

Estudio sobre la elaboración de cuajo en polvo a partir de jugo gástrico de terneros lactantes

F. CISNEROS Y C. D. BERDELLANS

Dpto. de Bioquímica de la leche.

Recibido en: Marzo 1971

ABSTRACT. An investigation was made of the main variables (pH, temperature, NaCl concentration) affecting the recovery percentage of coagulating activity from the gastric juice of suckling calves.

A procedure is proposed which permits the recovery of 87.5% of coagulating activity, making possible the preparation of a rennet powder with sufficient strength for utilization in cheese making.

RESUMEN: Se investigó la influencia de las variables fundamentales (pH, temperatura, concentración de NaCl) sobre el % de recuperación de la actividad coagulante del jugo gástrico de terneros lactantes.

Se propone un procedimiento con el cual es posible recuperar el 87.5% de dicha actividad coagulante y preparar un polvo de cuajo con la fortaleza necesaria para su utilización en quesería.

INTRODUCCION

En 1939, Fomin¹ realizó las primeras experiencias de extracción de jugo gástrico a terneros lactantes fistulados, con la finalidad de utilizarlo como materia prima en la elaboración de cuajo para quesería; posteriormente Berridge² en 1943, repitió las experiencias de Fomin con dos animales, obteniendo resultado similares, hallando una pérdida de 32% de la actividad enzimática durante el procesamiento del jugo gástrico.

En el presente trabajo se describen las experiencias de procesamiento realizadas en el C.N.I.C. y se propone una tecnología sencilla con la cual se ha obtenido reducir las pérdidas de actividad a un 12.5%. Los estudios relacionados con la producción de jugo gástrico por los terneros, así como de los varios parámetros que influyen sobre dicha producción, serán objeto de un trabajo posterior.

MATERIAL Y METODOS

Determinación de la actividad coagulante: Se empleó como sustrato una solución de leche descremada en polvo (proceso spray) reconstituida en solución de CaCl_2 0.015 N, a razón de 12 gr de leche por cada 100 ml de solución.

La prueba se realizó en un baño de agua a 35°C, inoculando 1 ml de la solución enzimática a 50 ml de sustrato y determinando el tiempo desde el momento de la inoculación hasta la aparición de copos coagulados en las paredes del recipiente.

Se estableció experimentalmente una curva de calibración, utilizando para ello soluciones de concentración variable de cuajo comercial. Se adoptó una unidad arbitraria de medición (U), asignando el valor de 1 U/ml a la solución que presentó un tiempo de coagulación (tc) de 1140 seg (19 minutos).

La curva de calibración (fig. 1) en escala logarítmica, es una línea recta para valores de tc mayores de 60 seg.

Las conversiones de tc a unidades enzimáticas (U) se realizaron por lectura directa en el gráfico de calibración, obteniéndose una precisión de $\pm 4\%$.

Como índice se realizó la titulación de varios tipos de cuajo en polvo comerciales, obteniéndose como punto de referencia los siguientes valores:

	U/gr
Cuajo en polvo Marschall Azul*	688
Cuajo en polvo Graco**	870
Cuajo en polvo Marschall Amarillo	2904

Se trabajó sobre jugo gástrico total extraído de terneros lactantes fistulados, recolectado en tres etapas de la siguiente forma:

- Recolección del líquido acumulado en el estómago.
- Ingestión y extracción de 1 litro de suero de leche diluido 1/6 con agua.
- Recolección del líquido acumulado en el estómago del animal, 20 minutos después de extraer el suero diluido.

Los valores de pH se determinaron con un potenciómetro Lei-Tzu modelo 25.

Para las separaciones de precipitados se utilizó una centrífuga Major MSE de 3 litros de capacidad.

El secado se realizó en una estufa de vacío Horizont tipo HZV¹

Los ajustes del pH se hicieron utilizando OHNa al 50% o HCl concentrado según el caso manteniendo una agitación constante y violenta.

* Marschall Dairy Laboratories Inc.

** Paolo Granata & C. SPA,

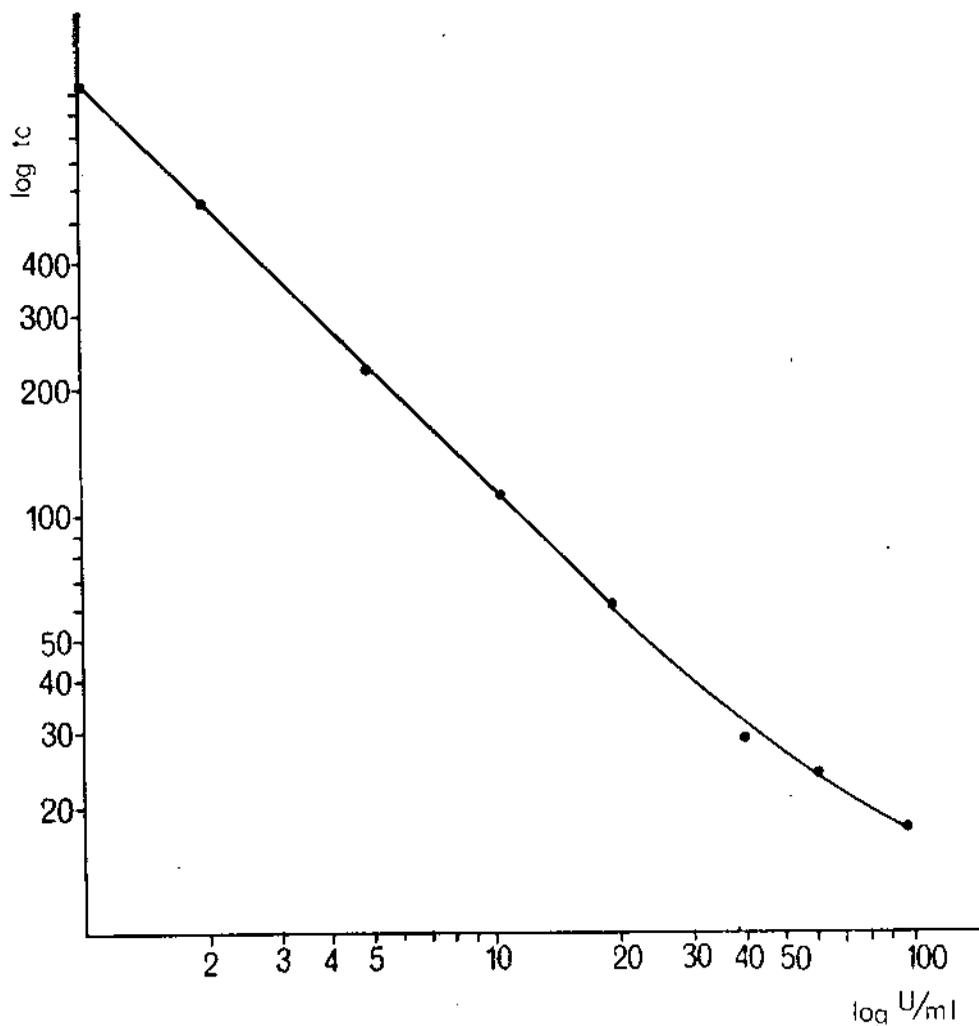


FIG. 1. Curva de calibración $\log (U/ml)$ vs $\log tc$.

RESULTADOS

Se tomó como esquema de procesamiento el siguiente:

- Clarificación.
- Precipitación con NaCl.
- Secado.

En cada etapa se investigó la influencia de las variables más importantes.

Clarificación: El jugo gástrico tal y como se obtiene del animal, contiene una serie de partículas extrañas a la secreción propiamente dicha (coágulos de leche, pelos del animal etc.) que es necesario eliminar; ésto se logra sin dificultad utilizando un medio de filtración común como tela de lienzo, gasa, u otro medio similar.

Una vez eliminadas estas materias extrañas, se obtiene un líquido gris-carmelita de aspecto lechoso debido a una serie de partículas mucho más pequeñas que se mantienen en suspensión y que presentan tendencia a aglomerarse sin sedimentar. La separación de estas partículas puede lograrse por centrifugación a 3000 rpm. durante 30 minutos, con lo cual se obtiene frecuentemente una separación de las materias suspendidas en dos fracciones, una más pesada que sedimenta y otro más ligera que sobrenada formando en la superficie una capa compacta de aspecto graso; entre estas dos fracciones, se encuentra el líquido clarificado, de color amarillo verdoso y semitransparente.

Se puede lograr obtener un líquido clarificado completamente cristalino por filtración del jugo gástrico sin centrifugar a través de papel de filtro Whatmann No. 42; la filtración transcurre de una forma bastante lenta.

Se investigó acerca del pH de clarificación al cual las pérdidas debidas a actividad enzimática retenida en el precipitado fuesen mínimas, obteniéndose la curva de la fig. 2, donde puede observarse que las mayores pérdidas ocurren a valores de pH entre 3 y 5, alcanzando hasta un 50% a pH 4.3, en tanto que en los rangos de 1.5 a 2.5 y de 5.5 a 6.5 se mantienen alrededor de un 5% solamente.

Precipitación: Se ensayaron varias formas de separar la enzima por medio de NaCl, se probó la saturación progresiva del líquido a través de una membrana de diálisis, la diálisis del jugo gástrico contra salmuera al 30% y la adición directa de NaCl sólido al líquido, reteniéndose esta última por su simplicidad y rapidez.

Se realizaron pruebas acerca del pH, concentración de NaCl y temperatura de precipitación, controlando el % de recuperación de la etapa compuesta precipitación-secado. Los resultados se muestran en las figs. 3 y 4.

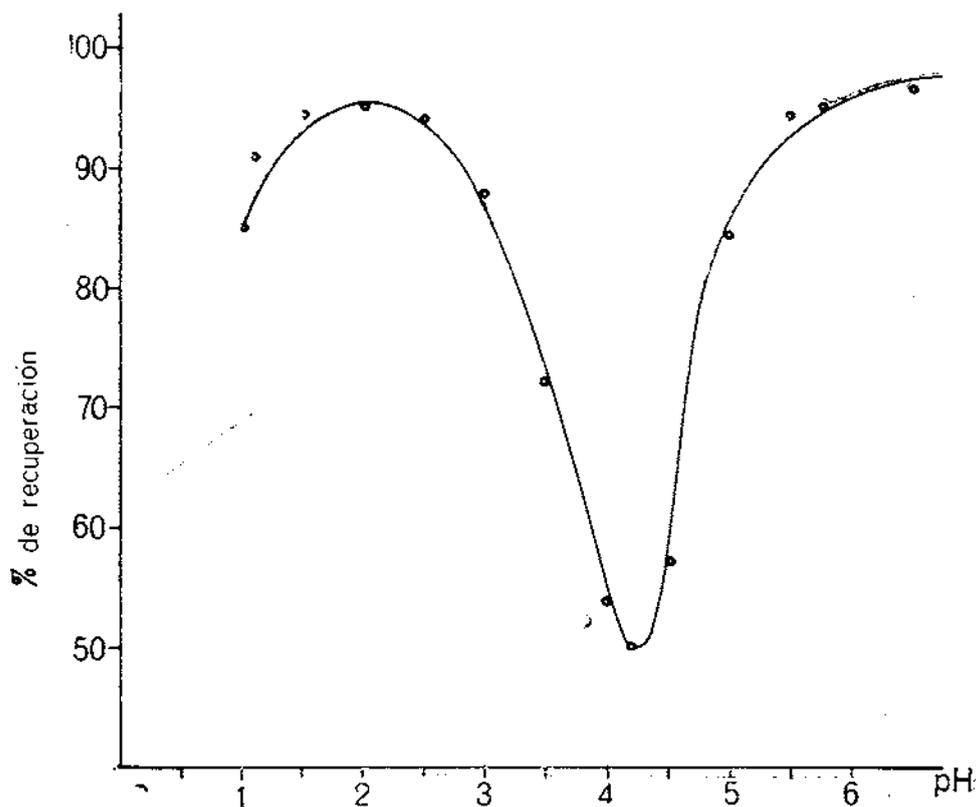


Fig. 2. Efecto del pH sobre el % de recuperación en la etapa de clarificación del jugo gástrico

Una vez realizada la precipitación, se separó el precipitado por centrifugación a 3000 rpm durante 20 minutos y se secó bajo vacío a 37°C en todos los casos. Se obtiene así un residuo seco fácilmente triturable en un mortero para dar un polvo de color gris claro.

DISCUSION

Comparando la curva de la fig. 3 correspondiente a 560 gr de NaCl por litro (saturación) con la curva A-fig 4 (270 gr NaCl/Lt) se observa una mayor pendiente y menor dispersión de los puntos experimentales en esta última, lo cual indica una mayor influencia del pH sobre la recuperación a 270 gr NaCl/Lt. Esto implica

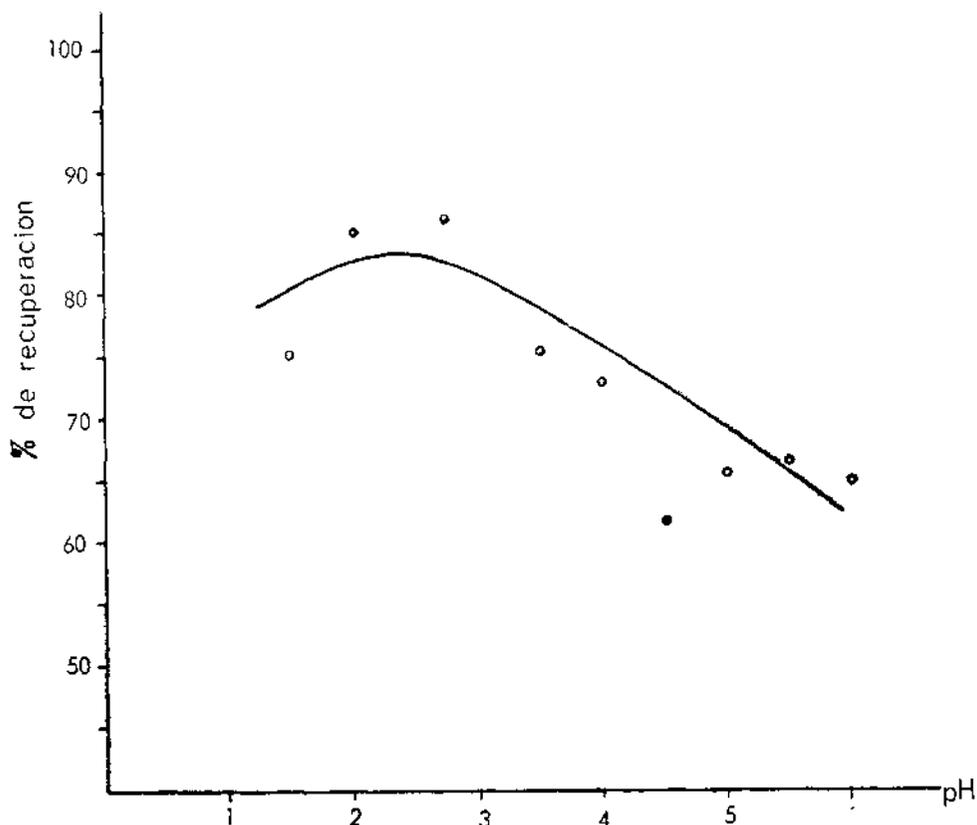


FIG. 3. Efecto del pH sobre el % de recuperación en la etapa de precipitación. Condiciones: 360 gr NaCl/Lt (saturación), temperatura amb.

una mayor posibilidad de control sobre el proceso y un consumo 25% menor de NaCl en estas condiciones.

Se determinó la curva de recuperación contra pH a temperatura ambiente y 270 gr NaCl/Lt (curva A-fig. 4) y se escogió el pH medio del rango (pH 4.0) para determinar la influencia de la temperatura, obteniéndose a 10°C los resultados señalados en B (fig. 4) y a 37°C los señalados en C.

Asumiendo que la curva de 10°C fuese paralela a la de T (ambiente) pasando por B, cabía esperar recuperaciones de cerca de 90% precipitando a 270 gr NaCl/Lt, pH 3.0 y temperatura de 10°C. Se ensayó este juego de valores, obteniéndose una recuperación promedio de 92% en dichas condiciones (D fig. 4).

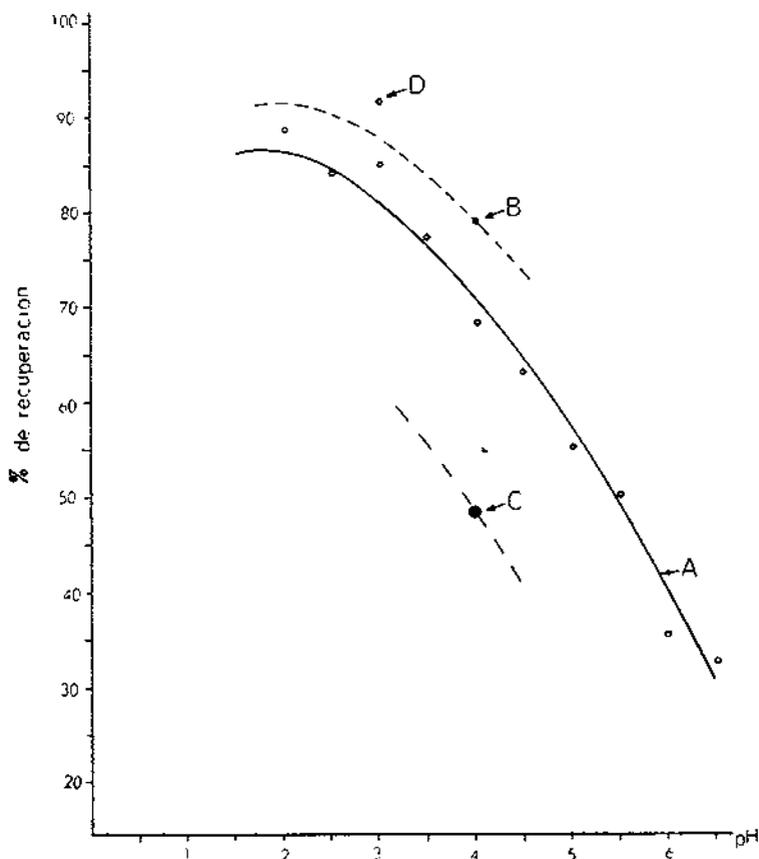


FIG. 4. A) Efecto del pH sobre el % de recuperación en la precipitación. Condiciones: 270 gr NaCl/Lt, temperatura ambiente. B) % de rec. a 10°C, 270 gr NaCl/Lt, pH 4.0. C) % de rec. a 37°C, 270 gr NaCl/Lt, pH 4.0. D) % de rec. a 10°C, 270 gr NaCl/Lt, pH 3.0.

Este valor de 92% de recuperación está referido a líquido clarificado; el % de recuperación del proceso total se obtendría tomando en cuenta el 5% de pérdidas por clarificación, lo cual nos daría un 87.5% de recuperación de la actividad coagulante del jugo gástrico natural.

Se concluye que en las condiciones señaladas es posible recuperar el 87.5% de la actividad enzimática, en contraste con el 68% de recuperación hallado por Berridge según la técnica de Fomin.

Los polvos de cuajo preparados según este procedimiento, han presentado, en todos los casos, una actividad enzimática superior a 1000 U/gr.

RECONOCIMIENTOS

Debemos agradecer a la cra. Caridad Silva por su entusiasta y valiosa ayuda durante la realización de este trabajo, así como a todos aquellos compañeros que de una u otra forma han colaborado a la buena marcha de la experiencia, muy especialmente a los cros. de los laboratorios de Inmunología y Electroforesis del CNIC.

REFERENCIAS

FOMIN D. Molochono Maslodel'naya *Prom.* 9, 16, 1939.

BERRIDGE N. J. AND DAVIS J. G. *J. OF DAIRY RES.* 13. 145, 1943.