



Universidad Técnica Particular de Loja
BIBLIOTECA GENERAL

Revisado el XII-22-88

Valor 9.200

Nº Clasificación 1988 F 363 IA 43



10
572
Enzimas
Cruje

572.7
6572

572.7





Universidad Técnica Particular de Loja

FACULTAD DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS AGROPECUARIAS

Obtención de Renina (cuajo animal) en polvo

*TESIS PREVIA A LA OBTENCION
DEL TITULO DE INGENIERO EN
INDUSTRIAS AGROPECUARIAS.*

CALIXTO A. FERNANDEZ PALACIOS

DIRECTOR

Ing. José Bonilla

LOJA - ECUADOR

1 9 8 8



Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NY-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

2016

CERTIFICACION

Como Director de Tesis, CERTIFICO que el presente trabajo ha sido elaborado en su totalidad por el Sr. Calixto A. Fernández el mismo que luego de una prolija revisión ha merecido su aprobación.



Ing. José Bonilla

DIRECTOR DE TESIS

Loja, marzo de 1988

DEDICATORIA

A mi familia con
carino.

CONTENIDO

1. Introducción
2. Las Enzimas
 - 2.1 Generalidades sobre las enzimas
 - 2.2 Formas de actuar de las enzimas
 - 2.3 Condiciones para la actividad enzimática
 - 2.4 Clasificación de las enzimas
 - 2.5 Los rumiantes como proveedores de enzimas
 - 2.6 Extracción y preparación del cuajo
 - 2.7 Poder coagulante o fuerza del cuajo
 - 2.8 Mecanismo de coagulación de la leche por el cuajo
 - 2.9 Práctica de la adición del cuajo
3. Parte Experimental
 - 3.1 Material y métodos de extracción
 - 3.2 Descripción del proceso
 - 3.3 Características del cuajo extraído
4. Conclusiones y recomendaciones

Bibliografía

PROLOGO

La evolución que ha experimentado la agroindustria en estos últimos años, es cada vez sorprendente, por el apareamiento de nuevos productos ya preparados, "listos" para el consumidor, tales como bebidas fermentadas, productos cereales, derivados de cárnicos, lácteos, frutas, etc. Pero existe una limitante, pues el poder adquisitivo está permitido sólo para ciertos grupos quedando relegadas las mayorías de las clases populares. Los altos precios que deben pagarse por aquellos productos se deben a los costos de producción como la falta de tecnología adecuada a nuestro medio para producirlos.

Con estas consideraciones y dejando de lado las modalidades teorizantes en una investigación, he tratado de ser objetivo y práctico a fin de hacer un aporte a las industrias lácteas como al pequeño productor que tiene que ver con la elaboración de quesos, he llevado adelante el presente Tema de investigación que consiste en obtención de Renina (Cuajo Animal) en polvo

Como una forma provechosa de utilizar las oportunidades que ofrece el amplio campo de la enzimología, que ha menudo es subestimado por quienes están relacionados con la producción alimentaria.

La modalidad de esta investigación se realizó considerando las formas tradicionales que en nuestro medio se siguen para la obtención de este producto con sincero propósito de mejorarlo y ser accesible a quienes requieran de este proceso cumpliendo así con el principio de la Universidad Técnica de promover el desarrollo del sur del País.



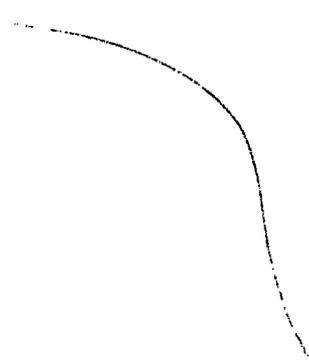
RESUMEN

Se estudió la obtención, aplicación y conservación de la renina, mediante diferentes ensayos hasta encontrar en cada caso el método óptimo.

En la obtención se utilizó el cuajo fresco proveniente de bovinos, y el cuajo seco que se consigue en el mercado, mediante maceración con diferentes componentes se logró obtener un extracto líquido, al que se clarificó y concentró por liofilización y atomización, con este concentrado en polvo se hizo la aplicación en diferentes cantidades a leche fresca hasta lograr una coagulación normal.

Finalmente se estudió si la conservación durante 5 meses de las enzimas concentradas producía algún cambio en la actividad de las mismas.

CAPITULO I



I. INTRODUCCION

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El escaso conocimiento acerca de la importancia que tienen las enzimas dentro de la agroindustria, ha repercutido en la escasez de investigaciones referidas a este tema, el bosquejo del esquema que permita la obtención de renina en polvo, inicia el logro de un factor elemental para las industrias lácteas, y abre el camino para investigaciones complementarias.

1.2. SIGNIFICADO DEL PROBLEMA A NIVEL RURAL E INDUSTRIAL

Los productos agroindustriales, entre los que se encuentran los derivados de la leche, el queso específicamente, en general se presentan al consumidor como resultado de una elaboración empírica, en el que se emplean coagulantes de tradición como es el cuajo obtenido en la propia finca de acuerdo a las habilidades

del ganadero o del encargado a esta actividad. El producto terminado lógicamente no reúne las características de calidad elementales, esta circunstancia exige el mejoramiento de estos métodos mediante el uso de la tecnología apropiada y adecuada a nuestro medio.

En la industria, donde se requieren enzimas en mayor cantidad y de buena calidad, se recurre a la importación, elevándose de esta manera el costo del producto final, limitando la adquisición a un buen grupo del sector popular.

1.3. OBJETO DE LA INVESTIGACION

El objetivo planteado es, imitando el proceso tradicional de obtención de enzimas, analizar hasta encontrar el método optimizado cuyas cualidades de aplicación y conservación aseguren el contar con un producto confiable.

1.4. SUPUESTOS Y LIMITACIONES

Teniendo en cuenta que las enzimas obtenidas en la presente investigación deberán presentar cualidades similares a las de importación, a fin de sustituirlas a corto plazo. Las limitaciones que se presentan se reducen a los equipos con los que se cuenta o bien la provisión de materias a partir de las que se inician los ensayos de obtención.

CAPITULO II

II. LAS ENZIMAS

2.1. GENERALIDADES SOBRE LAS ENZIMAS

La palabra enzima (del griego, "en levadura") fue introducida en 1878 por el fisiólogo Alemán W. Kuhne. Las enzimas participan esencialmente en la asimilación de materiales nutricios y en la biosíntesis del protoplasma; estas y muchas otras observaciones nos conducen a la convicción de que las enzimas son los catalizadores orgánicos esenciales que poseen y producen todas las células vivas, sin las cuales serían imposibles los procesos vitales. (1)

Todas las enzimas investigadas hasta ahora pertenecen al grupo de las proteínas y por ello tienen todas las propiedades características de las mismas, de estas propiedades la de mayor significación para la enzimología es la labilidad de la estructura enzimática.

1. Babor I. pp. 1062-1063

Las modificaciones en la estructura o la desnaturalización significan lo mismo que pérdida de la actividad enzimática. La estabilidad de las enzimas se verá influenciada entre otros factores por la temperatura, la concentración en ión hidrógeno y la concentración en sales; mientras que a elevada temperatura los ácidos y bases fuertes o la agitación mecánica fuerte producen una desnaturalización de la molécula de proteína nativa, las concentraciones elevadas de sales o alcohol llevan en general a una precipitación reversible de la proteína nativa, con lo que la actividad permanece. Esta propiedad resulta de utilidad en la tecnología de preparación de enzimas. Las enzimas precipitadas reversiblemente pueden separarse de la mezcla de sustancias mediante centrifugación o filtración. El hecho de que las proteínas se comporten como electrolitos en un campo eléctrico se utiliza para la separación electroforética de enzimas.

Como catalizadores las enzimas tienen las siguientes propiedades:

1. Actúan en cantidades mínimas.
2. Resultan inmodificadas después de la reacción.
3. Dentro de unos límites de actividad más amplios no tienen influencia sobre la situación del equilibrio de la reacción sino que claramente aceleran su establecimiento.

2.2. FORMAS DE ACTUAR DE LAS ENZIMAS

La parte directamente responsable de la reacción catalítica dentro de una molécula de una enzima se denomina "centro activo". Este puede ser bien una parte determinada de la propia molécula proteica o estar formado por un "grupo prostético" que carezca de carácter proteico. Los grupos prostéticos, que contrariamente a las proteínas son relativamente termoestables, son derivados vitamínicos múltiples, poseen en general un peso molecular de 10^2 hasta 10^3 y se pueden precipitar en muchos casos de las proteínas enzimáticas que ya no serán activas. El centro activo de una enzima determina el tipo de reacción enzimática del sustrato, mientras que la geometría estructural de la enzima -el lugar utilizable de la misma- es la responsable de la especificidad respecto al sustrato de la enzima, esto es de la elección del sustrato a reaccionar. Los productos de la reacción formados a partir de una molécula de sustrato se separarán de la enzima en cuanto se consiga la transformación, para que éste se encuentre libre para dar lugar a otras reacciones del mismo tipo. La velocidad de este proceso cíclico oscila según cada enzima entre 10^2 y 10^7 moléculas de sustrato / centro activo / minuto.

De esta forma una enzima puede reaccionar, en sólo un minuto con el sustrato en hasta mil veces su peso específico.

2.3. CONDICIONES PARA LA ACTIVIDAD ENZIMATICA

2.3.1. Concentración del sustrato

A partir de la figura Nro 1 se puede imaginar fácilmente que el número de intercambios por unidad de tiempo depende de la probabilidad del choque entre la enzima y el sustrato. Esta probabilidad se

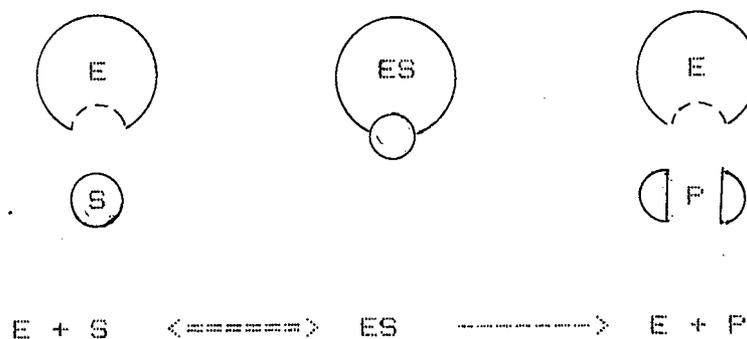


Fig. 1 Representación esquemática de la formación del complejo enzima-sustrato. E = enzima, S= sustrato, P = producto, de la reacción.

determinará manteniendo la concentración de la enzima constante, a través de la concentración del sustrato.

2.3.2. Temperatura

La velocidad de una reacción enzimática depende de la temperatura tal y como lo hacen todas las reacciones químicas. Una elevación de la temperatura de 1°C . supone una elevación de la velocidad de

reacción en un 10 % o más.

Para la determinación de la actividad enzimática, en la que se mide la transformación de sustrato por unidad de tiempo, es mantener la temperatura constante. Debido a las propiedades protéicas de las enzimas, la temperatura no puede aumentarse ilimitadamente para aumentar la velocidad de reacción, porque el aumento de temperatura supone desnaturización adicional, es decir pérdida de actividad, en la mayor parte de los casos en las proteínas animales, el óptimo de la temperatura se encuentra en las proximidades de la temperatura corporal; en los vegetales puede encontrarse entre los 60 y 70 ° C.

2.3.3. Valor del pH

Los iones H^+ no solo ejercen una desnaturización ácida de las enzimas sino que además influyen sobre la carga eléctrica de las enzimas y del sustrato y por lo tanto sobre la formación del complejo enzima-sustrato. Para cada enzima se puede tener un valor de pH óptimo distinto.

2.3.4. Otros factores

La actividad de las enzimas también puede atrofiarse por concentraciones salinas elevadas y por concentraciones alcohólicas también elevadas, probablemente debido a que la capa de hidrato de los

grupos ionizables de la molécula protéica se verá afectada y por lo tanto la estructura superficial, llevando esto a una variación de la fuerza de enlace entre enzima y sustrato. Hay una serie de sustancias que influyen sobre la actividad enzimática incluso en pequeñas concentraciones, mientras que mediante la adición de activadores puede llegar a conseguirse un aumento en la velocidad de reacción. Al grupo de activadores pertenecen por ejemplo iones y también compuestos sulfhidrúlicos que reactivan aquellas enzimas cuyas posiciones de enlace se pudieran bloquear por oxidación del grupo sulfhidrilo. Al grupo de inhibidores pertenecen los iones de metales pesados que bloquean en algunas enzimas los grupos SH activos así como los cianuros, algunos pesticidas y detergentes.

2.3.5. Especificidad enzimática

La propiedad más notoria e importante de las enzimas es su elevada especificidad catalítica, es decir, la posibilidad de reaccionar con sólo determinado sustrato. Por lo tanto mediante la utilización de enzimas se puede llegar a recoger una sola sustancia en forma específica y cuantitativa a partir de una mezcla de sustancias que contengan un gran número de componentes parecidos. (4)

2.4. CLASIFICACION DE LAS ENZIMAS

Como las enzimas conocidas en la actualidad son unas 700 se hace cada vez más importante el poseer un esquema preciso de clasificación y nomenclatura (12). Según la recomendación de la International Union of Biochemistry (IUB) el nombre de una enzima está formado por tres partes:

- La primera parte designa el (o los) sustrato (s),
- La segunda parte dice algo sobre el tipo de reacción catalizada
- La tercera parte está formada por el subfijo "asa" (4)

Las enzimas se clasifican en seis grupos principales como se muestra en la siguiente tabla

4. Lippke G. pp. 108-112

12. Trease G. pp. 560 - 570



TABLA No 1

CLASIFICACION DE LAS ENZIMAS

GRUPO	NOMBRE COMUN	NOMBRE SISTEMATICO
1) Oxireductasas	Glucosa deshidrogenasa	β -D-Glucosa: NAD(P) oxireductasa
2) Transferasas	α -Glucán fosforilasa	α -1,4 Glucán; ortofosfato-glucosiltransferasa
3) Hidrolasas	Lipasas	Glicerol-éster hidrolasa
	Clorofilasa	Clorofil-clorofilido-hidrolasas
	Tanasa	Tanino-acil-hidrolasa
4) Liasas	Aldoliasa	Cetosa-1-fosfato aldehido-liasa
5) Isomerasas	Maleato isomerasa	Maleato cis-trans-isomerasa
6) Ligasas	Aspargina sintetasa	L-Aspartato:amino ligasa (ADP)

La anterior relación posee una numeración de clasificación para cada enzima, por ejemplo a la enzima Renina, le corresponde el número 3.4.4.3. El primer número se refiere al tercero de los 6 grupos principales, y los otros números a posteriores subdivisiones.

El grupo de hidrolasas (3) comprenden muchos tipos diferentes de los cuales tienen importancia industrial:

a) Hidrólisis de ésteres.... Se incluyen aquí las lipasas

que pueden ser de origen vegetal o animal, hidrolizan los glicéridos.

- b) Hidrólisis de azúcares y heterósidos. Todas las enzimas que hidrolizan azúcares, carbohidratos y heterósidos pertenecen al importante grupo de las glucósido-hidrolasas (3.2.1), hidrolizan azúcares: β -fructofuranosidasa (sacarasa o invertasa), lactasa, maltasa, genciobiasa, y trealasa. Hidrolizan polisacáridos: α -amilasa, β -amilasa, celulasa, liquenasa, inulasa. Hidrolizan heterósidos: β -glucosidasa o β -D-glucósido-glucohidrolasa.
- c) Hidrólisis del enlace C-N.... Enzimas que actúan sobre los enlaces peptídicos, pertenecen a este grupo las enzimas de origen animal: pepsina, renina, tripsina, trombina y plasmina, enzimas vegetales papaina, bromelina y ficina. (12)

2.4.1. Enzimas Industriales

Aunque la cantidad de enzimas conocidas es realmente extraordinaria, sólo unas pocas se producen con finalidad industrial. De acuerdo a su origen, pueden clasificarse en: microbiológicas, por ser de origen microbiano; vegetales, por aislarse a partir de plantas y, finalmente, enzimas de origen animal.

2.4.1.1. Enzimas de origen microbiano

Se obtienen industrialmente a partir de cultivos de microorganismos seleccionados. Muchos de

éstos segregan enzimas, que pueden estar contenidos en el interior del cuerpo celular o bien lo segregan al medio de cultivo; los cultivos pueden hacerse en superficie o sumergidos, la extracción es mediante la filtración de los medios de cultivo, utilizando disolventes orgánicos, como metanol, etanol, acetona, etc., los concentrados pueden secarse posteriormente al aire o en vacío. Entre otros tenemos:

- **Amilasas.**- Pueden dividirse en: los que dextrinizan el almidón o lo liquifican, hidrolizando los enlaces glucosídicos en diversos puntos de la gran molécula de almidón. Los que lo sacarifican, son los que producen grandes cantidades de azúcares reductores a partir de almidones o dextrinas, los productos finales de la reacción suelen ser predominantemente glucosa.

- **Proteasas microbianas.**- Se emplean para curtir cuero quitar manchas en las tintorerías, en la elaboración de cervezas, en la industria textil y papelera y para reblandecer la carne, pero en esta aplicación no aventajan a la papaina.

- **Enzimas microbicas pécticas.**- Pueden obtenerse del *Aspergillus niger* y otros hongos, estas enzimas actúan sobre la pectina o el ácido péctico y constituyen preparaciones comerciales para la elaboración de zumos de fruta.

- Invertasa microbiana.- existen preparaciones a partir de la levadura particularmente del *Saccharomyces cerevisiae*, la levadura desecada constituye una preparación bruta de invertasa que es apta para elaborar ciertas melazas especiales, en confitería para elaborar caramelos rellenos de líquido.

- Lactasa microbiana.- se utiliza principalmente para la producción de suero de leche; hidrolizados y lactosa sobre todo en piensos concentrados, también aplicación en la elaboración de helados y en la leche concentrada, esta enzima puede obtenerse del *Saccharomyces fragilis*; la leche contiene el azúcar denominado lactosa, producto que es un disacárido compuesto de glucosa y galactosa, la enzima lactasa rompe este disacárido en sus dos componentes con lo cual se evita el problema de la formación de cristales de lactosa en quesos y helados que cuando se encuentran presentes en los helados producen una sensación arenosa en la boca.

- Glucosa-oxidasa microbiana.- se aplica esta enzima para destruir pequeñas concentraciones de azúcar en la producción industrial de blanco de huevo a partir de la albúmina de huevo; puede aplicársela para suprimir oxígeno en presencia de un exceso de glucosa en la elaboración de mayonesa, bebidas gaseosas o para suprimir el oxígeno de las vasijas cerradas que contengan productos alimenticios

desechados.

- Lipasas microbiológicas.- sirven para obtener concentrados de las vitaminas liposolubles al hidrolizar una porción del aceite y separar los productos de hidrólisis consiguiéndose un producto muy concentrado y relativamente económico, en farmacia se utilizan lipasas en la elaboración de productos digestivos para geriatría. (11)

TABLA No 2

ALGUNAS ENZIMAS IMPORTANTES Y LOS MICROORGANISMOS QUE LAS PRODUCEN

ENZIMA	BACTERIA QUE LA PRODUCE
Amilasas	Bacillus subtilis B. polymixa
Dextran-sacarasa	Leuconostoc mesenteroides
Descarboxilasa	Aerobacter aerogenes
Penicilinasas	B. brevis
	<u>Levadura que la produce</u>
Invertasa	Saccharomyces cerevisiae
Lactasa	S. fragilis, Torula cremoris
Lipasa	Candida lipolytica
	<u>Mohos que la producen</u>
Amilasas	Aspergillus niger, Rhizopus oryzae
Celulasa	Myrothecium verrucaria
Glucosa-oxidasa	Penicillium notatum

11. Rafols. W. pp. 571-610

Lipasa	A. luchuensis
Pectinasas	Byssochlamys fulva
Proteosa	Morrierella renispora

TABLA No 3

ALGUNAS ENZIMAS DE ORDEN MICROBIANO Y SUS APLICACIONES

ENZIMA	APLICACIONES
Amilasas	Licuación y sacarificación del almidón
- Amilasa Licuante	Reducción de la viscosidad de los jarabes de chocolate
	Apresto de papel y textiles (encolado)
Destrinogénica Sacarificante	Eliminación de apresto en textiles
	Clarificación del jugo de frutas
	Producción de jarabe de maíz
- Amilasa Sacarificante	Modificación de la miga en la industria panadera.
- Dextran-sacarasa	Producción de dextrano y de fructosa
- Glucosa-oxidasa	Eliminación de glucosa en huevos antes de la desecación
- Invertasa	Producción de núcleos blandos en bombones
- Lactasa	Prevención de estructura arenosa en productos lácteos
- Lipasa	Fabricación de quesos usando leche pasteurizada
	Clarificación de jugos de frutas y
- Enzimas pécticos	vinos; aceleración de la filtración

- de productos frutales que contengan pectina
- Penicilinasas Destrucción de la actividad antibiótica de la penicilina
 - Enzimas proteolíticas Licuación e hidrólisis de la caseína, lactoalbúmina, gelatina.
 - (peptonizantes y peptizantes) Eliminación de turbidez por enfriamiento en la cerveza, pelado de pieles mojadas, eliminación de colorantes (10)

2.4.1.2. Enzimas de origen animal

Las enzimas de residuos animales más corrientemente utilizadas en la industria, son:

- Pancreatina, se obtiene del páncreas de los ganados vacuno y porcino. La citada glándula contiene lipasa que digiere las grasas, dos proteinasas de tipo pancreático, tripsina, quimotripsina y una amilasa pancreática que es una alfa-amilasa. Para ciertos usos las glándulas pancreáticas se secan y una vez obtenido el polvo se criba con el fin de separar ciertas fibras, pudiéndose aplicar directamente. Mediante la extracción con disolventes orgánicos se obtiene la insulina, casi toda la insulina comercial se obtiene del páncreas de buey o de cerdo.
- Pepsinas, se encuentran en el jugo gástrico segregadas por un gran número de células de la mucosa gástrica;

tienen poder digestivo para las proteínas. Para la preparación comercial se parte generalmente de la mucosa gástrica de cerdo y de buey. Las aplicaciones de pepsina son muy numerosas, en Medicina combate ciertas alteraciones gástricas formando parte de distintos preparados farmacéuticos, se usa en la fabricación de peptonas y en la digestión de la gelatina para recuperar la plata de las películas fotográficas.

- Renina o Cuajo, es segregado por el cuarto estómago de terneros o corderos jóvenes, aunque esta enzima es utilizada generalmente en la fabricación de quesos, en algunos países y esta Universidad se han obtenido enzimas de origen microbiano para sustituirla.
- Tripsina, como producto comercial se elabora tripsina a partir del páncreas del cual se han suprimido la mayor cantidad de amilasa y lipasa que suele contener y se han dejado únicamente las enzimas proteolíticas.

2.4.1.3. Enzimas de origen vegetal

Se citan dos grupos importantes: Las proteasas que contienen diversas plantas, y amilasas que generalmente se encuentran en los cereales, industrialmente las proteasas de mayor importancia son:

- Papaína, la papaya contiene un látex que en los últimos años ha llegado a ser uno de los productos más apreciados del comercio por su gran poder de digestión de las proteínas, esta sabia recibe el nombre de "papaína bruta", el látex se obtiene de sangrar los

frutos verdes de los árboles jóvenes, pues el fruto maduro ya no contiene la enzima, las gotas de látex se recogen en un recipiente de loza, se seca rápidamente para evitar pérdidas de enzima, en hornos adecuados sin que sobrepasen los 38 C. Para medir la actividad del látex se vierte una cierta cantidad en la leche, teniendo la facultad de coagularla como el cuajo, en la fabricación de cervezas se aplica papaína para eliminar la turbidez, en las industrias textiles se emplea como agente clarificante, en farmacia entra en la fórmula de numerosos preparados que facilitan la digestión, como antihelmíntico, en la difteria, y en lesiones de la piel.

- Ficina, se obtiene del látex de árboles tropicales del género *Ficus*, la ficina contiene una enzima proteolítica muy potente utilizada en muchas industrias, la enzima cristalizada resulta ser una proteína, se inactiva con agua oxigenada o con yodo.
- Bromelina, se extrae de las raíces, tallos y frutos de la piña americana, es capaz de coagular la leche. Si la actividad de la proteinasa disminuye cuanto más maduro es el fruto de la papaya, esto no sucede en la bromelina. Se precipita bromelina con alcohol, recuperando este disolvente, y el zumo residual por su contenido en azúcar, se emplea para la fermentación alcohólica, 3 litros de zumo fresco producen 5 gramos de enzima casi incolora (11)

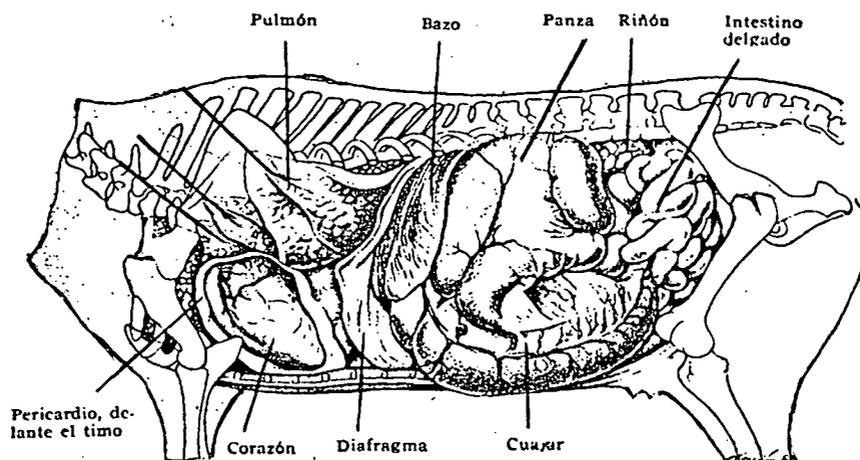
2.5. LOS RUMIANTES COMO PROVEEDORES DE ENZIMAS DE ORIGEN ANIMAL

De entre los rumiantes, los bovinos son los principales proveedores de renina. En el aprovechamiento integral de los bovinos se incluye la utilización de vísceras y órganos abdominales, para el presente estudio se escogió el cuajar que servirá para extraer la renina, enzima que aún no ha podido ser sustituida por otras, que lleguen a reunir las mismas cualidades.

Para conocer mejor el cuajar, denominado técnicamente abomaso, se presenta en una gráfica su situación, luego se hace una descripción del estómago en conjunto para comprender el aporte del cuajar dentro de la actividad digestiva en los bovinos.

2.5.1. Situación de los órganos abdominales y torácicos en los bovinos

Fig 2



2.5.2. Descripción del estómago de los bovinos

El aparato digestivo ocupa la mayor parte del cuerpo del animal, en la anatomía del estómago de los bovinos se distinguen: rumen o panza; retículo, bonete o reddecilla; omaso o librillo; y, abomaso o cuajar, indicados en orden al paso de los alimentos. El rumen es la cavidad mas grande que poseen los bovinos en este aspecto. Mientras el animal es lactante el rumen es más pequeño que el retículo y no es activo.

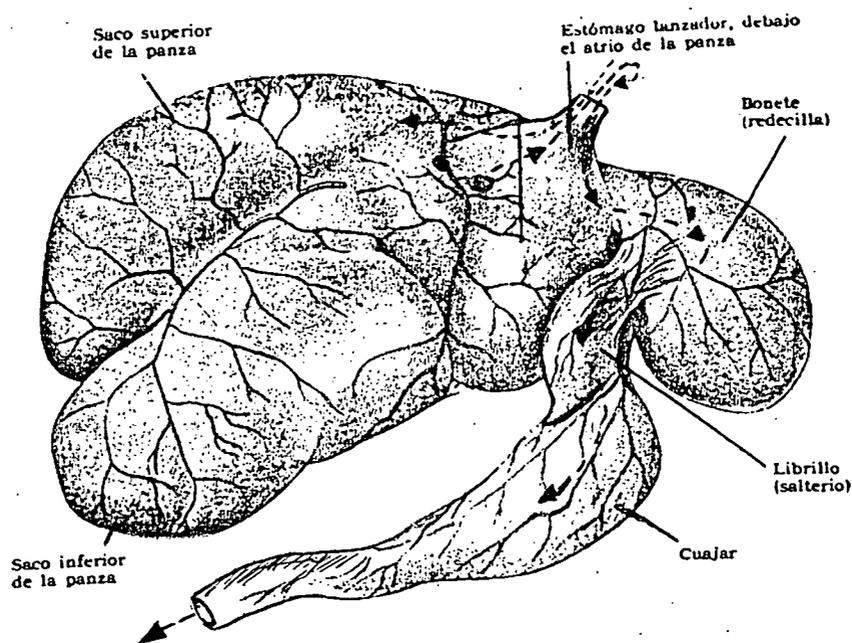


Fig 3 Estómago compuesto multilobular de los bovinos, las flechas indican el paso de los alimentos.

Es a partir de la ingesta de alimentos bastos (hierba, heno) que el rumen empieza a desplegarse, ocupando pronto el espacio que le corresponde. El retículo o reddecilla es más compacto que el rumen y muestra una fuerte musculatura. Su membrana mucosa está

dividida en cuadrículas que le dan la apariencia de una red. Otra característica es la ranura esofágica que lo atraviesa desde la embocadura del esófago hasta la entrada del abomaso, por esta ranura o canal va la leche directamente al abomaso en los animales jóvenes, sin pasar por las demás cavidades gástricas. El librillo ostenta plegamientos delgados que parecen colgados hacia su interior, al igual que las páginas de un libro tendido horizontalmente por su espalda. Estos plegamientos, revestidos de una membrana mucosa, muestran a la vez una serie de verrugas con una superficie muy áspera que sirven para triturar los alimentos

Por fin está el abomaso o cuajar, es el verdadero estómago de los rumiantes (activo, pues químicamente) único departamento gástrico que dispone de glándulas secretoras liberadoras de sustancias y disolventes que preparan la comida para la acción absorbente de los intestinos.

2.5.3. Digestión de los bovinos

Tras un breve masticado, los bovinos tragan bocados de bastante volumen que entran mojados con saliva en la parte anterior del rumen. De ahí son lanzados al retículo de donde vuelven con la misma fuerza. En este vai-vén los componentes del bolo alimenticio quedan perfectamente mezclados y así entran en el rumen. Aunque este órgano no tiene glándulas alberga un gran número de microorganismos y bacterias que destruyen la estructura

de la celulosa. Después de 30-45 minutos empieza la rumia, el animal realiza una concentración del alimento en forma de bola, en la embocadura del esófago, y lo transporta hasta la boca, donde mastica otra vez el bolo alimenticio muy detenidamente.

En un régimen de alimentación normal, se calcula que sólo la rumia mantiene a los animales activos de 6 a 8 horas diarias.

Cuanto más progresa la rumia tanto más líquido se presenta el alimento, la rumia se realiza en cualquier posición cómoda que encuentra el animal, si el animal es molestado se suspende la rumia para reanudarse una vez que el animal vuelve a estar cómodo y tranquilo. En el omaso o librillo sigue el proceso de desmenuzamiento aún por más tiempo después, la masa así preparada pasa al abomaso o cuajar y desde aquí la digestión se realiza como en las demás especies de animales. (6)

2.5.4. El Cuajar

2.5.4.1. Estructura

El abomaso o cuajar se encuentra revestido por una mucosa glandular, de la cual una estrecha zona de glándulas cardiales son de color pálido en el orificio abomasal, el fundus y el cuerpo presentan las glándulas gástricas, mucosa esta que en estado fresco

ofrece un color rojo pálido y numerosos pliegues permanentes en dirección oblicua desde los lados del surco del órgano hacia la curvatura mayor y porción pilórica. Esta última porción está tapizada por una mucosa rugosa y amarillenta, desprovista de pliegues, aquí es donde se localizan las glándulas pilóricas.

Las capas musculares longitudinal y circular del cuajar aumentan de grosor hacia el píloro, al principio gradualmente y luego bruscamente, al iniciarse la porción pilórica; alcanzando su mayor espesor antes de comenzar el duodeno. (8)

2.5.4.2. Propiedades Físico Biológicas

Los pliegues de la mucosa del abomaso sirven para aumentar la superficie del órgano, en la que proliferan las células glandulares, pueden también tener una función fisiológica en el sentido de evitar la estratificación de la digesta y asegurar su mezcla rápida con los jugos abomasales. En los terneros jóvenes alimentados con leche la actividad de la pepsina del fluido abomasal es más alta que en los terneros a los que se alimenta en cubos, sugiriendo que el reflejo de succión es uno de los factores que estimula la secreción (2)

2. Church. D. pp. 20-26
8. Nushag. W. p. 65

2.5.5. Acción bacteriana en la digestión de los bovinos

La actividad bacteriana empieza ya en la boca del animal y sigue por todo el tracto digestivo, en los hervívoros existe una actividad microbiana muy notable en el duodeno y en el colon, aquí las bacterias desgastan y desdoblan la celulosa y la convierten en materia absorbible por el tejido digestivo, se trata de una auténtica división del trabajo puesto que el cuerpo animal no produce enzimas que puedan realizar este proceso, los almidones, sacarosa y proteínas que han resistido el ataque de los demás agentes digestivos pueden transformarse a un estado aprovechable por la acción microbiana, a fin de controlar la población de bacterias y evitar la proliferación excesiva de algunas de ellas debe haber un equilibrio alternante entre acidez y alcalinidad. Exámenes del líquido del rumen han revelado que en un gramo existen entre entre 1000 y 10000 millones de bacterias, es decir existen unos 7 Kg. de bacterias en las cavidades gástricas de un rumiante, teniendo en cuenta que este dato no tiene en cuenta la población bacteriana de los intestinos, esta enorme cantidad de bacterias explica las dos particularidades de los bovinos:

1. Su capacidad para aprovechar la fibra bruta vegetal que resiste el ataque de las secreciones digestivas de los demás animales.
2. Sin la existencia del sistema poligástrico, las

bacterias no dispondrían de un ambiente idóneo ni de suficiente tiempo para atacar y deshacer la estructura de la fibra bruta; sólo rompiendo dicha estructura es posible que los demás órganos puedan realizar la labor preparatoria para la absorción. (6)

2.6. EXTRACCION Y PREPARACION DEL CUAJO

Los fabricantes de cuajo parten de cuajares de ternera lavados y secados, desprovistos de venas y grasa, se cortan en láminas finas que se maceran en cubas con agua salada al 5%, la maceración se lleva a cabo a 28-35 grados centígrados durante 4 - 5 días, la presencia de antisépticos evita la putrefacción, el líquido parduzco obtenido se filtra. La conservación prolongada de los extractos de cuajo líquidos presentan dificultades que se ha intentado solucionar preparando cuajos concentrados en polvo, estos productos se obtienen precipitando el enzima por saturación de la solución con ayuda de cloruro sódico.

2.7. PODER COAGULANTE O FUERZA DEL CUAJO

Los extractos de cuajo comerciales deben tener un poder coagulante cuidadosamente determinado. Este poder llamado comunmente fuerza del cuajo se expresa en Unidades Soxhlet $\cdot \text{ml}^{-1}$ (US. ml^{-1}), indica el número de litros que puede coagular un litro de extracto de cuajo a

la temperatura de 35 grados centigrados en 40 minutos; aplicando la siguiente fórmula se puede determinar facilmente los US que corresponden a determinado extracto:

PARA EXTRACTO LIQUIDO

PARA EXTRACTO EN POLVO

$$\text{US. ml}^{-1} = \frac{V \times 2400}{v \times t}$$

$$\text{US. g}^{-1} = \frac{V \times 2400}{m \times t}$$

Donde: V = volumen de leche (ml)

v = volumen de extracto (ml)

m = peso del extracto en polvo (g)

* t = tiempo expresado en segundos. (13)

* El tiempo que se anota es aquel comprendido desde la adición del enzima a la leche, hasta la formación de una cuajada firme.

2.8. MECANISMO DE COAGULACION DE LA LECHE POR EL CUAJO

Constituyendo la leche un sistema polidisperso esto es sus distintos componentes forman partículas de tamaño diverso en diferentes grados de dispersión y formas de solución, tales como los glóbulos grasos, caseína, albúmina, lactosa, sales, etc; nos interesa aquí el componente caseína debido a la acción del cuajo sobre ésta, acción que se produce en dos fases:

a) Fase enzimática o primaria.- en esta fase se disocian los glucomacropéptidos

- a) Micela intacta de caseína
- b) Partícula de caseína desprovista de coloide protector
- c) Gel de tipo enzimático (paracaseinato cálcico)
 - 1. Capa hidratada
 - 2. Glucomacropéptido (parte hidrófila de la caseína K)
 - 3. Parte sensible al calcio de la caseína K
 - 4. Otras fracciones protéicas sensibles al calcio especialmente caseína. (13)

2.9. PRACTICA DE LA ADICION DE CUAJO.

Inmediatamente después de la adición del cuajo a la leche a temperatura adecuada, se agita perfectamente con objeto de homogenizar la mezcla. Una mala distribución del enzima conduce a la obtención de quesos de calidad muy heterogénea, unos secos y quebradizos y otros mal desuerados. Una vez bien repartido el cuajo se detiene rápidamente la agitación para que la coagulación pueda producirse en un reposo total. Así se evita la producción de una cuajada en hojas o en tiras, perjudicial para la calidad de los quesos. (13)

CAPITULO III

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. MATERIALES Y METODOS DE EXTRACCION.

Se eligió para estas experiencias los cuajares frescos provenientes de bovinos sacrificados en el camal de esta ciudad (Cafrilosa) cuya edad estaba comprendida entre 4 - 5 años. El proceso para la obtención de enzimas coagulantes denominada Renina (cuajo animal) se hizo siguiendo el diagrama siguiente:



3.2. DESCRIPCION DEL PROCESO

3.2.1. Preparación

A los cuajares frescos se los limpió de grasa, venas, sangre y residuos de la digestión mediante un lavado con poca agua, luego se adicionó sal en un 40% y jugo de naranja, se secaron al ambiente durante 25-30 días, al cabo de este tiempo se tuvo el cuajo seco, deshidratado, que sirvió como materia prima para la extracción de las enzimas, un producto similar se encontró en el mercado con la diferencia que contiene una buena cantidad de grasa, la misma que debe ser separada antes del pesado.

3.2.2. Pesado

Se pesa la cantidad original para hacer la relación de dilución en función del volumen de maceración, y al final, facilitar la concentración ya que mientras más diluida esté la solución, el tiempo de concentración es mayor.

3.2.3. Troceado

Para permitir el contacto del líquido con el material seco se corta el cuajo en tiras de 3 x 8 cm. aproximadamente.

3.2.4. Maceración

Se realizó con agua en frascos Erlenmeyer de 500 y 1000 ml. y una estufa para mantener estables las diferentes temperaturas. Esta parte del proceso permitió efectuar la mayor cantidad de variaciones tanto en componentes como la temperatura y tiempo de maceración.

Se determinó el contenido enzimático existente en el extracto mediante pruebas de coagulación efectuadas a intervalos regulares, en estas pruebas se utilizaron vasos de precipitación de 50 ml. a los que se añadió 40 ml. de leche fresca, calentando a 35 C. en baño maria, y se agregó 0,1 ml. de extracto enzimático, el tiempo en producirse el coágulo firme permitió conocer la fuerza o título expresado en US ml⁻¹ según la fórmula detallada en 2.7.

A continuación se detallan las variaciones hechas con los resultados logrados, un gráfico y el respectivo comentario.

3.2.4.1. Maceración utilizando agua y suero:

COMPONENTES	PRUEBAS	
	Aa	Bs
Cuajo deshidratado (g)	100	100
Agua (ml)	200	0
Suero (ml)	0	200
Temp. de maceración (oC)	30	30
US. ml-1 Obtenidos		
3 días	1200	800
4 días	1600	1000
5 días	1620	1000

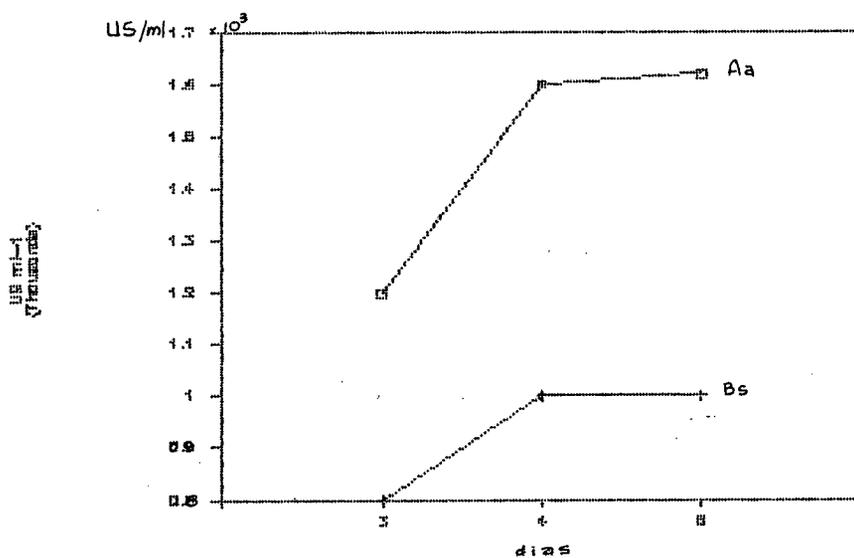


Fig 5. Maceración utilizando agua y suero

Comentario

De acuerdo a la curva, en la maceración se preferirá utilizar agua.

3.2.4.2. Maceración a diferente dilución

COMPONENTES		PRUEBAS			
		Ad	Bd	Cd	Dd
Cuajo deshidratado	(g)	100	100	100	100
Agua	(ml)	100	200	300	400
Temp. de maceración	(oC)	30	30	30	30
US, ml⁻¹ Obtenidos					
3 días		2000	2270	1920	1200
4 días		2100	2400	1910	1140
5 días		2115	2400	1800	1100

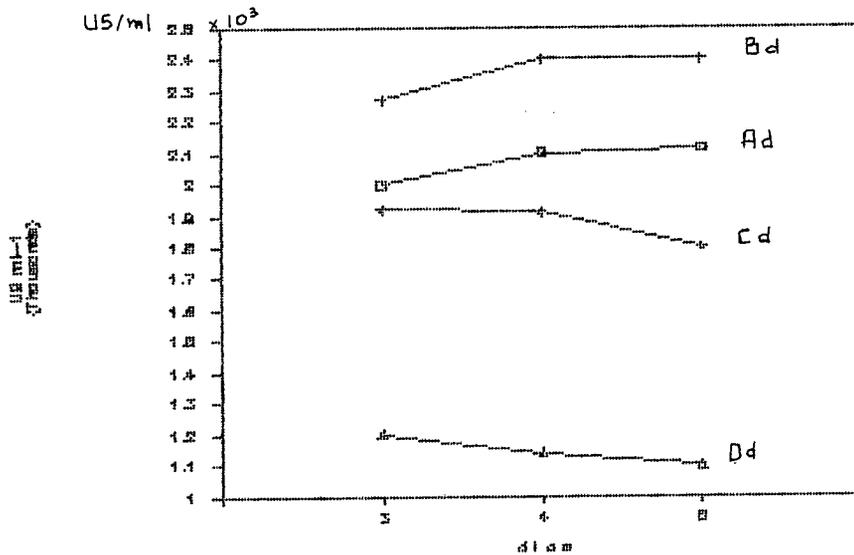


Fig 6. Maceración a diferente dilución

Comentario

La mejor dilución es la prueba Bd, utilizando esta proporción, será necesario determinar que tiempo y temperatura resultan óptimas.

3.2.4.3. Maceración a diferente tiempo y temperatura

COMPONENTES		PRUEBAS			
		At	Bt	Ct	Dt
Cuajo deshidratado	(g)	100	100	100	100
Agua	(ml)	200	200	200	200
Temp. de maceración	(°C)	20	25	30	35
US.ml⁻¹ Obtenidos					
3 días		533	957	3200	1745
4 días		966	1320	3145	1900
5 días		1100	1500	3220	2000
6 días		1200	1509	3320	2000

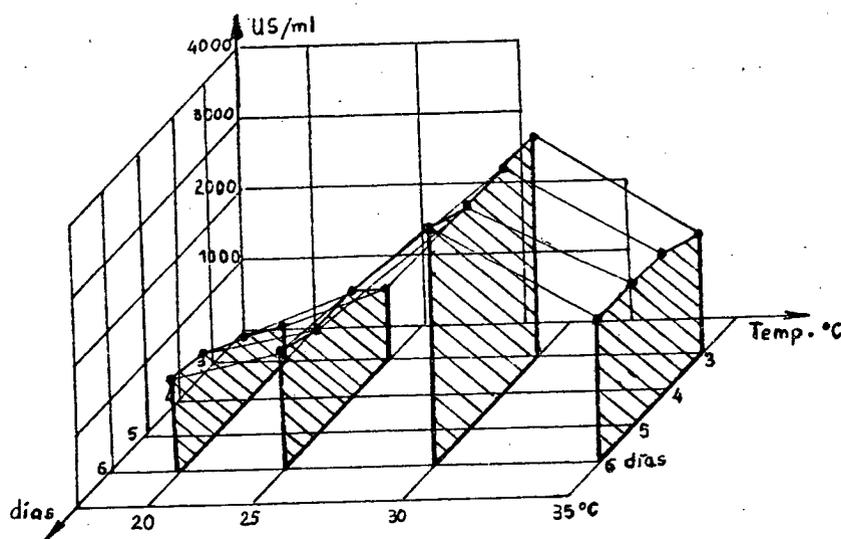


Fig 7. Maceración a diferente tiempo y temperatura.

Comentario

La gráfica demuestra que la temperatura óptima es 30 °C durante 5-6 días de maceración.

3.2.4.4. Maceración con Acido Sulfúrico

COMPONENTES		PRUEBAS			
		As	Bs	Cs	Ds
Cuajo deshidratado	(g)	100	100	100	100
Agua	(ml)	200	200	200	200
SO ₄ H ₂ 1 N	(ml)	5	10	15	20
Temp. / maceración	(oC)	30	30	30	30
US. ml -^e Obtenidos					
3 días		1200	1745	1777	1600
4 días		2133	3200	1920	1750
5 días		2133	2742	1900	1700
\bar{x}		1822	2562	1866	1683

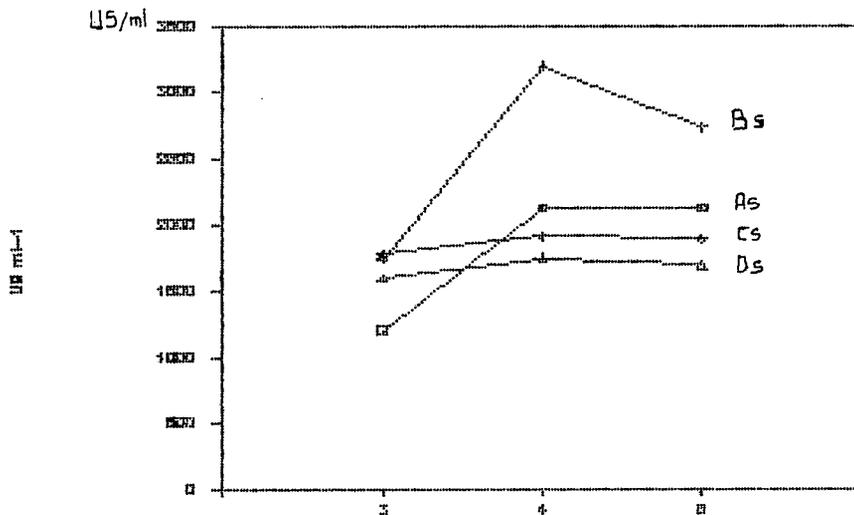


Fig 8. Maceración con ácido sulfúrico.

Comentario

Añadiendo 10 ml. de SO₄H₂ 1 N a la dilución recomendada anteriormente se obtiene la mejor extracción de enzimas.

3.2.4.5. Maceración con Acido Clorhídrico

COMPONENTES	PRUEBAS			
	Ac	Bc	Cc	Dc
Cuajo Deshidratado (g)	100	100	100	100
Agua (ml)	200	200	200	200
ClH 1N (ml)	5	10	15	20
Temp. de maceración (°C)	30	30	30	30
US/ml Obtenidos				
3 días	1300	1200	810	500
4 días	1600	1620	828	660
5 días	1650	1700	859	660
\bar{x}	1517	1507	832	606

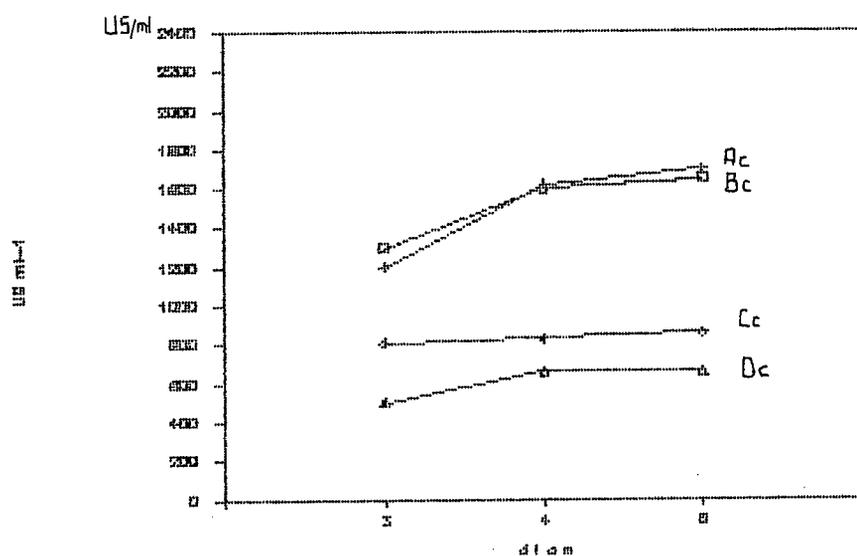


Fig 9. Maceración con Acido Clorhídrico

Comentario

La mejor extracción empleando ClH se realiza en 5 días utilizando 10 ml. IN

3.2.4.6. Maceración con jugo de Naranja

COMPONENTES	PRUEBAS			
	Aj	Bj	Cj	Dj
Cuajo seshidratado (g)	100	100	100	100
Agua (ml)	200	200	200	200
Jugo de naranja (ml)	5	10	15	20
Temp. de maceración (°c)	30	30	30	30
US/ml Obtenidos				
3 días	500	1500	900	550
4 días	711	1600	914	600
5 días	680	3200	800	593
\bar{x}	630	2100	871	581

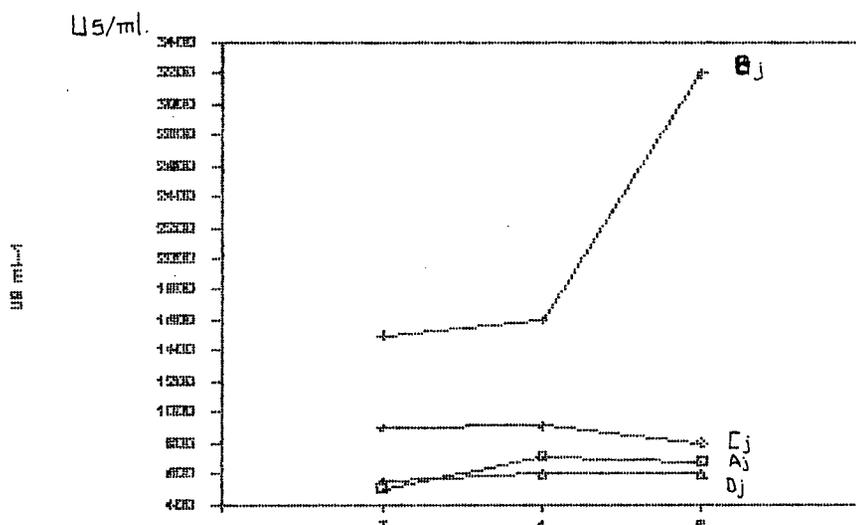


Fig 10. Maceración con jugo de Naranja

Comentario

Mediante el empleo de jugo de naranja, también se obtiene una buena extracción enzimática. Y la mejor opción es utilizar 10 ml por 200 ml de agua y mantener la maceración durante 5 días

3.2.4.7. Maceración con ClNa

COMPONENTES	PRUEBAS			
	An	Bn	Cn	Dn
Cuajo deshidratado (g)	100	100	100	100
Agua (ml)	200	200	200	200
Cl Na (g)	5	10	15	20
Temp. de maceración (°C)	30	30	30	30
US/ml Obtenidos				
3 días	1600	1700	600	590
4 días	2400	3200	1000	820
5 días	2480	3180	1200	960
\bar{x}	2160	2527	933	790

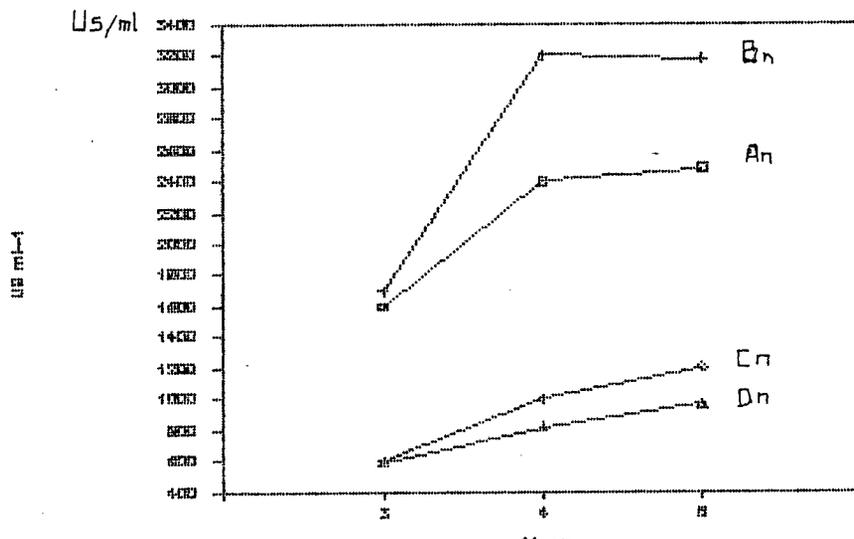


Fig 11. Maceración con Cloruro de Sodio

Comentario

Similar resultado al anterior se obtiene mediante el empleo de Cl Na utilizando 10g. Y manteniendo la maceración durante 5 días.



3.2.4.8. Resultados de la Variables de Maceración

EXTRACCION		PRUEBAS			
		A	B	C	D
ACIDOS		US/ml		OBTENIDOS (X)	
ClH	(c)	1517	1507	832	606
SO4H2	(s)	1822	2562	1866	1683
Jugo nar	(j)	630	2100	871	581
Alcalina					
ClNa	(n)	2160	2527	933	790

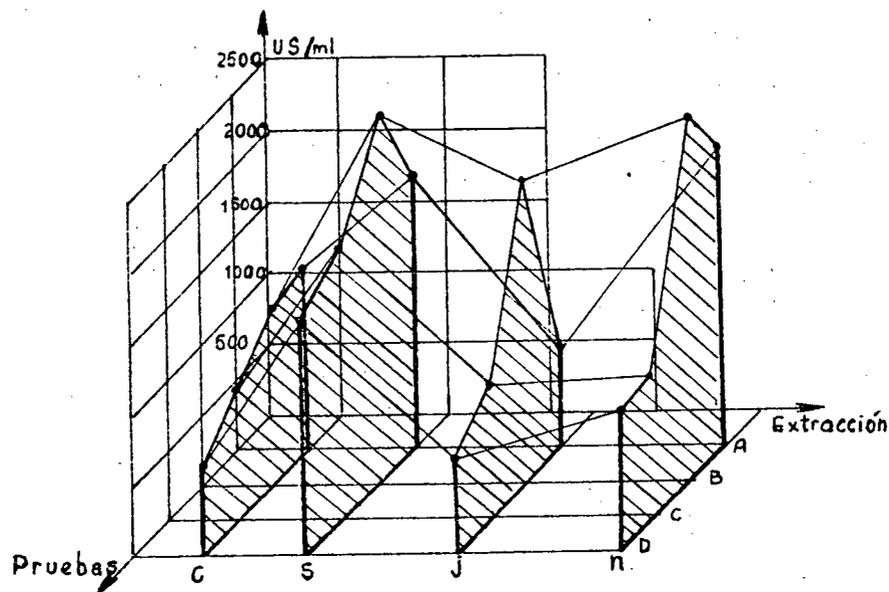


Fig 12. Resultado de las Variables de Maceración

Comentario

La mayor extracción enzimática corresponde a las pruebas en las que se utilizó SO4H2 y ClNa, resultando estas las recomendables en esta investigación.

3.2.5. Filtración

Terminada la maceración se separa el líquido de los pedazos de cuajo mediante un lienzo, se obtiene un líquido parduzco.

3.2.6. Clarificación

Se logró clarificar un tanto el líquido, haciéndolo pasar a través de algodón, hacerlo pasar por el papel filtro, resultó muy lento. Para lograr un mejor resultado se clarificó por sedimentación y centrifugación; una buena sedimentación se produjo cuando se adicionó ClNa hasta llegar a $19-20^{\circ}$ Be. y se dejó reposar por 24 horas, luego se trasvasó el sobrenadante para utilizarlo como extracto líquido o para concentrarlo.

Un procedimiento más rápido de clarificación fue mediante centrifugación a 2000 r.p.m. durante 15 minutos.

3.2.7. Activación

Se determinó aumento en la velocidad de reacción enzimática mediante la adición del 5% de ácido cítrico preparado en dilución 1:100 relación W:v, con lo cual se incrementó el pH llegando a establecer los valores de 4,6 - 5,0 resultando ser estos valores óptimos para la actividad de estas enzimas.

3.2.8. Concentración

3.2.8.1. Al Ambiente

Con el objeto de concentrar el extracto líquido al ambiente, se lo mantuvo en vasos de precipitación destapados para facilitar la evaporación, luego de 20 días no se logró conseguir la concentración mediante este método.

3.2.8.2. En Estufa

Considerando la degradación de las enzimas por efectos del calor, se ensayó manteniendo el líquido enzimático a 30 ° C, luego de 6 días se consiguió reducir el volumen el 50%. Realizadas las pruebas de actividad enzimática se estableció que se produce inactividad, por tanto se suspendió este tipo de concentración, habiendo logrado establecer el siguiente cuadro de datos.

TABLA No 4

Variación de la actividad enzimática debido a la concentración en estufa a 30 ° C

Método de extracción	volumen inicial (ml)	US/ml inicial	Volumen final (ml)	US/ml final
C1H	40	2133	22	1280
S04H2	40	3200	18	1000
Jugo de naranja	40	1600	20	4280
C1NA	40	2133	20	1470

3.2.8.3. Por Liofilización

Utilizando el equipo "Labconco" se logró concentrar renina completamente, obteniendo un polvo de excelentes características, mediante las siguientes condiciones de trabajo.

Presión de la cámara	= 30 micrones (0,03 Atm)
Temperatura	= -50 ° C
Volumen inicial	= 1000 ml y US/ml = 3200
Resultado	
Volumen concentrado el 50%	= 500 ml , US/ml = 10.666
Concentrado final	= 88 g , US/g = 16.000

3.2.8.4. Por Atomización

En el equipo de atomización "Atomizer Niro" se consiguió obtener enzimas en polvo, mediante un proceso similar al de obtención de leche en polvo, las condiciones de trabajo empleadas en el equipo fueron:

Temperatura de entrada	
del aire caliente	= 140 ° C
Temperatura de salida	
del aire	= 45 ° C
Presión de la cámara	= 6 Kg/cm ²
Volumen inicial (ml)	= 200
US.ml	= 1200

RESULTADO OBTENIDO:

Peso final (g) = 30
 -1
 US.g = 4200

3.2.9. Conservación

El extracto líquido se conserva muy bien en frascos de color ambar y bien tapados, en refrigeración ó al ambiente, pruebas de actividad durante 5 meses de conservación, indicaron que no existen cambios en la actividad enzimática que sean significativos.

El concentrado en polvo debe conservarse en recipientes herméticos, ya que el producto es muy higroscópico,

TABLA No 5

Variación de la actividad enzimática durante la conservación del polvo concentrado.

TIEMPO DE CONSERVACION	US/g
(MESES)	
1	16.000
2	16.000
3	16.000
4	15.980
5	15.980

3.3. CARACTERISTICAS DEL CUAJO EXTRAIDO

3.3.1. Análisis organoléptico

Las apreciaciones sensoriales mediante atributos y características del producto determinaron las siguientes cualidades:

ATRIBUTO	CARACTERISTICAS	
	Conc. por Liofilización	Conc. por Atomización
COLOR	Blanco crema	Blanco
OLOR	Ligeramente a fermento	Ligeramente a fermento
SABOR	Salino	Salino
TEXTURA	Folvo granuloso	Folvo uniforme

3.3.2. Análisis Microbiológico

Para la toma de las distintas muestras se siguió el siguiente procedimiento:

- Para el cuajo original, a 10 g de muestra se añadió 90 ml de agua destilada, se homogenizó mediante agitación, de esta dilución se tomó 1 ml al que se añadió 9 ml de agua destilada, a 1 ml de esta dilución se agregó 9 ml de agua destilada, quedando lista para realizar el cultivo.
- Para el extrato líquido, a 1 ml de extracto se le agregó 9 ml de agua destilada, de esta dilución a 1

ml se añadió 9 ml de agua destilada.

- Para la renina en polvo, 1 g de polvo se mezcló con 9 ml de agua destilada, de esta dilución 1 ml se diluyó con 9 ml de agua destilada, de estas preparaciones para conseguir una dilución 1 : 1000; se emplearon 0,1 ml en los siguientes medios de cultivo, cuyos números de referencia son:
 - 10128, Agar peptona de caseína - glucosa - extracto de carne, para el recuento de gérmenes totales, se incubó a 30 ° C durante 48 horas.
 - 1406, Agar violeta, cristal rojo neutro, bilis para identificación de bacterias coliformes, se incubó a 30 ° C durante 48 horas.
 - 5399, caldo maltosa 2% según Saboroud adicionado de 0,5% de SO_4Cu como inhibidor de bacterias, para la determinación de mohos y levaduras. Para la determinación de bacterias con este medio, no se utilizó el inhibidor. Luego del contaje de colonias se estableció el siguiente cuadro de valores.

TABLA No 6

Resultados del Análisis Microbiológico.

Microorganismos	Cuajo original	Extracto Líquido	Polvo concentrado por liof.
Gérmenes totales	36.2×10^3	$21,3 \times 10^3$	$3,047 \times 10^3$
Coliformes	$3,33 \times 10^3$	$1,6 \times 10^3$	0
Mohos y levaduras	$25,0 \times 10^3$	$20,0 \times 10^3$	$2,33 \times 10^3$
Bacterias ⁷	$11,2 \times 10^3$	$1,33 \times 10^3$	714

3.4. COMPOSICION QUIMICA

Se realizaron los análisis del concentrado por liofilización que dió el siguiente resultado.

Humedad	2,5%
Grasa	0,5%
Proteína	11,5%
ClNa	81,8%
Cenizas	3,2%

3.5. TITULO DEL CUAJO PARA EL EXTRACTO LIQUIDO Y SOLIDO

3.5.1. Extracto Líquido

Para la determinación del extracto líquido se

utilizó 40 ml de leche muy fresca, calentada a 35 C,^o temperatura que se la mantiene constante mediante baño maria, con el empleo de la fórmula 2.7. se tiene.

$$V = 40 \text{ ml}$$

$$v = 0,1 \text{ ml}$$

$$t = 96 \text{ seg.}$$

$$\text{US/ml} = \frac{V \times 2.400}{v \times t}$$

$$\text{US/ml} = \frac{40 \times 2.400}{0,1 \times 96}$$

$$\text{US/ML} = 10.000$$

Este resultado quiere decir que con 1 ml de extracto líquido pueden cuagularse 10 litros de leche en 40 minutos.

3.5.2. Extracto Sólido

Aplicando el mismo procedimiento anterior, y reemplazando v en ml por m en gramos se tiene:

$$V = 40 \text{ ml}$$

$$m = 0,1 \text{ g}$$

$$t = 60 \text{ seg.}$$

$$\text{US/g} = \frac{40 \times 2.400}{0,1 \times 60}$$

US /g = 16.000

Se considera que con 1 g de polvo concentrado se pueden coagular 16 litros de leche en 40 minutos.

3.6. PORCENTAJE OPTIMO DE APLICACION

Para obtener un buen producto se determinó que la coagulación debe producirse en 20 minutos como término medio, ya que una coagulación en menor tiempo produce una coagulación parcial insidiendo en el rendimiento, mientras que un tiempo mayor da oportunidad al incremento de la acidéz que llega a afectar el sabor del producto final. Para calcular la cantidad de enzima adecuada a emplear tomando en cuenta el tiempo señalado de 20 minutos, sirvió el siguiente procedimiento.

Ejemplo: Con el cuajo de título 1 : 16.000; 0,1 g coagula 40 ml de leche a 35 C en 60 segundos, cuántos gramos de cuajo requiero para coagular 10 litros de leche a 35 C en 20 minutos?

$$\begin{array}{l}
 \text{Planteo:} \\
 \begin{array}{ccccccc}
 0.1\text{g} & \text{---} & 40\text{ml} & \text{---} & 35\text{ C} & \text{---} & 60\text{s} \\
 X & \text{---} & 10.000\text{ml} & \text{---} & 35\text{C} & \text{---} & 20(60)\text{s}
 \end{array} \\
 \\
 \text{despejando: } X = \frac{0,1\text{ g} \times 10.000\text{ ml} \times 35\text{ C} \times 60\text{ s}}{40\text{ ml} \times 35\text{ C} \times 20(60)\text{s}}
 \end{array}$$

$$X = 1,25\text{ g}$$

Para comprobar el título original, planteo

1,25 g coagulan 10.000 ml de leche en 20 minutos a
35 C donde, aplicando la fórmula conocida.

$$\text{US/g} = \frac{V \times 2.400}{m \times t}$$

$$\text{US/g} = \frac{10.000 \times 2.400}{1,25 \times 20 (60)}$$

$$\text{US/g} = 16.000$$

CAPITULO IV

IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

Durante el proceso de extracción de enzimas, mediante la variación de componentes en la maceración fué posible encontrar el método óptimo en esta investigación, que se sintetiza en lo siguiente:

- a) Extraer enzimas a partir de cuajares frescos no es conveniente debido a la rápida descomposición.
- b) Utilizar suero como líquido de maceración no representa ventajas, por tanto es suficiente emplear el agua.
- c) La extracción ácida que mejor rendimiento dió, fué utilizando SO_4H_2 , en las siguientes proporciones:

Cuajo deshidratado	32,3%
Agua	60,5%
SO ₄ H ₂ 1 N	3,3%
Tiempo de maceración	5 días
Temperatura	30 C

d) Rendimiento similar dió la extracción alcalina utilizando ClNa en las siguientes proporciones:

Cuajo Deshidratado	32,3%
Agua	60 %
ClNa	5,4%
Tiempo de maceración	6 días
Temperatura	30 C

e) El gráfico de la pagina 40 permite relacionar el resultado de todos los ensayos donde se aprecia que los descritos anteriormente son los mejores.

f) Del análisis microbiológico se concluye que existe una reducción en la carga microbiana en el producto concentrado, debido a la eliminación del agua.

g) El producto concentrado permite la conservación sin pérdida significativa de su actividad enzimática.

h) El rendimiento obtenido para el concentrado por liofilización es del 9%

- i) En la concentración mediante atomización la temperatura de la cámara superó los 100 °C, sin embargo el producto final presentó actividad (US/g = 4.200) este hecho se justifica debido a que la temperatura de inactivación para enzimas suele variar con el logaritmo del tiempo de exposición.

4.2. RECOMENDACIONES

Ya que el campo de las enzimas ofrece múltiples oportunidades, se podrían continuar con ensayos similares. así:

- a) Para llegar a valores superiores en US /g se podría ensayar escogiendo bovinos de corta edad (terneros).
- b) También se podría experimentar con diferentes especies como terneros, ovejas, cabritos y cerdos.
- c) Los fabricantes de productos lácteos pueden disponer de sus propias enzimas en extracto líquido siguiendo las proporciones detalladas en 4.1.c) y d)
- d) De los resultados obtenidos en esta investigación se deduce que se puede dar un mejor aprovechamiento a los cuajares provenientes de animales que se sacrifican en los camales; mediante la obtención de enzimas coagulantes, para la leche.

e) La renina conseguida siguiendo el método antes descrito permite con seguridad obtener quesos de buena calidad, siendo por lo tanto recomendable para quienes están dedicados a esta producción.

ANEXOS

ANEXO No 1**DETERMINACION DE CENIZAS**

FINALIDAD. - Determinar el contenido de minerales en una muestra.

MATERIALES:

- Crisol
- Mufla
- Desecador
- Balanza Analítica
- Pinzas
- Calentador eléctrico

TECNICA. -

- Calentar el crisol en la mufla a 550 C
- Enfriar el desecador y pesar con aproximación a 0,1 mg
- Transferir el crisol y pesar con aproximación de 0,1 mg
- Colocar el crisol con su contenido en el calentador hasta que no haya desprendimiento de humo de la muestra
- Introducir el crisol en la mufla a la temperatura indicada, hasta obtener cenizas libres de partículas de carbón.
- Sacar de la mufla el crisol con las cenizas, dejar enfriar en el desecador y pesar con aproximación de 0,1 mg

Fórmula:

$$C = \frac{c - a}{b - a} \times 100$$

Donde

C = cenizas en la muestra expresadas en %

a = peso del crisol

b = peso del crisol + muestra

c = peso final

Ejemplo: Determinación de cenizas en el cuajo deshidratado.

Datos

a = 8,7534 g

b = 10,5643 g

c = 9,4543 g

Aplicando la fórmula:

$$C = \frac{9,4543 - 8,7534}{10,5643 - 8,7534} \times 100$$

$$C = 38,7 \%$$

Es necesario indicar que el alto contenido en cenizas resulta debido a que la muestra contiene el 35 % de ClNa.

ANEXO No 2**DETERMINACION DEL ClNa**

FINALIDAD. - Conocer el contenido en ClNa de una muestra.

MATERIALES Y REACTIVOS:

- Pipetas de 1 y 10 ml
- Vasos de Precipitación
- Balanza Analítica
- NO_3Ag 0,1 N
- Indicador, cromato potásico

TECNICA

- Se disuelven al rededor de 0,25 g de la muestra exactamente pesados en uno 50 ml de agua y se valora con nitrato de plata 0,1 N utilizando 0,5 - 1 ml de cromato potásico, hasta la primera aparición del color naranja, frente al color amarillo del indicador.

Ejemplo: Determinación del ClNa en el cuajo deshidratado

Datos

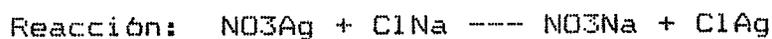
muestra = 0,25 g

Aforado a 250 ml

Alícuota = 20 ml

Viraje con = 1,2 ml de NO_3Ag 0,1 N

Color del viraje, mínimo rosa o naranja



Cálculos:

$$\begin{aligned} \text{g bureta} &= V \cdot N \cdot K \cdot \text{meq} \\ &= 1,2 \times 0,1 \times 1 \times 0,16987 \\ &= 0,0203844 \text{ g NO}_3\text{Ag} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Relación} & \quad 169,87 \quad \text{---} \quad 58,45 \\ \text{reacción} & \quad 0,0203844 \quad \times \quad = 0,0070177 \text{ g ClNa} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Relación} & \quad 0,0070177 \quad \text{---} \quad 20 \\ \text{Alícuota} & \quad \times \quad \text{---} \quad 250 \quad = 0,08772125 \text{ g ClNa} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Relación} & \quad 0,08772125 \quad \text{---} \quad 0,25 \\ \text{muestra} & \quad \times \quad \text{---} \quad 100 \quad = 35,08 \text{ g ClNa} \end{aligned}$$



ANEXO No 3

DETERMINACION DE PROTEINAS DE ORIGEN ANIMAL POR EL METODO "L" (COLORIMETRICO)

FINALIDAD. - Conocer el contenido protéico en las muestras del presente estudio.

MATERIALES

- Colorímetro "Udy Tec"
- Balanza Analítica
- Probeta
- Balón de aforo de 100 ml
- Agitador automático
- Tubo reactor
- Frasco de filtración
- Bureta
- Acido cítrico
- Colorante concentrado
- agua destilada

TECNICA

- Mezclar 22,29 + 0,02 g de muestra con 200 + 0,1 ml de solución de ácido cítrico al 2 % en una licuadora hasta que la solución esté homogénea, esta es una solución 1:10.
- Agregar una gota de alcohol octílico luego mezcle por 2 segundos.

- Pese de esta disolución 3,6 g para productos con alto contenido de proteína y 7,2 g para productos de bajo contenido en proteínas (pese directamente en el tubo reactor)
- Añada 40 ml de solución de reactivo colorante concentrado y agite 15 - 20' cuando las carnes son conocidas puede ser necesario un tiempo mayor.
- Fije el analizador (colorímetro) a 42,0 en la escala de lectura con la solución de reactivo colorante de referencia Alternativamente se puede programar el colorímetro utilizando los valores de K1 y K2 tabulados para estos productos "b1". Después que son fijados estos valores, presione el swith de 0 - 100 % de proteína para que la lectura sea directa.
- Coloque un filtro en la tapa del frasco de filtración y haga la lectura cuando han pasado 25 - 30 gotas de solución a través de la cubeta del colorímetro.

Valores utilizados en la lectura de la proteína.

Alimento (muestra)	W. muestra (mg)	T. reacción (min)	Valores de	
			K1	K2
Carne en general	7.200	0 - 25	-0,23	0,89

La cantidad de proteína se lee directamente en el colorímetro.

Ejemplo: análisis de proteína en las enzimas concentradas por liofilización, la lectura dió = 11 %

BIBLIOGRAFIA

1. Babor Ibars, QUIMICA GENERAL MODERNA, 8 ed., Editorial Marín, Barcelona, España, 1979
2. Church D.C., FISILOGIA DIGESTIVA Y NUTRICION DE LOS RUMIANTES, España, Editorial Acribia, 1971
3. Demeter J., LACTOBACTERIOLOGIA, España, Editorial Acribia, 1976
4. Gunter Lippke, METODOS ENZIMATICOS, España, Editorial Acribia, 1980
5. Getty Robert. ATLAS DE ANATOMIA Y VETERINARIA APLICADA, Uteha, Mexico, 1964
6. Helmut Meier, GANADERIA, Barcelona, España, Editorial Aedos, 1978
7. Habel Robert, ANATOMIA Y MANUAL DE DISECCION DE LOS RUMIANTES DOMESTICOS, Zaragoza, España, Editorial Acribia, 1967
8. Nushag W. ANATOMIA Y FISILOGIA DE LOS ANIMALES DOMESTICOS, Editorial Acribia, Zaragoza, España, 1977
9. Pearson D. TECNICAS DE LABORATORIO PARA EL ANALISIS DE

LOS ALIMENTOS, Zaragoza, España, Editorial
Acribia, 1976

10. Prescott Samuel C. MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL, España,
Ediciones Aguilar S.A. 1962

11. Rafols Wifredo, APROVECHAMIENTO INDUSTRIAL DE LOS
PRODUCTOS AGRICOLAS, España, Editorial
Acribia, 1976

12. Trease Gerge E., FARMACOGNOSIA, España, Editorial
Acribia, 1980

13. Veisseyre Roger, LACTOLOGIA TECNICA, Zaragoza, España,
Editorial Acribia, 1980

INDICE

	Pág.
Certificación	ii
Dedicatoria	iii
Contenido	iv
Prólogo	v
Resumen	vii
CAPITULO I	
1. Introducción	1
1.1. Planteamiento del problema	1
1.2. Significado del problema a nivel rural e industrial	1
1.3. Objeto de la Investigación	2
1.4. Supuestos y Limitaciones	2
CAPITULO II	
2. Las Enzimas	3
2.1. Generalidades sobre las enzimas	3
2.2. Formas de actuar de las enzimas	5
2.3. Condiciones para la actividad enzimática.	6
2.3.1. Concentración del sustrato	6
2.3.2. Temperatura	6
2.3.3. Valor del pH	7
2.3.4. Otros factores	7
2.3.5. Especificidad enzimática	8
2.4. Clasificación de las enzimas	9
2.4.1. Enzimas industriales	11
2.4.1.1. Enzimas de origen microbiano	11

	Fág.
2.4.1.2. Enzimas de origen animal	16
2.4.1.3. Enzimas de origen vegetal	17
2.5. Los rumiantes como proveedores de enzimas de origen animal	19
2.5.1. Situación de los órganos abdominales y torácicos en los bovinos	19
2.5.2. Descripción del estómago de los bovinos .	20
2.5.3. Digestión de los bovinos	21
2.5.4. El cuajar	22
2.5.4.1. Estructura del cuajar	22
2.5.4.2. Propiedades físico-biológicas del cuajar.	23
2.5.5. Acción bacteriana en la digestión de los bovinos	24
2.6. Extracción y preparación del cuajo	25
2.7. Poder cuagulante o fuerza del cuajo	25
2.8. Mecanismo de coagulación de la leche por acción del cuajo	26
2.9. Práctica de la adición del cuajo	28

CAPITULO III

3. Parte Experimental	29
3.1. Materiales y Métodos de extracción	29
3.2. Descripción del proceso	30
3.2.1. Preparación	30
3.2.2. Pesado	30
3.2.3. Troceado	30
3.2.4. Maceración	31
3.2.5. Filtración	40

	Pág.
3.2.6. Clarificación	40
3.2.7. Activación	40
3.2.8. Concentración	41
3.3. Características del cuajo extraído	44
3.3.1. Análisis organoléptico.....	44
3.3.2. Análisis microbiológico	44
3.4. Composición química	46
3.5. Título del cuajo para líquido y sólido ..	46
3.6. Porcentaje óptimo de aplicación	48
CAPITULO IV	
4. Conclusiones y recomendaciones	50
ANEXOS	54
BIBLIOGRAFIA	60

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

	Pág.
Tabla No.1 Clasificación de las enzimas	10
Tabla No.2 Algunas enzimas importantes y los micro - organismos que las producen	14
Tabla No.3 Algunas enzimas de orden microbiano y sus aplicaciones	15
Tabla No.4 Variación de la actividad enzimática de - bido a la concentración en estufa	41
Tabla No.5 Variación de la actividad enzimática, du- rante la conservación del polvo concen - trado	43
Tabla No.6 Resultado del análisis microbiológico ...	46
Fig. No.1 Representación esquemática de la forma - ción del complejo enzima-sustrato	6
Fig. No.2 Situación de los órganos abdominales y torácicos en los bovinos	19
Fig. No.3 Estómago compuesto multilobular de los bovinos	20
Fig. No.4 Representación esquemática de la coagula- ción de la caseína según la teoría del coloide protector	27
Fig. No.5 Maceración utilizando agua y suero	32
Fig. No.6 Maceración a diferente dilución	33
Fig. No.7 Maceración a diferente tiempo y tempera - tura	34

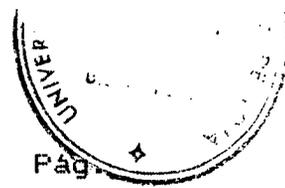


Fig. No.8	Maceración con ácido sulfúrico	35
Fig. No.9	Maceración con ácido clorhídrico	36
Fig. No.10	Maceración con jugo de naranja	37
Fig. No.11	Maceración con ClNa	38
Fig. No.12	Resultado de las variables de maceración.	39