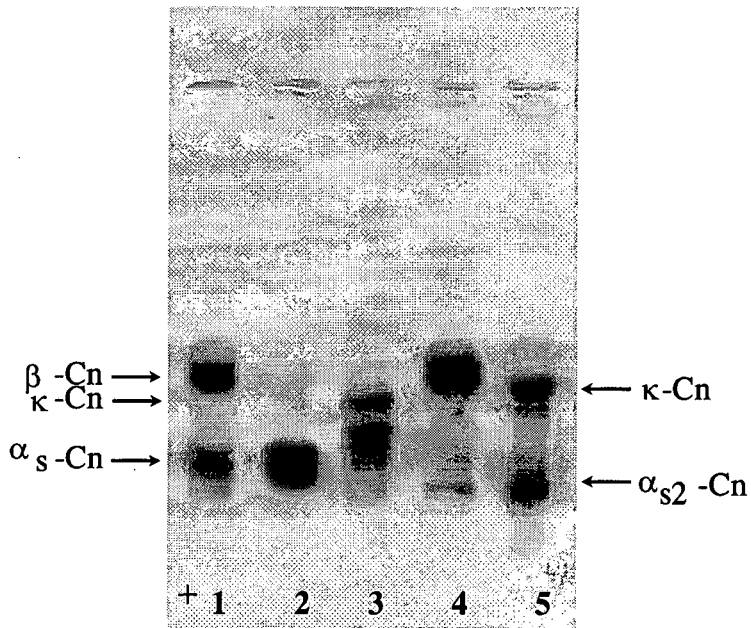


Figura 36. Perfil electroforético de la caseína caprina obtenido en PAAGE a pH 8.6. 1 y 4. Caseína caprina conteniendo las variantes A y F de la α_{s1} -Cn, respectivamente; 2. α_{s1} -Cn A; 3. α_{s1} -Cn F; 5. κ -Cn + α_{s2} -Cn.

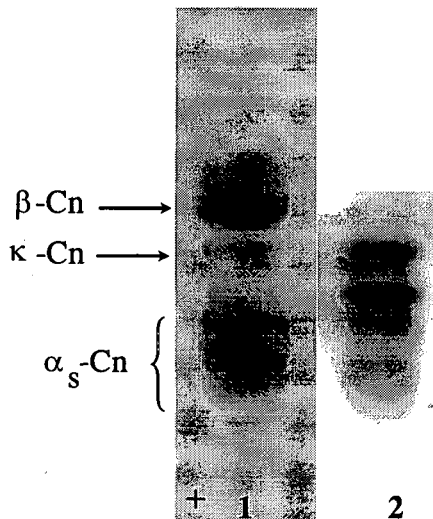


Figura 37. Electroforegramas obtenidos en PAAGE correspondientes a la caseína caprina conteniendo la variante genética A de la α_{s1} -Cn (1) y la α_{s1} -Cn F (2).

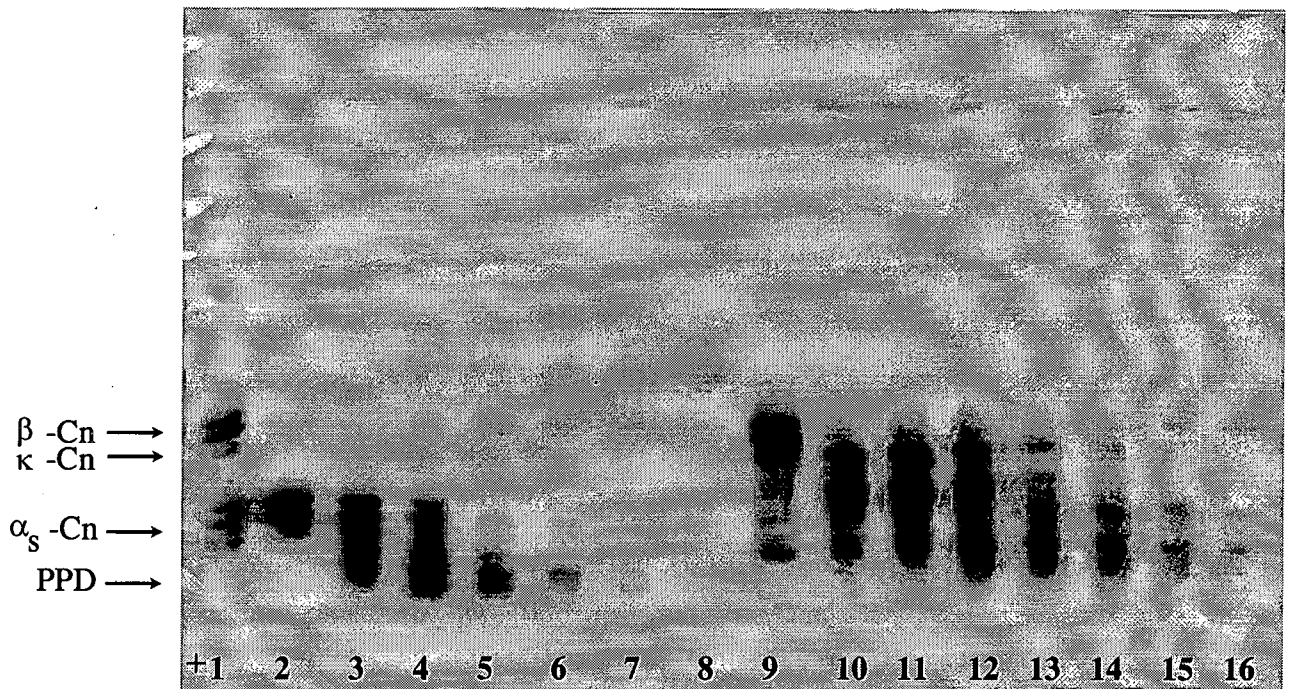


Figura 38. Electroforegramas obtenidos en PAAGE de las α_{s1} -Cn A y F hidrolizadas por la quimosina a 30°C, pH 5.2 en presencia de NaCl (3%, p/v) durante diferentes períodos de tiempo. 1 y 9. Caseínas caprinas presentando las variantes A y F de la α_{s1} -Cn, respectivamente; 2 y 10. α_{s1} -Cn A y F; 3-8 y 11-16. α_{s1} -Cn A y α_{s1} -Cn F hidrolizadas durante 0, 1, 3, 6, 12 y 24 h, respectivamente.

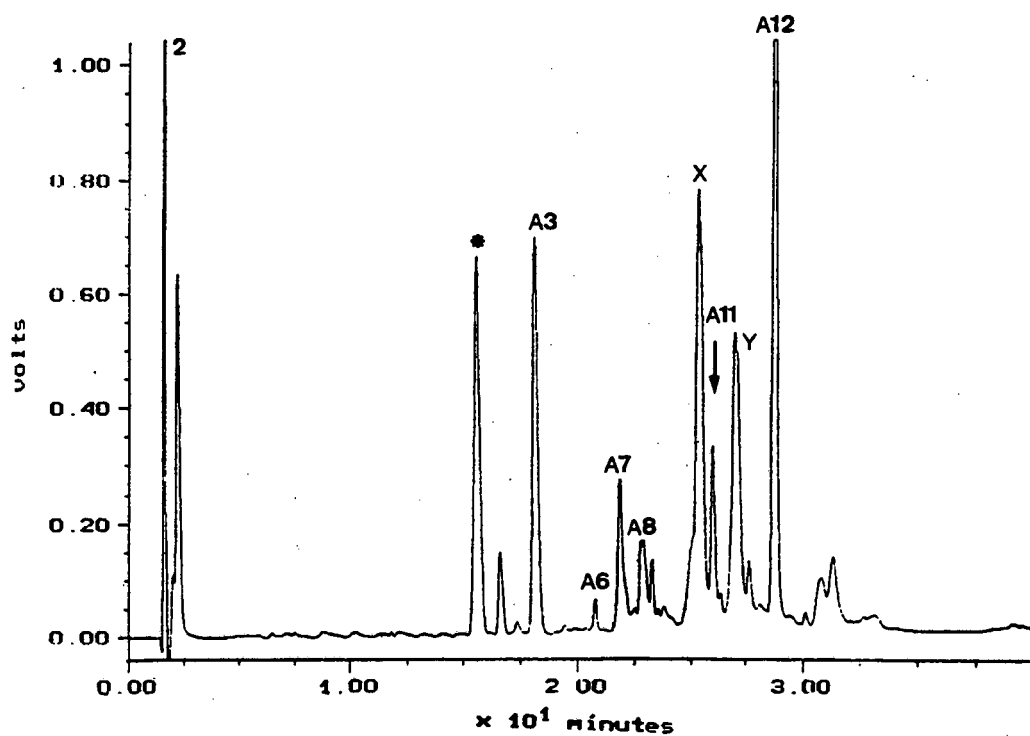
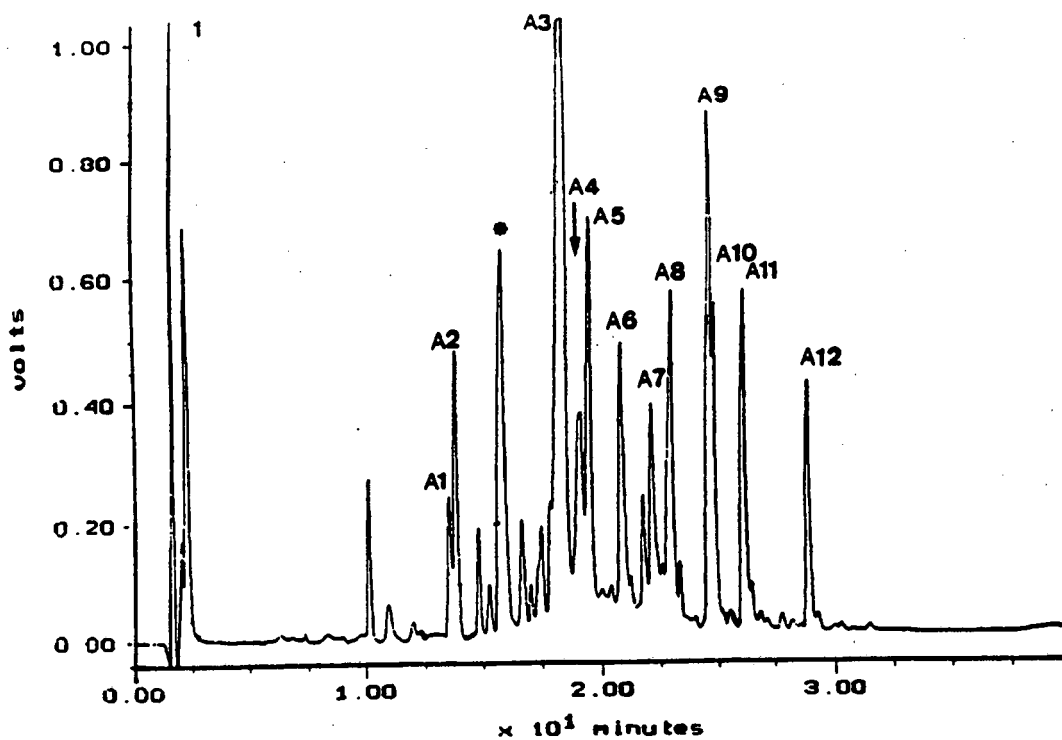


Figura 39. Perfiles cromatográficos obtenidos por RP-HPLC de los péptidos solubles a pH 4.6 correspondientes a la α_{s1} -Cn A caprina hidrolizada por la quimosina a 30°C durante 24 h a pH 5.2 adicionada de NaCl (3%, p/v) (1) y pH 6.5 libre de NaCl (2). *Benzoato sódico.

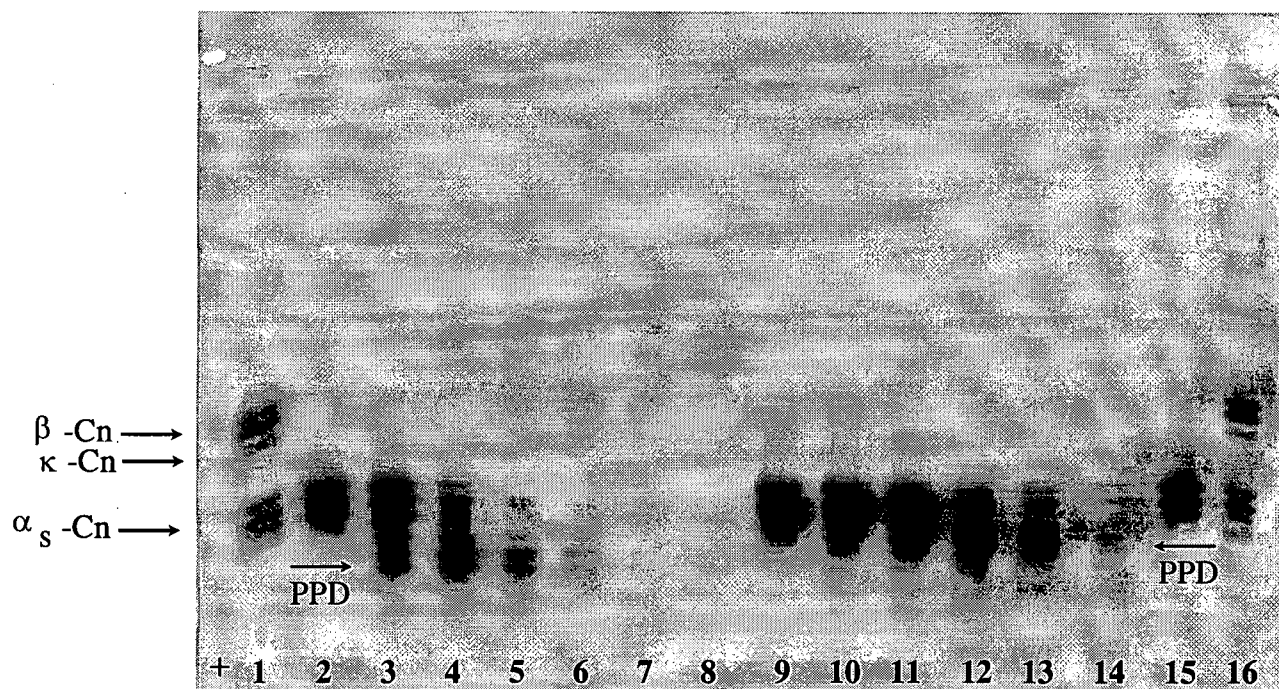


Figura 40. Electroforegramas obtenidos en PAAGE de la α_{s1} -Cn A hidrolizada por la quimosina a 30°C a pH 5.2 adicionada de NaCl (3%, p/v) (3-8) y a pH 6.5 libre de NaCl (9-14) durante 0, 1, 3, 6, 12 y 24 h, respectivamente. 1 y 16. Caseína caprina conteniendo la variante A para la α_{s1} -Cn; 2 y 15. α_{s1} -Cn A.

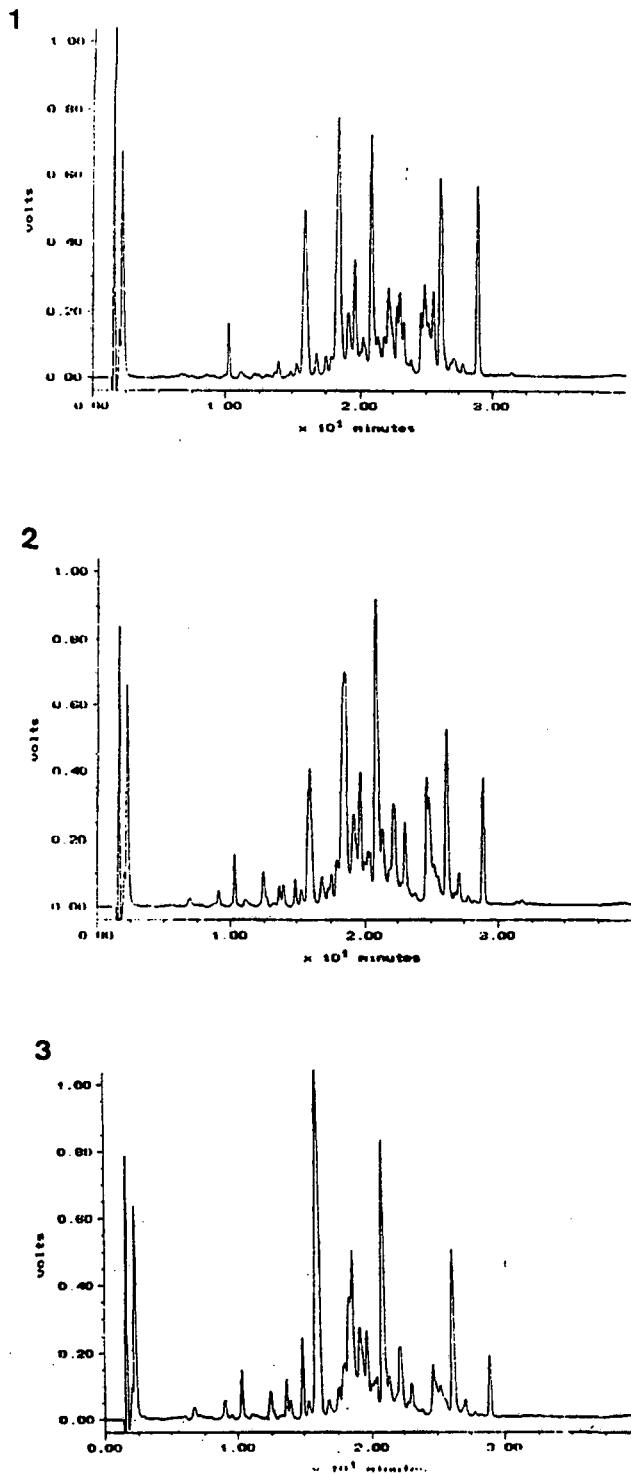


Figura 41. Perfiles cromatográficos obtenidos por RP-HPLC de los péptidos solubles a pH 4.6 correspondientes a la α_{s1} -Cn A caprina hidrolizada por la quimosina (1), cuajo de ternero (2) y cuajo caprino (3) a pH 5.2 adicionada de NaCl (3%, p/v) a 30°C durante un período de tiempo de 3 h.

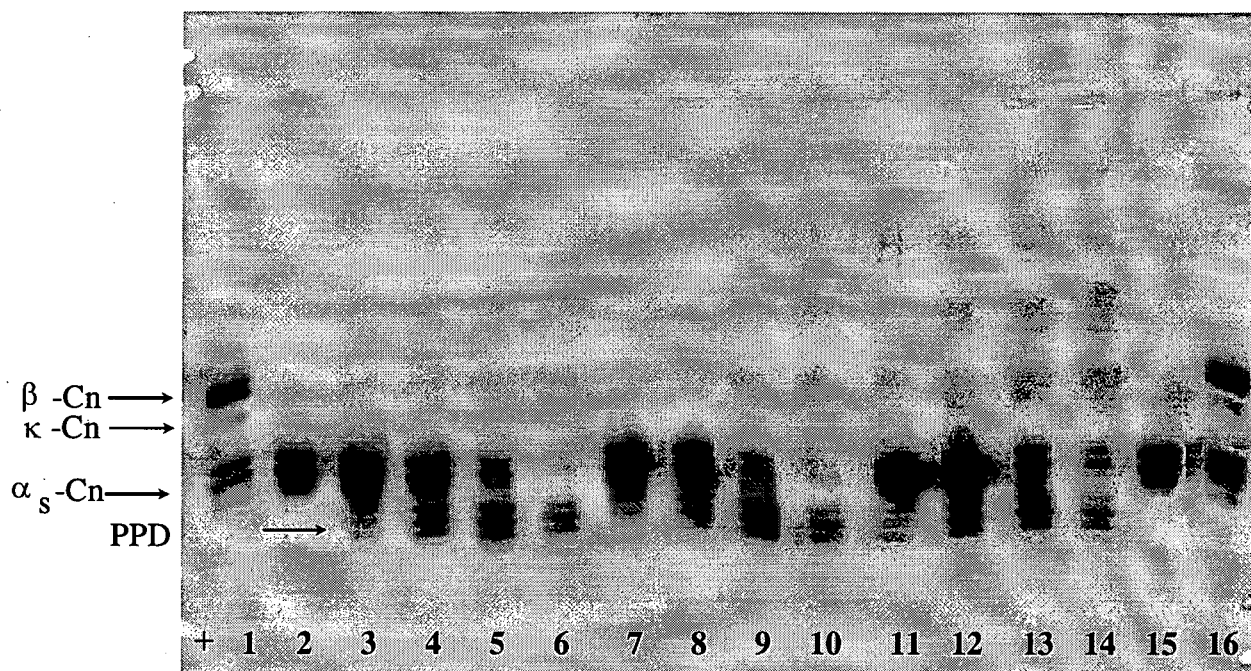


Figura 42. Electroforegramas obtenidos en PAAGE de la α_{s1} -Cn A hidrolizada a pH 5.2 en presencia de NaCl (3%, p/v) por la quimosina (3-6), cuajo de ternero (7-10) y cuajo caprino (11-14) durante 0, 0.25, 1 y 3 h, respectivamente; 1 y 16. Caseína caprina conteniendo la variante A de la α_{s1} -Cn; 2 y 15. α_{s1} -Cn A.