

637.35 FER/SP

TRABAJOS CIENTÍFICOS DE LA UNIVERSIDAD DE CORDOBA

FRACCIONES NITROGENADAS Y AMINOÁCIDOS
REFERENCIA Universidad de Córdoba
Instituto de Ciencias de la Educación
BIBLIOTECA
10-10-77

Fracciones nitrogenadas y aminoácidos libres del queso de Los Pedroches

J. Fernández-Salguero y A. Marcos



UNIVERSIDAD DE CORDOBA
CAMPUS PARANALES - BIBLIOTECA

Servicio de Publicaciones
Universidad de Córdoba (España).

R 8802
K 337 825
D 229 054

Trab. Cient. Univ. Córdoba No. 13 (1977)

FRACCIONES NITROGENADAS Y AMINOACIDOS LIBRES DEL QUESO DE LOS PEDROCHES

J. Fernández-Salguero y A. Marcos (*)

RESUMEN

Se ha examinado el contenido en las principales fracciones nitrogenadas y en aminoácidos libres de 16 muestras de queso maduro, típico del Valle de los Pedroches (Córdoba), elaborado artesanalmente por otros tantos productores.

El contenido medio en las diferentes fracciones nitrogenadas (en % del N total) fue el siguiente: N soluble 40,47, N no proteico 19,23, N amínico 9,70, N amoniacal 3,38. El índice de Savini (coeficiente de degradación) fue, por término medio, de 13.

El contenido en tirosina y triptófano solubles fue, respectivamente, de 396 y 176 mg/100 g de queso.

Cromatográficamente se detectaron 14 aminoácidos libres, 8 de ellos esenciales para el hombre. En todos los quesos se detectó orn, lys, asp, glu, pro, gly, ala, leu, val y ser; en casi todos arg, thr, met y phe. Predominaron cuantitativamente leu, val, lys y glu.

PALABRAS CLAVE

Queso de los Pedroches, fracciones nitrogenadas, aminoácidos libres.

(*) Cátedra de Tecnología y Bioquímica de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba (España).

INTRODUCCION

La proteólisis es uno de los principales cambios que ocurren en el queso durante el proceso de maduración. Por la acción de las enzimas microbianas, enzimas del cuajo y, posiblemente, enzimas intrínsecas de la leche empleada en la fabricación, las paracaseínas de la cuajada son más o menos extensamente degradadas de una forma progresiva a compuestos nitrogenados solubles, al principio de peso molecular aún considerable, como las proteosas y las peptonas, que subsiguientemente son hidrolizadas y péptidos y aminoácidos libres. A partir de los últimos se forma amoníaco y dióxido de carbono.

Los productos intermediarios de la degradación de las caseínas repercuten marcadamente en las características organolépticas del producto acabado, como en el aspecto y la textura del queso y también en el desarrollo del sabor y del aroma (Jaquet y Lenoir, 1954, 1969; Kosikowski y Mocquot, 1958).

La determinación fraccionada de los diferentes grupos de componentes nitrogenados resultantes de la degradación proteica, tales como el nitrógeno soluble total (NST), el nitrógeno no proteico (NNP), el nitrógeno titulable en presencia de formol (N-F) y el nitrógeno amoniacal ($N-NH_3$), ha servido de índice clásico de la extensión y profundidad de la maduración del queso.

Por su participación en el desarrollo del sabor, los aminoácidos libres del queso tienen particular interés dentro de las fracciones nitrogenadas. En diversos tipos de quesos Storgards y Lindqvist (1953) detectaron cromatográficamente al menos de 12 a 19 aminoácidos libres. Estudiando el contenido en aminoácidos libres de 30 variedades diferentes de quesos, Kosikowski y Dahlberg (1954) hallaron que los niveles de los aminoácidos individuales oscilaron entre 0 a más de 6 mg por gramo de queso y que existían ciertas diferencias de unas variedades a otras en el contenido en aminoácidos, aunque no lo suficientemente características como para permitir su identificación.

Se sabe que la máxima intensidad del sabor del queso coincide con el aumento marcado de muchos de los aminoácidos libres y que entre la tasa de ciertos aminoácidos y la intensidad del sabor existe una relación definida (Harper y Swanson, 1949). Así, se ha señalado, que entre el contenido en triptófano libre del queso y la intensidad del sabor existe una relación directa (Erekson, 1949).

En una publicación anterior (Fernández-Salguero *et al.*, 1976), tendente a caracterizar químicamente el queso de los Pedroches, precisando el valor medio y la variabilidad de los principales componentes del producto en estado de consumo, se expusieron los resultados del estudio de los principales componentes químicos y parámetros físicos de un lote de quesos maduros de esta variedad, elaborados por productores diferentes. Los datos relativos a las fracciones nitrogenadas y a los aminoácidos libres de los quesos del citado lote se exponen en la presente publicación.

MATERIAL Y METODOS

Material experimental. Un lote heterogéneo de 16 quesos en estado de consumo, de dos a tres meses de maduración, adquiridos en el Valle de los Pedroches (provincia de Córdoba), a otros tantos productores diferentes.

Preparación de las muestras anafíticas. Se procedió como describe la norma 34 195 hl de la UNE (1969).

Determinación de las fracciones nitrogenadas. El contenido en nitrógeno total del queso se determinó por el método de Johnson (1941), ligeramente modificado, sobre una suspensión de queso preparada de acuerdo con Mogensen (1949). Después de eliminar de la suspensión anterior el material insoluble a pH 4,4 (precipitado por adición de CaH_2) se determinó sobre el filtrado el nitrógeno soluble total con el reactivo de Nessler y el nitrógeno titulable en presencia de formol por el método de Sorensen.

El nitrógeno no proteico se determinó también por el método de Johnson (1941) tras precipitar las proteínas del queso con 9 partes de ácido tricloroacético al 11,5 %.

El nitrógeno básico volátil (nitrógeno amoniacal) se determinó por el método de microdifusión de Conway (Colowick y Kaplan, 1957) sobre un homogeneizado de queso en agua.

Determinación espectrofotométrica de tirosina y triptófano solubles. Los espectros de absorción ultravioleta de los extractos solubles de queso (filtrado citado anteriormente) se obtuvieron con espectrofotómetro Beckman mod DB-G provisto de registrador lin-log de $10''$ y a partir de ellos se calcularon las concentraciones de tirosina y triptófano solubles por el procedimiento de Vakaleris y Price (1959).

Aminoácidos libres. Los aminoácidos libres fueron extraídos del queso siguiendo básicamente el procedimiento descrito por Adamić *et al.* (1970), se separaron cromatográficamente, identificaron con ayuda de referencias y reveladores específicos y se cuantificaron por el método de Fisher *et al.* (1948), adaptado por nosotros a la cromatografía bidimensional. Los detalles del proceder seguido se indican en una publicación anterior (Fernandez-Salguero, 1975).

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se exponen los resultados analíticos de las principales fracciones nitrogenadas solubles de los diferentes quesos, así como los correspondientes valores medios, desviaciones típicas y porcentajes de variabilidad.

En los quesos objeto de estudio el nitrógeno soluble total, índice de la maduración, varió entre un mínimo del 32,65 % del nitrógeno total y un máximo del 46,66 %,.

TABLA 1. Principales fracciones nitrogenadas solubles del queso de los Pedroches

Queso	NST	NNP	N-F	N-NH ₃
A	45,94	20,15	9,49	3,52
B	41,81	21,39	10,12	3,82
C	34,00	16,08	6,74	2,55
D	38,40	15,26	8,80	3,62
E	36,85	17,73	8,93	3,52
F	40,84	15,81	7,33	3,02
G	41,50	20,09	8,82	3,09
H	36,44	17,21	8,52	2,48
I	40,76	15,94	10,77	4,48
J	32,65	17,56	9,07	2,29
K	39,37	24,20	8,97	5,06
L	45,17	18,40	11,07	3,35
M	46,66	24,72	14,06	4,84
N	44,77	21,99	11,61	2,91
O	36,86	15,84	7,61	2,00
P	45,50	25,40	13,27	3,51
X	40,47	19,23	9,70	3,38
S	4,38	3,43	2,03	0,87
CV	10,82	17,84	20,93	25,74

Los resultados analíticos son medias aritméticas de dos determinaciones.

siendo el contenido medio ligeramente superior al 40 %. En el queso Gorgonzola, Ottogalli *et al.* (1971) encontraron niveles similares de nitrógeno soluble total. La elevada tasa de nitrógeno soluble es índice de una intensa hidrólisis proteica en esta variedad de queso, ya que sólo en los quesos excesivamente madurados, sobre todo en las variedades blandas maduradas por hongos, esta fracción soluble se aproxima al 50 % del nitrógeno total. En quesos de pasta azul, similares al Stilton, se ha llegado a encontrar en forma soluble más de la mitad del nitrógeno total (Lindqvist *et al.*, 1963). En el queso tipo manchego el nitrógeno soluble total es más variable, oscilando entre el 22 y el 49 %, siendo la media, bastante inferior a la del queso de los Pedroches, de 31,4 % (Marcos *et al.*, 1976).

Alrededor de la mitad del nitrógeno soluble está constituido por nitrógeno no proteico. El contenido medio (\pm la desviación típica) en nitrógeno no proteico, del 19,23 (\pm 3,43) % del nitrógeno total, se aproxima a los valores hallados por Lenoir (1963) en los quesos Camembert y Gruyère de Comté.

El nitrógeno titulable en presencia de formol constituye a su vez aproximadamente la mitad del nitrógeno no proteico (el 9,7 \pm 2,0 % del nitrógeno total). El nitrógeno amoniacal sólo da cuenta del 3,38 % del nitrógeno total.

Como es lógico la variabilidad observada en las diversas fracciones nitrogenadas aumenta paralelamente al nivel de degradación.

Procediendo como Lenoir (1963) se ha calculado, a partir de los datos de la Tabla 1, el contenido de los quesos en caseínas, proteosas-peptonas, péptidos y nitrógeno amínico, expresado tanto en porcentaje del nitrógeno total (Tabla 2) como del nitrógeno soluble (Tabla 3).

Es sabido que la composición en materias nitrogenadas del queso depende de la actividad, en el curso de la fabricación y de la maduración, de los agentes responsables de la degradación de las proteínas, fundamentalmente las enzimas del cuajo y microbianas. En lo que concierne al posible papel de los microorganismos, se ha señalado (Lenoir, 1963) que los quesos madurados esencialmente por obra de las bacterias lácticas contienen poco amoníaco y abundantes aminoácidos libres, mientras que en aquellos quesos en cuya maduración interviene una flora compleja, en la que mohos, levaduras y micrococos juegan un papel dominante, la relación N-amínico/N-amoniacal es inferior a la unidad. La relación observada en los quesos objeto de estudio, de 1,87 por término medio, parece indicar la participación preferencial de las bacterias lácticas en la maduración de esta variedad de queso.

Los coeficientes de degradación de los diferentes quesos analizados, que se exponen en la Tabla 4, al reflejar la proporción de compuestos nitrogenados de bajo peso molecular, constituyen índices de la profundidad del proceso de maduración. El valor medio hallado del 13 %, aproximadamente, es superior al encontrado por Carini *et al.* (1960), Bodini *et al.* (1969) y Pettinau y Bottazzi (1971) en diversos quesos italianos, siendo similar al observado por Lenoir (1963) en el queso Gruyère de Comté.

Los espectros de absorción de los extractos solubles de queso en el rango de longitud de onda comprendido entre 310-240 nm exhibieron un máximo de absorción a 274-275 nm. A partir de la absorbancia a 270 y 290 nm se han calculado las concentraciones de tirosina y triptófano solubles, cuyos valores en los diferentes quesos figuran en la Tabla 5. El contenido en tirosina oscila entre un valor mínimo de 247 mg/100 g de queso y un máximo de 486 mg/100 g de queso, siendo la media (\pm la desviación típica) de 396 (\pm 76) mg/100 g de queso. El nivel es bastante más elevado que el que corresponde al triptófano, cuyo valor medio (\pm la desviación típica) es de 176 (\pm 55) mg/100 g de queso. La mayor variabilidad observada en el contenido en triptófano (31 %) que en el de

TABLA 2. Componentes nitrogenados (% del N total).

Queso	N Proteínas	N Caseínas	N Proteosas- peptonas	N Péptidos	N Amínico
A	79,85	54,03	25,79	10,66	5,97
B	78,66	58,21	20,42	11,27	6,30
C	83,91	66,03	17,84	9,34	4,19
D	84,78	61,63	23,14	6,45	5,18
E	82,22	63,18	19,12	8,80	5,41
F	84,17	59,11	25,03	8,47	4,32
G	79,85	58,54	21,42	11,27	5,72
H	82,81	63,60	19,23	8,69	6,05
I	84,11	59,24	24,82	5,71	6,28
J	82,44	67,35	15,09	8,49	6,77
K	75,83	60,67	15,17	15,23	3,91
L	81,59	54,83	26,77	7,36	7,72
M	75,22	53,33	21,94	10,67	9,22
N	77,93	55,24	22,78	10,37	8,70
O	84,8	63,06	21,02	8,22	5,61
P	74,56	54,53	20,09	12,13	9,76
X	80,75	59,54	21,23	9,54	6,32
S	3,44	4,39	3,48	3,41	1,74
CV	4,25	7,37	16,39	25,26	27,53

N-proteínas = NT - NNP; N-caseínas = NT - NST;

N-proteosas-peptonas = NST - NNP;

N-péptidos = NNP - N-F; N-amínico = N-F - N-NH₃.

tirosina (19 %) se explica por la mayor facilidad de degradación del primer aminoácido (Mogensén, 1949; Vakaleris y Price, 1959).

En todos los quesos analizados se han detectado cromatográficamente los 10 aminoácidos libres siguientes: ornitina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico, prolina, glicina, alanina, leucina, valina y serina. Sólo en uno de los quesos no fue detectada la arginina, en tres no fue detectada la treonina y en cinco no fue detectada la metionina. La fenilalanina se detectó en el 50 % de los quesos.

Todos los aminoácidos componentes de las caseínas de la leche de oveja (Jolles *et al.*, 1961) se encuentran en estado libre en el queso de los Pedroches, a excepción de la histidina y la cistina, admitiendo que la leucina y la isoleucina forman en los cromatogramas una mancha única. Si bien la tirosina y el triptófano no se han detectado cromatográficamente.

TABLA 3. Componentes nitrogenados (% del NST)

Queso	N Proteosas- -peptonas	N Péptidos	N Aminico	N Amoniaco
A	56,14	23,20	12,99	7,67
B	48,84	26,95	15,07	9,14
C	52,60	27,52	12,35	7,53
D	60,27	16,80	13,49	9,43
E	51,88	23,89	14,68	9,55
F	61,29	20,75	10,57	7,39
G	51,60	27,15	13,79	7,46
H	52,77	23,84	16,60	6,79
I	60,90	12,68	15,41	11,01
J	46,22	26,01	20,76	7,02
K	38,52	38,68	9,92	12,86
L	59,26	16,24	17,09	7,41
M	47,01	22,86	19,76	10,38
N	59,89	23,17	19,43	6,50
O	57,03	22,31	15,23	5,43
P	44,16	26,66	21,45	7,72
X	52,46	23,67	15,54	8,33
S	6,53	5,84	3,46	1,92
CV	12,45	24,67	22,26	23,05

TABLA 4. Índice de Savini de los quesos de los Pedroches

Queso	$\frac{N-F + N-NH_3}{NT} \times 100$	Queso	$\frac{N-F + N-NH_3}{NT} \times 100$
A	13,01	I	15,25
B	13,94	J	11,36
C	9,30	K	14,03
D	12,43	L	14,01
E	12,45	M	18,90
F	10,35	N	14,52
G	11,91	O	9,61
H	11,00	P	16,79
X	13,08	S	2,59
		CV	19,80

TABLA 5. Contenido en tirosina y triptófano solubles de los quesos de los Pedroches.

Queso	Tirosina (ng/100 g queso)	Triptófano
A	485	271
B	486	249
C	481	236
D	247	116
E	351	107
F	305	122
G	360	182
H	359	163
I	410	114
J	273	118
K	469	169
L	415	213
M	427	247
N	443	200
O	364	134
P	457	175
X	396	176
S	76	55
CV	19	31

tográficamente, es de suponer que se encuentren también en estado libre, dado que su constante presencia en todas las proteínas y sus propiedades de absorción de la luz ultravioleta, sirven de base para la determinación espectrofotométrica de proteínas y, en el queso, de nitrógeno soluble como se ha expuesto anteriormente. Kosikowski y Dahlberg (1954) y Simonart y Mayaudon (1952) identificaron triptófano por cromatografía en papel en diferentes tipos de quesos y Lindqvist *et al.* (1952), estudiando los aminoácidos libres de diversas variedades de queso escandinavas, lo pusieron de manifiesto en el 75 % de los quesos analizados. También es explicable la no detección cromatográfica de histidina, aunque se encuentre en el queso en estado libre, dado que su dintel de detección requiere aproximadamente doble cantidad de este aminoácido que de los restantes. Dent (1948) señaló que la histidina es detectable en cantidades 10 veces superiores a la requerida para la alanina. Ordoñez (1974) no identificó este aminoácido en el queso Ulloa fabricado con leche cruda, ni Kosikowski (1951) en queso Cheddar. La ausencia de cistina no es extraña puesto que Alí (1960) y Reiter y Sharpe (1971) han comprobado que raramente se detecta en los quesos madurados por bacterias. Por otra parte, la ornitina, aminoácido ausente de la leche entera, ha sido detectada en todos los quesos. Mabbitt (1955) la halló también en queso Cheddar y Do Ngoc *et al.* (1971) en varios quesos franceses.

El ácido -aminobutírico no se ha detectado en el queso de los Pedroches a pesar de que pueda formarse por descarboxilación del ácido glutámico (Schormüller *et al.*, 1959) y de que pueda encontrarse en forma libre en el queso (Block, 1950; Resmini *et al.*, 1969; Do Ngoc *et al.*, 1971; Cecchi y Resmini, 1947). No puede asegurarse por tanto que se halle ausente en el queso en estado libre.

Entre los 14 aminoácidos libres detectados cromatográficamente en el queso se encuentran 8 de los 10 considerados esenciales para el hombre, no excluyéndose la presencia de los dos restantes, histidina y triptófano, por las razones ya expuestas.

Al objeto de obtener información semicuantitativa se ha calculado el contenido de los quesos en diferentes aminoácidos libres, basándose en la relación existente entre la cantidad de sustancia y su difusión en el soporte cromatográfico. Los resultados obtenidos aplicando el método de Fisher *et al.* (1948) a la cromatografía bidimensional se muestran en la Tabla 6. De los nueve aminoácidos que han podido cuantificarse el que se encuentra en mayor concentración en la mayoría de los quesos es la lisina, cuyos valores individuales, altamente variables, oscilan entre < 34 y > 319 mg/100 g de queso. En

TABLA 6. Contenido en aminoácidos libres (mg/100 g queso)

Queso	Aminoácido								
	Lys	Glu	Ala	Asp	Pro	Thr	Arg	Orn	Gly
A	>319	160	30	33	49	17	22	<7	7
B	291	179	13	7	9	11	11	<7	11
C	<34	27	10	<6	7	<8	17	<7	<5
D	319	36	33	35	29	34	25	7	19
E	291	113	86	24	21	8	7	9	17
F	307	115	76	17	28	15	7	13	6
G	307	113	49	24	28	11	<7	<7	5
H	297	90	21	19	15		7	<7	<5
I	307	58	22	67	22	21	40	<7	6
J	303	35	55	44	48	12	29	14	10
K	>319	137	152	83	17	74	22	<7	12
L	>319	157	84	30	63	88	10	16	<5
M	296	137	31	26	22		52	<7	<5
N	81	77	31	45	27	11	42	<7	<5
O	34	15		6	<7			<7	<5
P	220	133	15	27	<7	20	26	7	13
X	255	99	47	32	28	27	23	11	11

> = más de; < = menos de.

importancia cuantitativa le sigue el ácido glutámico, con una concentración media que se acerca a los 100 mg/100 g de queso, y después, el ácido aspártico, la prolina, la treonina, la arginina, la ornitina y la glicina.

Aunque los aminoácidos esenciales de naturaleza apolar y alta movilidad relativa en ambos sistemas solventes (leucinas, valina, metionina y en menor grado fenilalanina) no se pudieron cuantificar por confundirse sus áreas de difusión, tales aminoácidos no polares (en particular los dos primeros) parecen ser los cuantitativamente predominantes a juzgar por la intensidad de la tinción y la superficie de difusión.

Los aminoácidos presentes en el queso en estado libre no conservan las proporciones relativas que tienen en la caseína entera de la leche de oveja (Jolles *et al.*, 1961), hecho observado también por Bassett *et al.* (1951), Harper y Long (1955) y otros muchos investigadores. Esto es debido a que la hidrólisis de la caseína ocurre al azar y a que se producen degradaciones, síntesis e interconversiones, de tipo químico, enzimático y microbiano, de aminoácidos específicos.

Como consecuencia de lo expuesto se deduce que el queso de los Pedroches es particularmente rico en leucina, valina, lisina y ácido glutámico. El ácido glutámico y la leucina predominan en el queso Edam (Alí, 1960), la leucina, valina y ácido glutámico en el queso Cheddar (Melachouris y Tuckey, 1964), la lisina, ácido glutámico, prolina, alanina, valina, leucina y fenilalanina en el queso Trappist (Ades y Cone, 1969), la lisina y leucina en el Cabrales (Sala y Burgos, 1972), el ácido glutámico, leucina, valina, arginina y lisina predominan, según Kosikowski y Dahlibert (1954), en los quesos Roquefort, Gorgonzola, Blue, Emmental y Suizo.

NITROGENOUS FRACTIONS AND FREE AMINO ACIDS OF THE PEDROCHES CHEESE

SUMMARY

Sixteen samples of ripened cheese, typical of de Pedroches valley (Córdoba, Spain), from different domestic production, have been examined for their content in several nitrogen fractions and free amino acids.

Mean values for contents of different N fractions (as % of total N) were respectively: soluble N, 40,47, non protein N, 19,23, formol N, 9,70, ammoniacal N, 3,38. The Savinij index (descomposition coefficient) showed, in the average, a value of 13.

Mean soluble tyrosine an tryptophan contents were, 396 mg/100 g of cheese and 176 mg/100 g of cheese respectively.

Chromatographically have been detected fourteen free amino acid, eight of them essentials to man. Orn, lys, asp, glu, pro, gly, ala, leu, val and ser were detected in all cheeses and arg, thr, met y phe in almost all cheeses. Quantitatively predominate ley, val, lys and glu.

KEY WORDS

Pedroches cheese, nitrogen fractions, free amino acids.

BIBLIOGRAFIA

- Adamić, M., Clark, D. S. y Yaguchi, M. (1970) *J. Food Sci.*, 35, 272.
- Ades, G. L. y Cone, J. F. (1969) *J. Dairy Sci.*, 52, 957.
- Alí, L. A. M. (1960) *Mededel. Landbouwhogeschool Wageningen*, 60 (4), 1.
- Basset, H. J., Spurgeon, K. R. y Swanson, A. M. (1951) *J. Dairy Sci.*, 34 475.
- Block, R. J. (1950) *Food Ind.*, 22, 88.
- Bodini, T., Guicciardi, A. y Craveri, R. (1969) *Latte*, 43, 10.
- Carini, S., Galli, A., Ottogalli, G., Resmini, P., Tonali, L. y Volonterio, G. (1969) *Sci. Tecn. Latte-Casea*, 20, 63.
- Cecchi, L. y Resmini, P. (1974) *Sci. Tecn. Latte-Casea*, 24 152.
- Colowick, S. P. y Kaplan, N. D. (1957) Ed. "Methods in Enzymology", Vol. III, Acad. Press Inc., N. Y.
- Dent, C. E. (1948) *Biochem. J.*, 43, 169.
- Do Ngoc, M., Lenoir, J. y Coisy, C. (1971) *Rev. Latie. Franc.*, 288, 447.
- Erekson, A. B. (1949) *J. Dairy Sci.*, 32, 704.
- Fernández-Salguero, J. (1975) Tesis Doctoral, Universidad de Córdoba (España).
- Fernández-Salguero, J., Esteban, M.^a Asunción y Marcos, A. (1976) *Trab. Cient. Univ. Córdoba*, en prensa.
- Fisher, R. B., Parson, D. S. y Morrison, G. A. (1948) *Nature*, 161, 764.
- Harper, W. J. y Long, J. E. (1955) *J. Dairy Sci.*, 39, 129.
- Harper, W. J. y Swanson, A. M. (1949) *12th Inter. Dairy Congr.*, 2, 147.
- Jaquet, J. y Lenoir, J. (1954) *C. R. Acad. Sci.*, 238, 2201.
- Jaquet, J. y Lenoir, J. (1969) *Econ. Méd. Anim.*, 19, 38.
- Johnson, M. L. (1941) *3rd Inter. Congr. Microbiolo.*, N. Y., 1939.
- Jolles, R., Alais, C. y Jolles, J. (1961) *Biochim. Biophys. Acta*, 69, 511.
- Kosikowski, F. V. (1951) *J. Dairy Sci.*, 34, 235.
- Kosikowski, F. V. y Dahlberg, A. C. (1954) *J. Dairy Sci.*, 37, 167.
- Kosikowski, F. V. y Mocquot, G. (1958) *Progr. Techn. fromag.*, 1, 131.
- Lenoir, J. (1963) *Ann. Techn. Agr.*, 12, 51.
- Lindqvist, B., Lindberg, I. und Molin, H. (1963) *Milchwissenschaft*, 18, 12.
- Lindqvist, B., Storgards, T. y Göransson, M. B. (1952) Central Laboratories of Mjolkcentralen, Stockholm, Sweden.

- Mabbitt, L. A. (1955) *J. Dairy Res.*, 22, 224.
- Marcos, A., Esteban, Maria A., Fernández-Salguero, J., Mora, Maria T. y Millán, R. (1976) *Anal. Bromatol.*, 28, 57.
- Melachouris, N. y Tuckey, S. L. (1955) *J. Dairy Sci.*, 47, 1.
- Mogensen, M. T. S. (1949) *Proc. 12th Int. Dairy Congr.*, 2, 849.
- Ordoñez, J. A. (1974) Tesis Doctoral, Universidad de Oviedo.
- Ottogalli, G., Resmini, P., Bianchi, B., Galli, A., Rondini, G., Salvatori, P., Sarachi, S. y Volonterio, G. (1971) *Latte*, 45, 776.
- Pettinau, M. y Bottazzi, U. (1971) *Sci. Tecn. Latte-Casea*, 22, 1.
- Reiter, B. y Sharpe, M. E. (1971) *J. Appl. Bacteriol.*, 34, 63.
- Resmini, P., Sarachi, S., Volonterio, G. y Bozzolati, M. (1969) *Latte*, 43, 99.
- Sala, F. J. y Burgos, J. (1972) *Anal. Bromatol.*, 24, 61.
- Schormüller, J., Schwerin, K. y Belitz, H. D. (1959) *Z Lebensmittel u. Forsch.* 109, 234.
- Simonart, P. y Mayaudon, J. (1952) *Neder. melk en Zivestf.*, 6, 1.
- Storgards, T. y Lindqvist, B. (1953) *13th Inter. Dairy Congr.*, 2, 265.
- UNE (1969) "Métodos de ensayo de queso: obtención de muestras", 34 105 hl.
- Vakaleris, D. G. y Price, W. V. (1959) *J. Dairy Sci.*, 42, 264.

NOTA: Enviado para su publicación en 1975.