



Nota Técnica

Precipitación de proteínas lactoséricas en función de la acidez, temperatura y tiempo, de suero producido en Comonfort, Guanajuato, México

Precipitation of whey proteins as a function of acidity, temperature and time from whey produced in Comonfort, Guanajuato, Mexico

Florentino **Vázquez Puente**^{1,2*}, Gabriel Andree **Villegas Arroyo**², Pablo Roberto **Mosqueda Frías**²

¹Instituto Tecnológico Superior del Sur de Guanajuato. Avenida Educación Superior, N° 2000, C. P. 38980, Colonia Benito Juárez, Uriangato, Guanajuato, México.

²Universidad Centro de Estudios Cortazar. Carretera Cortázar-Salvatierra, km 1, C. P. 38118, Cortazar, Guanajuato, México.

*Autor para correspondencia: florentinovaz@hotmail.com

Aceptado 11-Diciembre-2010

Resumen

El lactosuero bovino en ocasiones es desechado en las queserías por no ofrecer beneficios económicos en su utilización para la elaboración de requesón, convirtiéndose en un contaminante medioambiental. Esto es debido en parte, al desconocimiento de las condiciones más idóneas de temperatura y tiempo para la precipitación de las proteínas lactoséricas y a que no se efectúa una rectificación de la acidez. Con el propósito de mejorar los rendimientos en producción de queso ricota a partir de lactosuero, diversas muestras fueron acidificadas con ácido cítrico (a 20, 30, 40 50, 60, 70 y 80 grados Dornic). Se evaluaron condiciones de temperatura (73, 83 y 93 °C) y tiempo (10, 20, 30 y 40 min). Inicialmente se utilizó un diseño en bloques al azar con arreglo factorial 3x4; se realizaron análisis de varianza general, de una vía y prueba de comparación de medias de Tukey (p 0,05 y p 0,01). En condiciones de acidez del suero 50 °D, temperatura 93 °C y tiempos de acción 30 y 40 min, se

obtuvieron los mayores contenidos de proteína coagulada sin prensar (48,47 y 49,20 g/L, respectivamente). Los resultados obtenidos son una alternativa de ajuste de las condiciones de acidez, temperatura y tiempo (desnaturalización controlada) ofrecida a los productores, para el aumento del rendimiento en producción de requesón y que les sea redituable.

Palabras claves: acidez Dornic, precipitación por calor, proteínas del lactosuero, queso ricota.

Abstract

The bovine whey is sometimes discarded in the dairies for failing to provide economic benefits in their use for cheese making, becoming an environmental contaminant. This is due in part to the lack of suitable conditions of temperature and precipitation time for whey protein and that a correction of the acidity is not made. In order to improve yields in ricotta cheese from whey, various samples were acidified with citric acid (20, 30, 40 50, 60, 70 and 80 degrees Dornic). Temperature conditions were evaluated (73, 83 and 93 °C) and time (10, 20, 30 and 40 min). Initially a randomized block design with 3x4 factorial arrangement was used; one-way analysis of variance and Tukey's multiple comparison test were made (p 0.05 and p 0.01). Under acidic conditions 50 °D whey, temperature 93 °C and times of action 30 and 40 min, the highest contents of coagulated protein unpressed were obtained (48.47 and 49.20 g/L, respectively). The results are an alternative set of conditions of acidity, temperature and time (controlled denaturation) offered to producers for increase production of yield in ricotta cheese and that will be profitable.

Key words: Dornic acidity, protein precipitation by heat, ricotta cheese, whey proteins.

INTRODUCCIÓN

El lactosuero o suero lácteo es la fase acuosa que se separa de la cuajada en el proceso de elaboración de los quesos (Mena, 2002; Valencia-Denicia y Ramírez-Castillo, 2009). Ha sido utilizado en la elaboración de bebidas (Mena, 2002; Sinha *et al.*, 2007), fórmulas infantiles (Abrams *et al.*, 2002; Benítez *et al.*, 2008) y en concentrados proteicos, reutilizado como componente para la elaboración de quesos (El-Sheikh *et al.*, 2010); también se ha empleado en la producción de ácido láctico (Jakymec *et al.*, 2001; Uribarri *et al.*, 2004), de cultivos iniciadores (Koutinas *et al.*, 2009) y de proteína microbiana (Quintero *et al.*, 2001), entre otras diversas aplicaciones tecnológicas (Parra-Huertas, 2009).

En la fabricación de quesos, para obtener de 1 a 2 kg de queso se emplean en

promedio 10 L de leche y se recuperan de 8 a 9 kg de suero, dependiendo de la cantidad de agua utilizada durante el proceso. En México se produce cerca de 1 millón de toneladas de lactosuero de los cuales alrededor del 47 % es descargado al drenaje contaminando subsecuentemente ríos y suelos (Valencia-Denicia y Ramírez-Castillo, 2009). En empresas queseras ubicadas en el Valle de Tulancingo, Hidalgo, México; se ha estimado que el 36,01 % del lactosuero es desechado al ambiente; 3,72 % es reutilizado para la elaboración de quesos y el 60,25 % es utilizado en la alimentación de ganado (Guerrero-Rodríguez *et al.*, 2010).

El suero lácteo presenta importantes contenidos de proteína, grasa, lactosa y calcio (Abrams *et al.*, 2002; Miranda-Miranda *et al.*, 2009). En relación al contenido proteico, las proteínas séricas de la leche son proteínas

globulares (Benítez *et al.*, 2008); entre ellas, las presentes en mayor cantidad son la β -lactoglobulina (β -LG) y la α -lactoalbúmina (α -LA) y como constituyentes menores se encuentran lactoferrina, lactoperoxidasa, inmuno- globulinas y glicomacropéptidos, entre otras (Baró *et al.*, 2001; Alvarado-Carrasco y Guerra, 2010). Las proteínas lactoséricas presentan secuencias de péptidos con propiedades antihipertensivas (Mullally *et al.*, 1997; Abubakar *et al.*, 1998; Phihlanto-Leppälä *et al.*, 1998; Baro *et al.*, 2001; Fitzgerald *et al.*, 2004) y diversos trabajos demuestran el potencial que tienen como fuente de péptidos bioactivos en la prevención de desórdenes fisiológicos que alteran el funcionamiento normal del organismo (Alvarado-Carrasco y Guerra, 2010).

Para la obtención de las proteínas lactoséricas diversas técnicas y métodos han sido empleados, tales como la ultrafiltración (Muñi *et al.*, 2005; Marcelo y Rizvi, 2008). También ha sido factible el uso de ácidos como catalizador en la precipitación proteica (Jakymec *et al.*, 2001; Rojas-V *et al.*, 2009) y el empleo de tratamientos térmicos (Jakymec *et al.*, 2001; Uribarri *et al.*, 2004), siendo este último, el proceso mas antiguo utilizado para la recuperación (Jelen, 1983).

Para la elaboración de requesón, en las microempresas utilizan el suero lácteo bovino desprendido de la producción de los diferentes tipos de quesos que ellas procesan, el cual contiene diferentes grados de acidez debido a que en la producción de quesos se utiliza leche con diferentes grados Dornic según el tipo a elaborar; en dichas microempresas llevan el lactosuero a temperaturas de ebullición para precipitar las proteínas sin hacer ninguna rectificación en la acidez y sin establecer condiciones de temperatura y tiempo, lo que trae como consecuencia que se obtengan bajos y diferentes rendimientos en los contenidos de proteína coagulada; esto en la mayoría de los casos genera, que el suero sea desechado por no ser conveniente a los productores elaborar el

requesón debido a que invierten mucho dinero en producirlo. En tal sentido, la presente investigación se orientó de la manera como los productores producen el requesón a partir del suero lácteo, en primera etapa, ofreciendo alternativas de ajustes de la acidez, temperatura y tiempo (desnaturalización controlada), para la obtención de una mayor cantidad del producto, con el propósito de aumentar el rendimiento en producción de requesón y que les sea redituable.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se desarrolló en las instalaciones de la Universidad Centro de Estudios Cortazar, en Cortazar, Guanajuato, México; durante los meses de septiembre a diciembre de 2007.

Materia prima

Se utilizó suero de queso fresco (asadero), proveniente de la coagulación de leche bronca (sin pasteurizar) producida en el Establo de Las Trojes, ubicado en el Municipio de Comonfort, Guanajuato, México; que alberga ganado bovino lechero de raza Holstein. El suero fue recolectado, un mismo día, durante la elaboración del queso fresco; se embotelló en cubeta plástica y se selló herméticamente con tapa, e inmediatamente fue trasladado a las instalaciones de la Universidad para su análisis, acidificación y tratamiento térmico.

Análisis fisicoquímicos

Determinación de la acidez en grados Dornic (°D). La acidez Dornic se determinó mediante titulación en un vaso de precipitado de una muestra de 9 mL de lactosuero con solución de NaOH (pureza 97,3 %; marca Fermont) de concentración 0,1 N estandarizado empleando como indicador fenolftaleína (1 % en alcohol de 95°). 0,1 mL de NaOH neutraliza

1 mg de ácido láctico = 1 °D. La acidez del lactosuero fue de 11 °D.

Determinación de proteína. Se calculó el nitrógeno total por el método de Kjeldahl haciendo uso de los siguientes reactivos: H₂SO₄ concentrado, p.a. (98 %); catalizador K₂SO₄ o Na₂SO₄ anhidro + CuSO₄·5H₂O, p.a. (relación 10:1); NaOH 40 %; solución de H₃BO₃ 4 %; solución H₂SO₄ 0,2 N; indicador Mortimer (0,016 % rojo de metilo; 0,083 % verde de bromocresol en etanol). Las muestras fueron de 1 a 4 g de suero de acidez 11 °D. Se utilizó como factor de conversión de nitrógeno a proteína el valor de 6,38.

Determinación de grasa. El porcentaje de grasa se determinó por el método Gerber empleando los siguientes reactivos: 10 mL de H₂SO₄ concentrado ($\rho = 1,820$ a $1,825$), 1 mL de alcohol isoamílico y 11 mL de suero de acidez 11 °D.

Determinación de la densidad. Se determinó mediante un lactodensímetro colocando 100 mL de suero de acidez 11 °D a 15 °C para determinar los cálculos directos.

Tratamientos ácido-térmicos

Diversas muestras de suero lácteo con acidez inicial de 11 °D, fueron acidificadas artificialmente con ácido cítrico (pureza 99,7 %; marca Fermont) hasta alcanzar una acidez de 20, 30, 40 50, 60, 70 y 80 °D. Como unidades experimentales quedaron establecidas, las muestras con distintos grados de acidez en volúmenes de 1,0 L colocadas en recipientes de vidrio de capacidad 2,0 L. Las unidades experimentales se colocaron en el interior de ollas de acero inoxidable de capacidad 40 L y se les aplicó tratamiento térmico en baño de maría a temperaturas controladas de 73, 83 y 93 °C (Fig. 1).

Diseño Experimental

Se utilizó un diseño en bloques al azar



Figura 1.- Unidades experimentales en tratamiento térmico.

con arreglo factorial 3x4 (con cuatro repeticiones). Los factores utilizados fueron temperatura de precipitación de proteínas lactoséricas a 73, 83 y 93 °C y contenido de acidez en el suero de leche a 20, 30, 40 y 50 °D (Cuadro 1). El tiempo de acción fue de 15 min. La unidad experimental para cada tratamiento

Cuadro 1.- Tratamientos generados para el primer experimento.

Tratamientos	Factores	
	Temperatura (°C)	Acidez (°D)
T1 = Testigo	Ebullición	11
T2	73	20
T3	73	30
T4	73	40
T5	73	50
T6	83	20
T7	83	30
T8	83	40
T9	83	50
T10	93	20
T11	93	30
T12	93	40
T13	93	50

estuvo constituida por 1,0 L de suero. El testigo (control) fue un tratamiento a temperatura de ebullición con contenido de acidez de 11 °D, que es la acidez normal en la que se obtiene el desuerado de una leche a 18 °D. Para la recolección de la proteína precipitada se utilizaron recipientes de plástico con dimensio-

nes de 30 cm a los que se le colocó un trozo de tela de manta como filtro a la que previamente se le determinó el peso (Fig. 2). El suero lácteo tratado se filtró por gravedad (Fig. 3). El contenido de proteína precipitado (Fig. 4) se pesó en una balanza analítica (Denver, APX-200; máximo 200 g, desviación 0,1 mg).

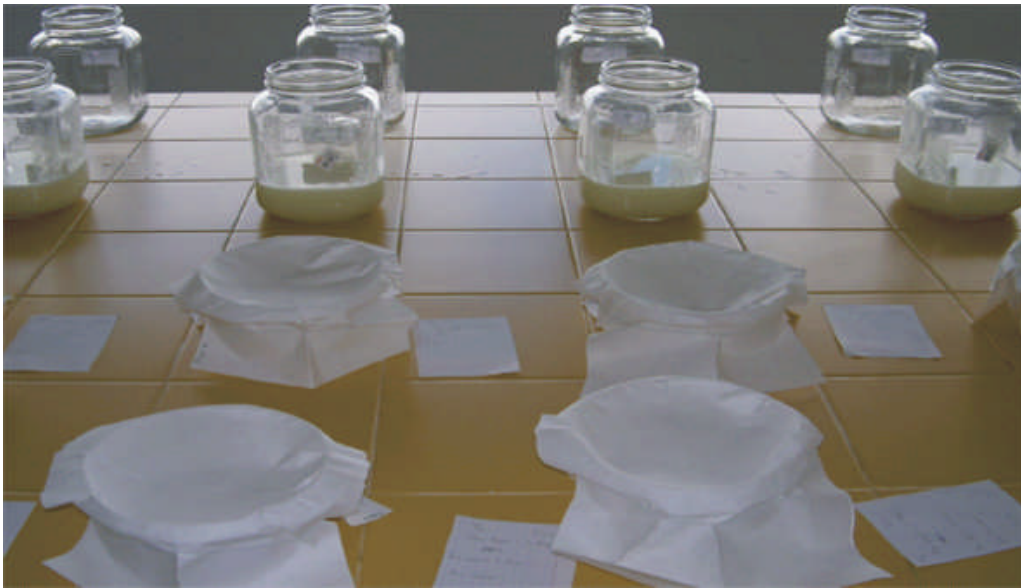


Figura 2.- Montaje previo a la filtración del lactosuero.



Figura 3.- Filtración por gravedad del lactosuero.



Figura 4.- Proteína lactosérica precipitada.

Efecto de la acidez a concentraciones mayores a 50 °D

Culminada la experiencia descrita anteriormente, se realizaron a mayores valores de acidez, debido a que ha sido observado que cuando se obtiene suero del proceso de producción del queso asadero se alcanzan concentraciones mayores a 35 °D, esto con el fin de determinar el comportamiento en rendimiento de proteína precipitada a altos valores de acidez. Las muestras de suero se acidificaron con ácido cítrico. Los tratamientos (con cuatro repeticiones) fueron: 50, 60, 70 y 80 °D, a temperatura de 93 °C y tiempo de 30 min. La unidad experimental para cada tratamiento estuvo constituida por 1,0 L de suero. La recolección de la proteína coagulada y la determinación del peso, se efectuó como en la experiencia anterior.

Efecto de la variación del tiempo

En esta experiencia se utilizó suero acidificado a 50 °D y temperatura de 93 °C, variando el tiempo de acción a 10, 20, 30 y 40 min. Se realizaron cuatro repeticiones. La recolección de la proteína precipitada y la determinación del peso, se efectuó como ya fue descrito.

Análisis estadísticos

El procesamiento estadístico de los datos se llevó a cabo mediante análisis de varianza general, de una vía, prueba de comparación de medias de Tukey y regresión lineal empleando el software Minitab® Statistical Software, versión 14 (Minitab Inc., State College, PA, USA). Las ecuaciones de regresión se obtuvieron con el software Statgraphic® Plus, versión 5.1 (Statistical Graphics Corporation, Warrenton, VA, USA) y los coeficientes de correlación con el software Mstat, versión 4.01 (University of Wisconsin, Madison, WI, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización fisicoquímica

En el Cuadro 2 se presentan los resultados de los análisis fisicoquímicos realizados al lactosuero bovino. El contenido de proteína fue de 8,34 g/L. El valor presentado es igual al indicado por Monsalve y González (2005) para suero de queso gouda (8,3 g/L); similar al publicado por Jakymec *et al.* (2001) de 9,4 g/L en suero fresco de ricota e inferior a los señalados por Quintero *et al.* (2001) en lactosuero fresco (12,0 g/L) y Uribarrí *et al.* (2004) en suero de leche fresco proveniente de la producción de queso ricota (13,4 g/L). El contenido de grasa fue de 4,9 g/L; ligeramente superior al obtenido por Monsalve y González (2005) de 3,4 g/L; y en relación a la densidad, se muestra un valor de 1,023 g/mL que coincidió con el valor de 1,025 determinado por Monsalve y González (2005).

La composición del lactosuero varía en función del proceso tecnológico empleado para la elaboración del queso y la leche de partida (Monsalve y González, 2005), y esta última varía en función de la raza bovina (Hernández *et al.*, 1992; Briñez *et al.*, 2008), la heterogeneidad de los pastos que consumen como alimento, las enfermedades, el clima esta-

Cuadro 2.- Caracterización fisicoquímica del suero lácteo.

Parámetro	Resultado
Proteína (g/L)	8,34
Grasa (g/L)	4,90
Densidad relativa a 15 °C (g/mL)	1,023
Acidez (°D)	11,0

cional (Hernández *et al.*, 1992) y factores climáticos que pudiesen estar asociados a la actividad antropogénica (Arias *et al.*, 2008).

Influencia de la temperatura y la acidez

En el Cuadro 3 se presenta el análisis de varianza para temperaturas de precipitación (73,

83 y 93 °C) y grados de acidez (20, 30, 40 y 50 °D) donde se aprecia que hubo diferencias significativas por efecto de la temperatura ($p < 0,05$) y no por efecto de la acidez ($p > 0,05$). En la medida en que se incrementó la temperatura, se obtuvo mayor cantidad de proteína sérica precipitada (Fig. 5). La prueba de comparación de medias arrojó que a 93 °C se obtuvo el mayor contenido, alcanzando un valor de 6,125 g/L (Cuadro 4). Este valor de temperatura fue, coincidentemente, el utilizado por Gómez-Aldapa *et al.* (2006) en la optimización de un método de extracción de las proteínas del lactosuero mediante precipitación por calor. Asimismo, True (1973) en la evaluación del efecto de variaciones de temperatura en la coagulación de proteínas lactoséricas, determinó que a 93,3 °C se obtiene una buena coagulación y cuajada firme de requesón.

Cuadro 3.- Análisis de varianza para temperaturas de precipitación y grados de acidez.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Valor de $F_{calculado}$	Valor de $F_{tabulado}$	Sig.
Temperatura	2	10,35	0,05 = 5,14 0,01 = 10,92	*
Acidez	3	2,85	0,05 = 4,76 0,01 = 9,78	NS
Error	6			
Total	11			

Sig.: significancia, * = diferencias significativas ($p < 0,05$), NS = no significativo ($p > 0,05$).

Si bien, en cuanto a la acidez del suero y el contenido de proteína lactosérica precipitada en el arreglo factorial 3x4 no hubo significancia estadística, un nuevo análisis de varianza de una vía y prueba de comparación de medias a los tratamientos 20, 30 40 y 50 °D (con cuatro repeticiones), a temperatura fija de 93 °C y tiempo de 15 min fueron realizados con el propósito de determinar la mejor concentración de acidez; determinándose con 95 % de con-

fiabilidad que en la medida en que se incrementó la acidez, se obtuvo mayor rendimiento en contenido de proteína lactosérica (Fig. 6). Mediante la prueba de comparación de medias se distinguieron dos grupos, siendo el grupo *b*, correspondiente a una concentración de acidez de 50 °D el que permitió obtener mayor cantidad, con un valor de 10,050 g/L (Cuadro 5).

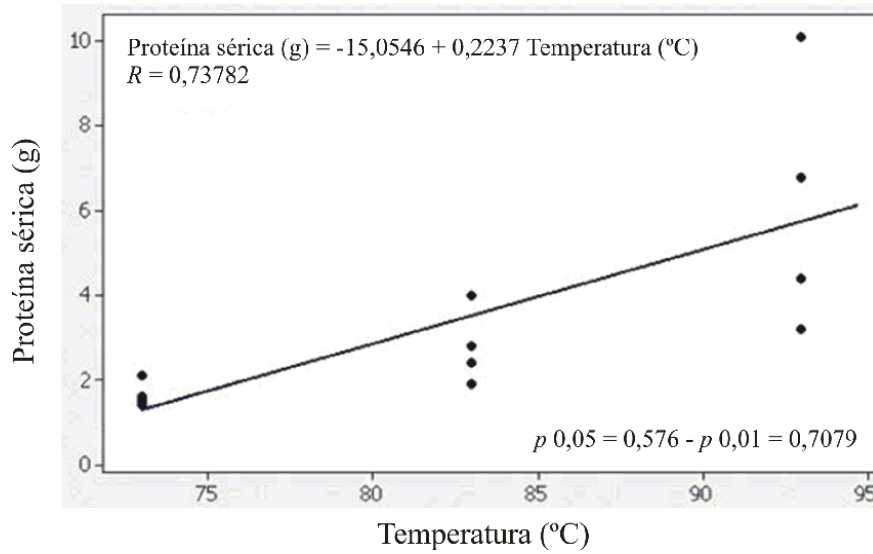


Figura 5.- Regresión lineal entre la temperatura de precipitación y el contenido de proteína lactosérica precipitada.

Cuadro 4.- Prueba de comparación de medias a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Cantidad de proteína (g/L)*
73	1,650 ^a
83	2,775 ^a
93	6,125 ^b

Valores con la misma letra son estadísticamente iguales con Tukey $\alpha = 0,05$.

* Proteína coagulada sin prensar y con contenido de humedad.

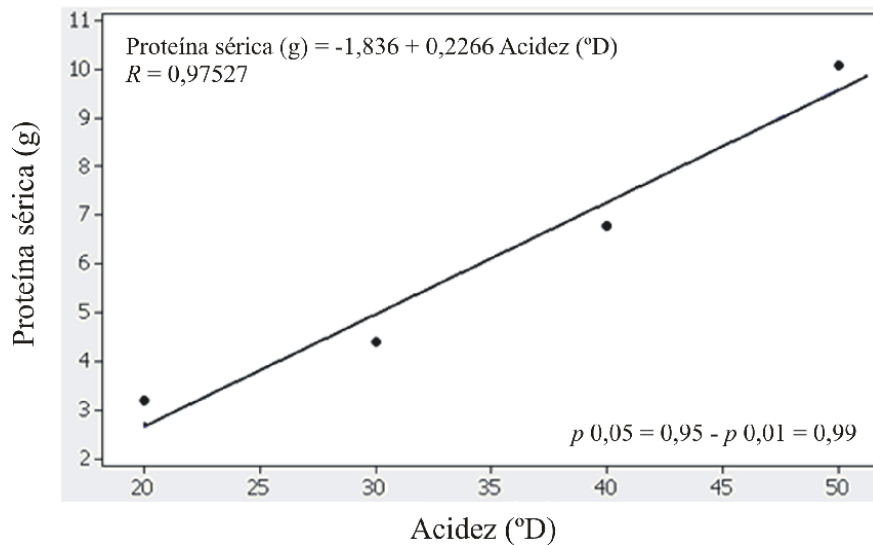


Figura 6.- Regresión lineal entre acidez del suero y contenido de proteína lactosérica precipitada a temperatura fija de 93 °C.

Cuadro 5.- Prueba de comparación de medias a diferentes grados de acidez y temperatura fija de 93 °C.

Acidez (°D)	Cantidad de proteína (g/L)*
20	3,275 ^a
30	4,350 ^a
40	6,700 ^a
50	10,050 ^b

Valores con la misma letra son estadísticamente iguales con Tukey $\alpha = 0,05$.

* Proteína coagulada sin prensar y con contenido de humedad.

Acidez a concentraciones mayores a 50 °D

En el Cuadro 6 se presenta el análisis de varianza para acidez del suero a concentraciones mayores a 50 °D (50, 60, 70 y 80 °D) donde se aprecia que hubo diferencias altamente significativas ($p < 0,01$). En la medida en que aumenta el grado de acidez a valores mayores a 50 °D, la precipitación de proteína lactosérica es menor (Fig. 7). La prueba de comparación de medias arrojó la presencia de tres grupos homogéneos, entre los cuales en el grupo *a*, correspondiente a una acidez de 50 °D se obtuvo el mayor contenido, alcanzando un valor de 46,675 g/L (Cuadro 7).

Si se comparan los resultados del Cuadro 7 con los del Cuadro 5 se aprecia que la mayor cantidad de proteína precipitada, en ambas experiencias, se obtuvo a 50 °D de acidez (46,675 y 10,050 g/L, respectivamente). La diferencia observada fue debido a que el ensayo anterior (Cuadro 5) se realizó durante un tiempo de acción de 15 min, mientras que en este, el tiempo fue de 30 min.

Variación del tiempo

En relación a el efecto de la variación del tiempo de acción (10, 20, 30 y 40 min) bajo condiciones de acidez del suero 50 °D y temperatura de 93 °C, mediante la prueba de comparación se determinaron tres grupos homogéneos ($\alpha = 0,01$), entre los cuales en el

grupo *c*, conformado por tiempos de acción de 30 y 40 min, se obtuvieron los mayores contenidos de proteína precipitada, alcanzándose valores de 48,47 y 49,20 g/L (Cuadro 8). True (1973) alcanzó rendimientos en requesón de 40 y 47 g/L con acidez titulable inicial de lactosueros a 0,13 y 0,14 % y de 52 y 48 g/L a temperaturas de 87,8 y 90,6 °C, concluyendo respecto al tiempo, que una velocidad de calentamiento de $\approx 1,1$ °C/min; permite una mejor coagulación y ofrece una mayor facilidad de separación de la cuajada del lactosuero residual. No obstante en el estudio se estudiaron los efectos de cada variable por separado.

Uribarrí *et al.* (2004), Quintero *et al.* (2001) y Jakymec *et al.* (2001) en la desproteínización de suero proveniente de la elaboración de queso ricota de una misma empresa, en años diferentes, obtuvieron precipitados de proteínas séricas en cantidades de 5,4 g/L (condiciones de temperatura 115 °C, tiempo 20 min), 6,5 g/L (condiciones de temperatura 115 °C, tiempo 15 min, suero acidificado) y 9,1 g/L (condiciones de temperatura 90 °C, tiempo 20 min, suero acidificado), respectivamente.

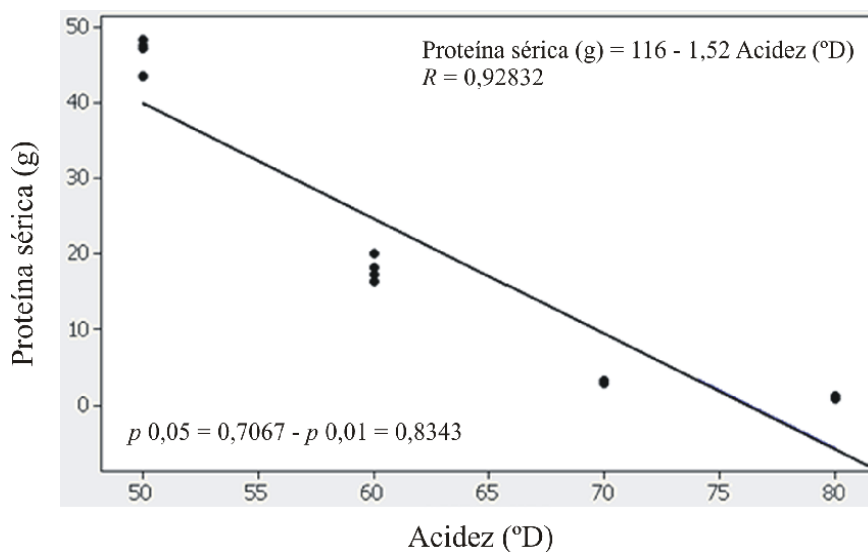
Comparando a Uribarrí con Quintero, que trabajaron a un mismo valor de temperatura (115 °C), el mayor valor obtenido por Quintero puede atribuirse a la acidificación del suero ya que el tiempo de acción fue menor.

Si se compara a Uribarrí con Jakymec

Cuadro 6.- Análisis de varianza para grados de acidez mayores a 50 °D.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Valor de $F_{\text{calculado}}$	Valor de F_{tabulado}	Sig.
Acidez	3	995,54	0,05 = 3,49 0,01 = 5,95	**
Error	12			
Total	15			

** = diferencias altamente significativas ($p < 0,01$).

**Figura 7.-** Regresión lineal entre acidez del suero mayor a 50 °D y el contenido de proteína lactosérica precipitada.**Cuadro 7.-** Prueba de comparación de medias a diferentes grados de acidez mayores a 50 °D.

Acidez (°D)	Cantidad de proteína (g/L)*
50	46,675 ^a
60	18,025 ^b
70	3,025 ^c
80	1,175 ^c

Valores con la misma letra son estadísticamente iguales con Tukey $\alpha = 0,01$.

* Proteína coagulada sin prensar y con contenido de humedad.

Cuadro 8.- Prueba de comparación de medias a diferentes tiempos de acción.

Tiempo (min)	Cantidad de proteína (g/L)*
10	28,88 ^a
20	47,07 ^b
30	48,47 ^c
40	49,20 ^c

Valores con la misma letra son estadísticamente iguales con Tukey $\alpha = 0,01$.

* Proteína coagulada sin prensar y con contenido de humedad.

quienes trabajaron a un mismo tiempo de acción (20 min), el mayor valor de proteína precipitada obtenido por Jakymec, puede ser atribuido también a la acidificación, a pesar de que la condición de temperatura establecida fue menor. Finalmente, al comparar a Quintero con Jakymec, que acidificaron el suero, es de hacer notar que el mayor contenido de proteína fue obtenido por Jakymec empleando menor temperatura y mayor tiempo. La discusión planteada destaca la importancia de establecer las condiciones de acidez, temperatura y tiempo para la obtención de precipitados de proteínas del lactosuero.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En el presente trabajo de investigación se puede concluir que se obtienen los máximos rendimientos de requesón cuando el suero es sometido a 93 °C de temperatura y en condiciones de acidez de 50 °D con tiempos de 30 y 40 min. Cuando el suero se procesa con acidez superior a 50 °D se obtienen menores rendimientos. Es importante que los productores realicen estas rectificaciones al iniciar su producción y obtengan sus máximos rendimientos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abrams, Steven A.; Griffin, Ian J. and Davila, Penni M. 2002. Calcium and zinc absorption from lactose-containing and

lactosefree infant formulas. *Am J Clin Nutrition*. 76:442–446.

Abubakar, A.; Saito, T.; Kitazawa, H.; Kawai, Y. and Itoh, T. 1998. Structural analysis of new antihypertensive peptides derived from cheese whey protein by proteinase K digestion. *Journal of Dairy Science*. 81(12):3131-3138.

Alvarado-Carrasco, Carlos y Guerra, Marisa. 2010. Lactosuero como fuente de péptidos bioactivos. *Anales Venezolanos de Nutrición*. 23(1):42-49.

Arias, R.A.; Mader, T.L. y Escobar, P.C. 2008. Factores climáticos que afectan el desempeño productivo del ganado bovino de carne y leche. *Archivos de Medicina Veterinaria*. 40:7-22.

Baró, L.; Jiménez, J.; Martínez-Férez, A. y Bouza, J.J. 2001. Péptidos y proteínas de la leche con propiedades funcionales. *Ars Pharmaceutica*. 42(3-4): 135- 145.

Benítez, Ricardo; Ibarz, Albert y Pagan, Jordi. 2008. Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 42(2):227-36.

Briñez, Wilfido José; Valbuena, Emiro; Castro, Gustavo; Tovar, Armando y Ruiz-Ramírez, Jorge. 2008. Algunos parámetros de composición y calidad en leche cruda de vaca doble propósito en el Municipio Machiques de Perijá, Estado Zulia, Venezuela. *Revista Científica (FCV-LUZ)*. XVIII(5):607-617.

- El-Sheikh, Mohamed; Farrag, Atif and Zaghoul, Ahmed. 2010. Ricotta cheese from whey protein concentrate. *Journal of American Science*. 6(8):321-325.
- FitzGerald, Richard J.; Murray, Brian A. Walsh, Daniel J. 2004. Hypotensive peptides from milk proteins. *The Journal of Nutrition*. 134:980S-988S.
- Gómez-Aldapa, Carlos A.; Hernández-López, Zenia; Castro-Rosas, Javier y Amaya-Llano, Silvia L. 2006. Optimización del proceso de extracción de las proteínas del lactosuero mediante precipitación por calor. *Revista Salud Pública y Nutrición*. Edición especial N° 14 (Artículo 31).
- Guerrero-Rodríguez, W.J.; Gómez-Aldapa, C.A.; Castro, Rosa J.; González-Ramírez, C.A. y Santos-López, E.M. 2010. Caracterización fisicoquímica del lactosuero en el Valle de Tulancingo. *Revista Salud Pública y Nutrición*. Edición especial N° 9: LA321-LA328.
- Hernández, Moraima; Pérez, Jesús; Faría-R.; José, F. y Boscán-F., Luis A. 1992. Variación de los valores proteicos en muestras de leche de la región zuliana (Venezuela). *Revista Científica (FCV-LUZ)*. II(1):49-52.
- Jakymec, Miguel; Morán, Héctor; Páez, Gisela; Ferrer, José R.; Mármol, Zulay y Ramones, Eduardo. 2001. Cinética de la producción de ácido láctico por fermentación sumergida con lactosuero como sustrato. *Revista Científica (FCV-LUZ)*. XI(1):53-59.
- Jelen, Pavel. 1983. Reprocessing of whey and other dairy wastes for use as food ingredients. *Food Technology*. 37(2):81-84.
- Koutinas, A.A.; Papapostolou, H.; Dimitrellou, D.; Kopsahelis, N.; Katechaki, E.; Bekatorou, A. and Bosnea, L.A. 2009. Whey valorisation: a complete and novel technology development for dairy industry starter culture production. *Bioresource Technology*. 100(15):3734-3739.
- Marcelo, Philipina A. and Rizvi, Syed S.H. 2008. Physicochemical properties of liquid virgin whey protein isolate. *International Dairy Journal*. 18(3):236-246.
- Mena, Pablo Williams. 2002. Formulación y elaboración de dos bebidas refrescantes con base en suero dulce de queso fresco y sabores de frutas. Tesis. Escuela Agronómica Panamericana-Zamorano, Honduras. http://zamo-oti-02.zamorano.edu/tesis_infolib/2002/T1430.pdf
- Miranda-Miranda, Oscar; Ponce-Palma, Isela; Fonseca-Palma, Pedro Luis; Cutiño-Espinosa, Magalis; Díaz-Lara, Rosa María y Cedeño-Agramonte, Ciro. 2009. Características fisico-químicas de sueros de queso dulce y ácido producidos en el combinado de quesos de Bayamo. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*. 19(1):21-25.
- Monsalve, Jorge y González, Danelis. 2005. Elaboración de un queso tipo ricota a partir de suero lácteo y leche fluida. *Revista Científica (FCV-LUZ)*. XV(6):543-550.
- Mullally, Margaret M.; Meisel, Hans and FitzGerald, Richard J. 1997. Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activities of gastric and pancreatic proteinase digests of whey proteins. *International Dairy Journal*. 7(5):299-303.
- Muñi, Agnel; Páez, Gisela; Faría, José; Ferrer, José y Ramones, Eduardo. 2005. Eficiencia de un sistema de ultrafiltración/nanofiltración tangencial en serie para el fraccionamiento y concentración del lactosuero. *Revista Científica (FCV-LUZ)*. XV(4):361-367.
- Parra-Huertas, Ricardo Adolfo. 2009. Lactosuero: importancia en la industria de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*. 62(1):4967-4982.
- Pihlanto-Leppälä, Anne; Rokka, Timo and Korhonen, Hannu. 1998. Angiotensin I

- converting enzyme inhibitory peptides derived from bovine milk proteins. *International Dairy Journal*. 8(4):325-331.
- Quintero, Harvey; Rodríguez-Marval, Mawill; Páez, Gisela; Ferrer, José; Mármol, Zulay y Rincón, Marisela. 2001. Producción continua de proteína microbiana (*K. fragilis*) a partir de suero de leche. *Revista Científica (FCV-LUZ)*. XI(2):87-94.
- Rojas-V., Evelin; Valbuena-C., Emiro; Torres-F., Gabriel; García de H., Aiza; Piñero-G., María y Galindo-A., Luz Mila. 2009. Aislamiento y rendimiento del GMP mediante precipitación de lactosuero con ácido tricloroacético. *Revista Científica (FCV-LUZ)*. XIX(3):295-302.
- Sinha, Rhicha; Radha, C.; Prakash, Jamuna and Kaul, Purnima. 2007. Whey protein hydrolysate: functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation. *Food Chemistry*. 101(4): 1484-1491.
- True, L.C. 1973. Effect of various processing conditions on the yield of whey ricotta cheese. *Proceedings of the 10th Annual Marschall Invitational Italian Cheese Seminar*. Madison, WI, EUA.
- Uribarrí, Lauris; Vielma, Alex; Páez, Gisela; Ferrer, José, Mármol, Zulay y Ramones Eduardo. 2004. Producción de ácido láctico a partir de suero de leche, utilizando *Lactobacillus helveticus* en cultivo continuo. *Revista Científica (FCV-LUZ)*. XIV(4):297-302.
- Valencia-Denicia, Elizabeth y Ramírez-Castillo, María Leticia. 2009. La industria de la leche y la contaminación del agua. *Elementos*. 16(73):27-31.