

Tesis de Posgrado

El Lab - fermento

De Miranda, Rosalía D. M.

1922

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Química de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

De Miranda, Rosalía D. M.. (1922). El Lab - fermento. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0150_DeMiranda.pdf

Cita tipo Chicago:

De Miranda, Rosalía D. M.. "El Lab - fermento". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1922.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0150_DeMiranda.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



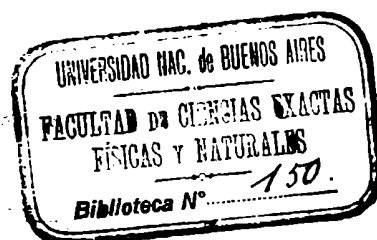
UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES.

Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.

EL LAB-FERMENTO.



TESIS

presentada para optar al título de
Doctor en Química.

Por

Rosalía D.M. de Miranda.

Año 1922.-

Padrino de tesis:

Dr. Guillermo Schaeffer.

A LA MEMORIA DE MI PADRE.

A MI MADRE.

A MI ESPOSO.

A LOS MIOS.

Señores consejeros:

Señores profesores:

Vengo a presentar mi última prueba, no para cumplir una prescripción reglamentaria, sino que creo un deber, al abandonar esta casa de la que llevo tan gratos recuerdos, dejar constancia de mi sentido y sincero agradecimiento hacia aquellos que con sus enseñanzas han sabido fortalecer mi amor al estudio, contribuyendo así a que pudiera terminar mis estudios, feliz realización de un anhelo y aspiración que fué siempre una de mis mayores preocupaciones.

Al someter este modesto trabajo a vuestra consideración, lo hago convencida de que vuestra benevolencia sabrá juzgarlo sin mayores rigores.

El tema que me había propuesto desarrollar es sumamente extenso, pero como vereis, solo he tratado una parte, especializando mi labor en los análisis de los cuajos, pues he tenido que luchar con una serie de escollos provenientes en su mayoría de la inexperiencia propia de los que recién salimos del aula.

En este momento que reviste para mí toda la solemnidad de un acto que dejará un recuerdo imperecedero en mi memoria, se me permite expresar mi gratitud al Dr. Guillermo Schaeffer por haberme orientado en esta tarea y por el honor que me dispensa al acompañarme en este acto.

FERMENTOS:

Reseña histórica.

Cinogénesis.

Fermentación.

Diastasas.

Extracción de las diastasas.

Propiedades de las diastasas.

Como actúan las diastasas.

Rol de las diastasas en los organismos.

Nomenclatura y clasificación de las diastasas.

LA LECHE.

Su composición -sustancias nitrogenadas-lactoalbúmina y lactoglobulina-

La caseína-su estado físico en la leche.

Microorganismos de la leche.

Diastasas de la leche.

COAGULACION DE LA LECHE.

Generalidades.

Acción del cuajo sobre la leche cruda y sobre la leche cocida.

Influencia de las condiciones exteriores.

Naturaleza química del cuajo.

Teorías sobre la coagulación de la leche.

CUAJOS.

Cuajos empleados en la industria quesera.

Cuajos en bolsitas, en pasta, líquidos, y en polvo.

El lab-fermento en los vegetales.

ANÁLISIS DE CUAJOS.

Determinación del poder coagulante.

Determinación de humedad, residuo fijo, materia orgánica, materias proteicas, sustancias minerales, cloruro de sodio, ácido bórico, ácidos clorhídrico y láctico.

Resultados analíticos.

CONCLUSIONES

FERMENTOS.

ETILOGÍA HISTÓRICA. La alteración o modificación que sufre la materia orgánica es en la mayoría de los casos ocasionada por procesos químicos, como son las oxidaciones, reducciones, hidrólisis, etc. Sabemos que algunos de estos procedimientos de fermentación fueron conocidos por sus propiedades y aplicados o mejor dicho empleados empíricamente desde tiempos remotos, manteniéndose hasta el siglo XIX como fenómeno inexplicable.

En los primeros tiempos, se pensaba que la materia orgánica se descomponía por la sola acción del aire, debido a la naturaleza fermentable de la misma; mas adelante con el empleo del microscopio y con el adelanto de las ciencias, principalmente de la química y la preferente atención que muchos sabios le dedicaron, el fenómeno de la fermentación ha ido explicándose, habiendo adelantado mucho su conocimiento, pudiendo hoy regularlo y aplicarlo racionalmente en sus muchas aplicaciones.

Cuando se observó la aparición de diminutos organismos, que se desarrollaban en gran cantidad al comenzar la alteración de la sustancia, se creyó que estos aparecían por generación espontánea.

En 1836 Cagniard de Latour y Schwann, estudiando la fermentación de la cerveza y del vino, llegaron a la conclusión de que está ligada con la germinación de los microorganismos (hongos), que se multiplican en el mismo mosto.

Liebig explicaba el fenómeno diciendo que una vez muertos los microorganismos y llegados al estado de putrefacción, transmitían este estado al medio en el cual se encontraban sumergidos.

Purpin sostuvo que estos se alimentaban del azúcar, produciendo como resultado de su actividad vital alcohol y anhídrido carbónico; pero la humanidad debe reconocer que fue el genial Pasteur quien

demostró de una manera convincente que tanto la fermentación láctica como la butírica, acética y en general todas las fermentaciones eran producidas por microorganismos, especiales para cada una de ellas, de aquí entonces que los progresos de la industria fermentativa se han desarrollado á la par de la bacteriología .

Se sabe pues que la materia de los seres organizados faltos de vida se altera y que en esta alteración existe las respectivas transformaciones .

Pasteur afirmó como ya sabemos por lo anteriormente expuesto que estas alteraciones no son espontáneas y dedujo que los actos químicos debidos a la transformación de la sustancia orgánica conocida con el nombre de fermentaciones son correlativos á los actos vitales y estos son los que determinan en su proceso y duración el proceso y duración de aquellos.

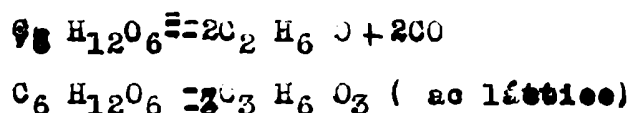
Está pues comprobado que cada especie microbiana desarrolla en el seno de un mismo líquido fermentescible productos especiales así el *S. lactis* cuya importancia veremos puede apreciarse por observación microscópica o bien por la presencia de ácido láctico en un líquido antes azucarado.

La doctrina de Pasteur continúa en un todo á la de Liebig que como ya hemos mencionado explicaba la fermentación por una transformación molecular iniciada y sostenida á expensas del oxígeno; llegando luego á la descomposición de la molécula orgánica y asegurando que el movimiento producido por las fermentaciones es exclusivamente vital y en donde no interviene el aire, afirmando además que la fermentación es puramente la obra química de la vida sin aire.

Sabemos que la respiración es la función que provee al organismo de energía y sabiendo que es esta una función imprescindible en los organismos superiores parece imposible que puedan existir otros seres que aun que siendo seres inferiores puedan vivir sin la intervención directa de oxígeno, así los microorganismos que no pueden vivir sinó en ausencia de oxígeno libre toman el nombre de anaerobios absolutos por ejemplo (Bacilo del tétano , algunos fermentos butíricos)

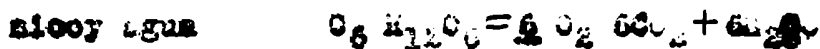
Otros pueden vivir en ausencia del oxígeno del aire, pero lo utilizan si están en su contacto, estos reciben el nombre de anaerobios facultativos, levaduras alcohólicas que a más de ser fermentos alcohólicos pueden en presencia del oxígeno libre disociar el azúcar como los aerobios absolutos.

Examinando sustancias transformadas, se ha comprobado que no existen en ellas más oxígeno que el contenido en el cuerpo generador así por ej:



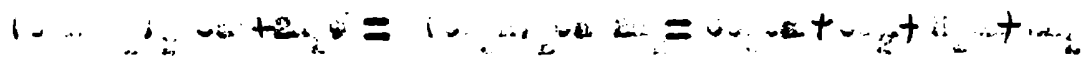
sin embargo algunos autores aseguran que para llevar a cabo la fermentación necesitan en su comienzo el oxígeno aunque en mínimas cantidades y es necesario su renovación para que la fermentación siga su curso. Con las numerosas experiencias hechas quedó demostrada la existencia de la vida sin aire, tan es así que existe por ejemplo el bacillus butyricus que vive en medio reductor y al cual la presencia del oxígeno no le hace falta; este fermento transforma la glucosa en ácido butírico $C_6H_{12}O_6 = C_4H_8O_2 + 2CO_2$ a tal punto que este microorganismo que trabaja en un medio reductor paraliza la fermentación con la introducción de cantidades pequeñas de oxígeno; sin embargo no todos los microorganismos son tan exigentes en la presencia o ausencia de oxígeno; el cambio del modo respiratorio no solo influye en el medio de que se valen los microbios para obtener energía, sino que también afectan otras funciones. En la levadura el cambio de modo de respirar produce un cambio en su movilidad y en la intensidad de su reproducción, cítase el caso del *Mucor rouxii* que cuando vive en un medio oxigenado tiene una forma filamentosa y no produce alcohol, pero cuando vive en anaerobiosis lo produce y se divide en segmentos y esta división se acentúa más a medida que su vida va haciéndose cada vez más anaerobia hasta que por último afecta la forma de levadura.

Otro ejemplo se observa en el *Saccharomyces cerevisiae*, en las condiciones de anaerobiosis produce alcohol y en aerobiosis da anhídrido carbó-



Esteur afirma que el oxígeno es el asistidor del trabajo vital y el que transforma los productos elaborados por este a la par que beneficia la energía aprovechable y favorece su eliminación, se admite hoy que cuanto mayor cantidad de oxígeno se necesita más sencilla es la composición de los productos y estos más fáciles de eliminar.

Experimentos: en el año 1870 Cooper y Taylor evidenciaron que la fermentación alcohólica se cumple en presencia de bacterias

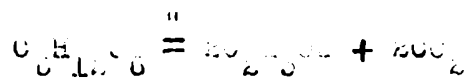


con otros métodos las bacterias, pudo constatar que la fermentación es efectiva igualmente, por lo que supuso que dicha fermentación era producida por una enzima segregada por aquellas.

En numerosas experiencias sainteclair verille y levy observaron que el iudido, el rubido y el ratonio reducidos a polvo finísimo, como con los obtenidos por descomposición de sus sales disueltas, se comportan en una forma tal, que pueden reemplazar a las bacterias y a las enzimas; siguiendo estos interesantes ensayos que cuando bredig y von sennert, produciendo la enzima entre dos electrodos de platino sumergidos en agua pura, observaron que esta se enturbia por pulverización del metal de los electrodos y que filtrando este líquido, para la emulsión, que el platino está en tal forma subdividido que con el microscopio no se observan las partículas metálicas, ni se sedimentan formando precipitado, y este estado es el que se ha dado en llamar coloidal.

La emulsión así preparada tiene propiedades semejantes a los fermentos, descompone una gran cantidad de peróxido de hidrógeno, cantidad que aumenta al aumentar la temperatura, hasta cierto límite, pasado el cual dicha propiedad desaparece; los ácidos favorecen el fenómeno, en cambio a semejanza de los fermentos, el hidrógeno sulfurado y ácido cítrico lo dificultan.

Fermentación: Se define como fermentación, al proceso biológico efectuado por un microorganismo llamado fermento, el que existiendo en pequeña cantidad en un medio fermentescible transforma gran parte de este. Esta desproporción entre la cantidad del elemento destruido y la del fermento es lo que caracteriza a la fermentación, así si en una solución de glucosa convenientemente diluida y azucarada, colocamos una pequeña cantidad de levadura de cerveza, después de un tiempo, se constata la desaparición de la glucosa la que es remplazada por alcohol y durante esta transformación nos hubiera sido fácil reconocer el despreñamiento de anhídrido carbónico.



En la fermentación láctica el fermento transforma a la lactosa en ácido láctico: $C_{12}H_{22}O_{11} = 2C_6H_{10}O_6$; en la fermentación acética varía la oxidación del alcohol: $C_2H_5OH = C_2 = C_2H_3COOH + H_2O$.

Todas estas transformaciones son producidas por fermentos figurados, por lo que algunos autores las designan fermentaciones vitales.

Diastasas. - Filasas o enzimas (en, fermento-zimas, fermento), fermentos internos, sustancia de poder fermentativo que se forma en el interior de la célula viva, estos son llamados también fermentos solubles; son sustancias nitrogenadas, solubles en agua que precipitan de estas soluciones por el agregado de alcohol, y que poseen la propiedad característica de los fermentos, es decir la de transformar enormes proporciones de materia con relación a su peso. Lugen y Bersez en una de sus investigaciones llegaron a obtener un coque, del que una parte era suficiente para coagular más de ochocientos mil veces su peso de leche. En 1843 estos mismos sabios aislaron de la cebada una sustancia capaz de sacarificar el almidón. Bichner demostró que las fermentaciones producidas por microorganismos, podían ser producidas también empleando extractos de dichos bacterios; obtuvo estos extractos, triturando dichas células con polvo de cuarzo y haciendo pasar su solución por filtros de porcelana sin barnizar,

Breding destruyendo la estructura histológica de la levadura aisló el jugo y constató que tenía las mismas propiedades que la levadura viva, lo que demuestra que la vitalidad no es una propiedad exclusiva de la organización de la materia viva, sino que es debido a una diastasa contenida en el jugo celular provocadora de esas fermentaciones.

La diastasa es pues una sustancia química de composición compleja, secretada o producida en células vivientes, aisladas (microorganismos) o que forman parte de tejidos animales (lab o cuajo, pepsina) o a tejidos vegetales (emulsina).

La producción de la diastasa, está regulada por el medio; los microorganismos producen las que necesitan y cuando las necesitan, pudiendo en algunos casos cambiar su naturaleza al cambiar la alimentación de que disponen.

Un microorganismo puede llegar a producir una diastasa específica a una determinada temperatura y en un medio especial, pero si variamos estos factores puede producir una diastasa específica cuya acción sea contraria a la anterior.

La diastasa cuando se encuentra en un medio favorable, reacciona rápidamente pero su acción va haciéndose cada vez más lenta, llegando hasta paralizarse, debido a la aparición de otras sustancias que no son otra cosa que productos de su actividad, constatándose que la diastasa persiste aun; esto se comprueba cuando se eliminan dichos productos. Cuando la acción diastásica se paraliza, una reacción inversa tiene lugar, aunque con menor intensidad; caso semejante a la saponificación de los éteres sales por el agua. Esta inactividad no lleva a la destrucción de la enzima, parece existir un estado de reversibilidad. La reversibilidad por regla general produce un isomero que ya no es atacado por la diastasa primitiva.

La reversibilidad ha sido estudiada por Pottevin haciendo reaccionar la lipasa del pancreas sobre una mezcla de ácido oléico y glicerina, obtuvo la monotrioleína y constató en sus ensayos que no se llega a la hidrolización completa debido a una reacción inversa.

EXTRACCIÓN DE LAS DIASTASAS.—Para la extracción o separación de las *diastases* de los órganos o tejidos que la contienen se pueden emplear varios

métodos, basados todos ellos en la solubilidad de las diastases en agua glicerinada o ácida y en su precipitación por el alcohol o por el arrastre mecánico al producirse algunos precipitados en el seno de su solución. Estos pueden ser de naturaleza mineral (fosfato de calcio) u orgánica (colesterina, colodio), también pueden obtenerse por precipitación directa, el carbonato de magnesio precipita a la pepsina y el acetato de plomo al lab-fermento.

Cuando se quiere obtener una solución acuosa que en ausencia de todo elemento figurado posea propiedades fermentativas, se comienza por dividir el órgano, se macera en agua glicerinada luego se filtra se elimina el residuo y en el filtrado se precipita la diastasa por el agregado de alcohol, puede también precipitarse saturando la solución con sulfato de amonio, por estos medios se obtiene generalmente a la diastasa impurificada por grandes cantidades de materias proteicas, las que se eliminan difícilmente, por esta razón el precipitado obtenido por el alcohol o el sulfato de amonio se redisuelve en agua acidulada con ácido fosfórico, se filtra y luego se satura o neutraliza el líquido con agua de cal, el precipitado de fosfato tricálcico formado arrastra a la diastasa, la que se aísla disolviéndola en agua y reprecipitándola por el alcohol, la mayoría de las diastases así obtenidas pueden secarse a baja temperatura y con ciertas precauciones pueden conservarse largo tiempo sin que pierdan su actividad.

Algunos prefieren precipitarla de la solución acuosa, tratándola con una solución eterea de colesterina, se mezclan bien las dos soluciones y la colesterina al precipitar retiene el fermento, la colesterina se elimina por extracciones etereas, el fermento queda por ser insoluble.

El colodio(algodón polvora disuelto en eter)vertido sobre la solución acuosa de una enzima precipita reteniendola,esto procedimiento puede emplearse para su extracción y purificación.

Los métodos para separar las codiastasas de las diastasas se basan en que siendo estas ultimas cuerpos coloides son retenidas por ciertas membranas filtrantes y las codiastasas de mayor difusibilidad pasan junto con el líquido.Puede emplearse tambien la acción del calor,las codiastasas son mas estables,si llevamos a la temperatura de 100 ° la diastasa queda inactiva.

PROPIEDADES. Las diastasas son de composición química compleja, en su constitución se encuentra nitrógeno; aunque no se haya podido obtener una diastasa en un estado tal de pureza, cuyo análisis nos hubiera dado indicaciones sobre la naturaleza constitutiva de su molécula, se admite que pueden incluirse dentro del grupo de los proteicos.

Son solubles en agua y en glicerina, algunas lo son más en aceite como pasa con las lipasas, son poco solubles en alcohol, tanto más insolubles cuanto más concentrado es este.

Las diastasas actúan entre límites de temperatura poco amplios, tienen un óptimo de temperatura comprendido entre 35° y 45° término medio 40°. A los 60° las reacciones diastásicas disminuyen y antes de llegar a los 100° se destruyen. Los fermentos pueden permanecer a la temperatura del aire líquido sin que se destruya su actividad.

Las diastasas son sensibles a la luz, aumentando esta sensibilidad cuando se les añade a las soluciones sustancias fluorescentes, las soluciones así obtenidas luego de sometidas a la acción de la luz se ve que han perdido su poder diastásico.

Las diastasas al disolverse en agua tienen la propiedad de dar soluciones coloidales. Se admite que en las soluciones coloidales los granulos poseen una carga eléctrica del mismo signo, por lo que se repelen, lo que impide la aglomeración y precipitación de ellas.

El carácter coloidal de las soluciones diastásicas ha sido demostrado por el transporte eléctrico.

Las reacciones diastásicas son sensibles a los agentes químicos, hay algunas muy sensibles, muchas actúan en un medio ácido dejando de actuar con la menor alcalinidad del medio y vice-versa.

En las acciones diastásicas es necesario tener muy en cuenta la concentración del medio y la presencia de ciertas sales. Muchas sustancias obran sobre las diastasas como verdaderos venenos entre estas tenemos el hidrógeno sulfurado, el ácido cianhídrico, el óxido de carbono, etc.

Los anestésicos tienen acción sobre los fermentos y no sobre la diastasa, lo que permite su estudio por separado.

Otra de las propiedades que caracterizan á las diastases es la de presentar propiedades semejantes á las de los catalizadores, especialmente á los catalizadores metálicos.

Un catalizador es toda sustancia que sin aparecer en el producto final de una reacción, modifica la velocidad de reacción. El azúcar de caña es invertida por el agua á temperatura ordinaria después de algunos meses.

Proust en 1892 transformó el azúcar en alcohol etílico por la presencia del platino dividido á 100°. Sabemos que los catalizadores aceleran ó retardan una acción, positivos los primeros, negativos los segundos, pero no la provocan si la reacción no se puede producir por sí sola, si el almidón por hidrólisis no fuera capaz de desdoblarse en monosacáridos no podría hacerle ningún catalizador.

Otra de las propiedades de estos es que las diastases así como los proteicos son antígenos.

Las diastases antígenas de los cuerpos ^{inyectados} en el organismo provocan la formación de anticuerpos, es decir que la inyección repetida, bajo la piel de un animal, de una sustancia ya sea de origen aluminico ó una diastasa, confiere al suero de un tiempo al suero del animal inyectado la propiedad de precipitar la solución de esta materia.

En nuestro caso el anticuerpo es llamado antidiastasa. Existe según algunos autores una analogía entre las diastases y las toxinas y definir esta última como una diastasa que en lugar de actuar sobre una sustancia inerte reacciona sobre una sustancia contenida en una célula viviente siguiendo en la vida de la célula un rol fisiológico. Roux y Yersin han demostrado que la toxina antidiastásica es precipitable por el alcohol, como una diastasa y muchos de las toxinas microbianas presentan aún esta propiedad y tienen acción sobre ella muchos de los agentes físicos que obran también sobre la diastasa ya sea la luz, el calor.

Especificidad de la acción diastásica.-La mayoría de las diastasas actúan sobre sustancia determinada, no actuando sobre otras de composición química muy semejantes, algunas de estructura casi idéntica. Esta propiedad descubierta por Pasteur al estudiar el desdoblamiento del racemotartarato de amonio por el *penicillium glabrum*; el que consume el ácido tartárico derecho dejando el izquierdo, ha sido utilizada para el desdoblamiento de muchos otros racémicos. Como estos organismos actúan por medio de diastasas, se prevee para las mismas esta acción específica.

Los cuatro disacáridos de la glucosa (maltosa, trehalosa, gencianosa y turanosa) tienen cada uno su diastasa propia que lo desdobra no actuando sobre los otros tres.

Esta especificidad de las diastasas no es tan absoluta en las diastasas proteolíticas, la pepsina ataca a muy diversos proteicos, lo que puede ser debido a que se considera como tal a una mezcla de diferentes diastasas cada una de ellas con un campo de acción más limitado; Reversibilidad. Otro de los caracteres de las acciones diastásicas es su reversibilidad. La maltasa actuando sobre una solución concentrada de glucosa regenera un disacárido, la isomaltasa isomero del que dió origen a la glucosa y sobre el que no tiene acción.

se ha pretendido obtener polipeptidos sintéticos valiéndose de esta acción sintética de las diastasas, pero los ensayos efectuados no han dado resultados satisfactorios.

COMO ACTUAN LAS DIASTASAS. -Al estudiar las acciones diastásicas debemos considerar primeramente a los cofermentos o más propiamente en nuestro caso a las codiastatas, pues las diastata activas como tales por lo general no existen preformadas. Tambien debemos tener muy en cuenta a las sustancias que ejercen una acción favorable y que muchas veces son indispensables para el trabajo de las diastatas.

El cofermento puede ser de naturaleza orgánica como la enteroquinasa del jugo pancreático que reacciona sobre el tripsinógeno o de naturaleza inorgánica como las sales de calcio, manganeso, hierro, etc.

En muchos casos se ha demostrado que estas diastatas pueden aparecer en el organismo como diastatas inactivas, que son transformadas luego en diastatas activas, como por ejemplo en la mucosa del estómago que existe la ^{pro}pepsina y proquimosina las que en presencia del ácido clorhídrico segregado por el estómago pasan al estado activo de pepsina y quimosina.

El cofermento juega un rol de muchísima importancia en el organismo y esta constituido por el manganeso para la lacasa, por ácidos para la sucrasa, pepsina, amilasa y lipasa; combinaciones fosforadas para la zimasa; el calcio para la peptasa y jugo pancreático; la sal marina para las diastatas proteolíticas de los vegetales.

Las sustancias activantes aumentan no solo la velocidad de reacción sino la superficie de contacto, todas las sustancias que disminuyen dicha superficie tienden a la destrucción de la diastata pero no modifican el cofermento, esta destrucción es rápida o lenta segun el medio en que actuen, hay casos en que las combinaciones que se forman son más estables.

Los cuerpos activantes varían de una diastata a otra e igualmente pasa con los activadores de las prediastatas.

La propepsina es activada por una diastata especial, llamada de Pawlow y es lo que se conoce con el nombre de fermento de fermento pero su rol es aún poco conocido.

Hemos visto que uno de los caracteres de las diastases, era el de dar soluciones coloidales las que como tales presentan las propiedades características de los coloides; entre las más importantes y las que se utilizan para su estudio y extracción tenemos la de no ser dializable; ser arrastradas por otros cuerpos precipitados o por otros coloides y presentar los fenómenos de absorción, es decir el de retener en el interior de su masa o superficie ciertas y determinadas sustancias, una de las teorías se basa en ese fenómeno de absorción entre las diastases y el substratum.

Por la característica de las diastases, de ser semejantes en su acción a los catalizadores, algunos autores han tratado de interpretar su acción con las teorías que aplican a los catalizadores, entre ellas la iónica, para estos las diastases gozarían de la propiedad de tener iones libres en su masa; estos iones libres serían para unos los elementos minerales de ellas pues está probado que necesitan uno de los elementos químicos fuera de los elementales (carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno) para poder actuar, las que provocan coagulaciones necesitan del calcio, otras necesitan la presencia de otros cuerpos que se oxiden y reduzcan con facilidad y tenemos que los más generales son el hierro, el manganeso y el cobre, el jugo pancreático sin la presencia de sales de sodio queda inactivo y para muchos estos elementos serían la parte activa de la diastasa o enzima y la parte orgánica un medio que favorece la acción de este elemento.

Por datos analíticos se ha llegado a que la enzima más pura aislada, siempre deja una proporción de cenizas.

La teoría de breeding considera que la acción diastásica viene a ser un efecto físico eléctrico, resultante de una diferencia de electrificación positiva o negativa entre el medio y la diastasa, sin embargo esta teoría no satisface a todos por no explicar muchos fenómenos, posiblemente contribuya en la acción diastásica, pero que su acción no sea dominante.

ROL DE LAS DIASTASAS EN LOS ORGANISMOS.

Se admite que las diastasas están encargadas en los organismos del trabajo digestivo preparatorio y que ellas son los agentes químicos de la nutrición celular.

El estudio de los organismos inferiores ha demostrado la importancia de las acciones diásticas en los fenómenos de la nutrición.

En estos organismos el trabajo preparatorio para la digestión es efectuado por las diastasas que debido a su poder de difusibilidad pasan al medio alimenticio para transformar las materias ofrecidas al fermento. El *Aspergillus Niger*, el *Penicillium Glaucum* puestos en contacto con la leche coagulan la caseína por la quimosina; que es redisuelta por una caseasa.

El *Penicillium Glaucum* cultivado sobre el líquido de Raulin da una maltasa una trehalosa, una invertina, una amilasa, una inulina, una caseasa, es por medio de la diastasa que los organismos inferiores efectúan las degradaciones químicas necesarias a su nutrición. Son las diastasas las que dan lugar a la reconstrucción de las grasas y de los azúcares.

En los organismos superiores la acción de las diastasas también se manifiestan en el trabajo digestivo preparatorio y en la nutrición celular, la pepsina y la tripsina, fueron las primeras conocidas. Las diastasas celulares aparecen con el estudio de las células microbianas y en los fenómenos de autólysis.

La autólysis (auto por si misma-lisis, solución) consiste en que en los tejidos u órganos extraídos asepticamente de un animal y conservados a 37°- en contacto de antisépticos (agua cloroformada) sufrir una digestión a la que Salkowski llama autodigestión. Esta termina por una casi completa licuación del tejido; deja solo intactos al tejido conjuntivo y a las fibras elásticas. en esta autólysis las más diversas sustancias son transformadas : los proteicos dan peptona y ácidos amino como son la leucocina, tirosina, glicocola, lisina, etc.

Los nucleoproteidos se transforman en ácido fosfórico y bases puri-
cas como adenina, guanina, hipoxantina y xantina; obra también sobre
las grasas, sobre la lecina que da colina y sobre los hidratos de
carbono que desaparecen quedando en cambio ácido láctico y alcohol.
Se ha podido ensayar estos desdoblamientos con el jugo de expresión
de los tejidos ó con su extracto acuoso y se ha comprobado en ambos
casos que los agentes de estas simplificaciones son las diastasas.
Algunos autores sostienen que las diastasas autólicas intervienen
durante la vida y según otros su aparición es simplemente un fenóme-
no cadavérico ó aparecen cuando un grupo de células después de muertas
son licuadas y absorvidas; pero hay más autores que participan de
la primera de estas opiniones es decir que es durante la vida de la
célula cuando las diastasas autólicas realizan sus operaciones quí-
micas. Esto ha sido demostrado por Gautier quien ha probado que la
vida residual de un tejido desprendido del organismo y abandonado
á la autólisis aseptica la serie de reacciones de la vida normal
son continuadas con la diferencia que estas son más exageradas y los
productos son acumulados pues estos ^{no} son destruidos por la oxidación
ni eliminados por la circulación.
Tanto en la vida normal como en la residual los factores de la re-
acción son las diastasas.
Tanto en la vida normal como en la patológica son las diastasas las
que aparecen como instrumento del trabajo químico celular, de aquí
entonces la gran importancia de las diastasas.

Nomenclatura y clasificación de las diastasas. Siendo tan imperfecto el conocimiento que hoy se tiene sobre la naturaleza química de las diastasas, no podemos hablar de una nomenclatura exacta y racional, por lo general se designan con el nombre del substractum sobre el que obran, agregándole el sufijo asa. Una diastasa que actúe sobre materias protéicas recibirá el nombre de proteasa; también se le puede llamar fermento proteolítico o proteolástico; las diastasas que descomponen los hidratos de carbono pueden llamarse carbohidrasas y las que obran sobre las grasas lipasas o fermentos lipolíticos, etc. Pero como poder hablar de substracto específico refiriéndose a fermentos proteolíticos? Lippmann propuso un doble nombre, en el cual la primer parte deriva del substracto sobre el cual el fermento actúa, la segunda del producto originado por la fermentación. Si bien es cierto que en teoría la propuesta es óptima, en la práctica las dificultades son muchas, por lo que no ha sido aceptada.

Para algunos fermentos se conserva su primitiva designación: ptialina, pepsina, etc. El nombre de coagulasa es empírico deriva de la transformación física experimentada por el substracto, pues la reacción química producida se ignora. Encontramos otros nombres sancionados por el uso: catalasa, invertasa, etc.

Debido a la imposibilidad de clasificarlas teniendo en cuenta su composición química y desconociendo en muchos casos la naturaleza química del proceso diastásico, las clasificaciones se basan en la naturaleza de su acción considerando conjuntamente el substracto a ella sometido.

De las varias clasificaciones propuestas la mas aceptada es la de Oppenheimer² (Die fermente und ihre Wirkungen-) que damos a continuación:

CLASIFICACION DE LOS FERMENTOS.

(Oppenheimer-Die fermente und ihre Wirkungen)

----0----

Fermentos o diastasas

	Estearasas
	Carbohidrasas
Hidrolasas (1)	Amidasas y proteasas
	Coagulasas
	Alcohosidasas
Oxidasas (2)	Aldehidasas
	Purinosidasas
	Fenolasas
Catalasas	
Zimasas	Fermentación láctica
	Zimasas y lactodasas

---oOo---

	Alcohosidasas	
		Xantosidasas
(2)	Aldehidasas	Uricasas
Oxidasas		Tirosinasas
	Purinosidasas	
	Fenolasas	

Hidrolasas (1)

		<p>Fermentos desdoblan esteres simples</p>	
	<p>Estearasas</p>	<p>Lipasas</p>	<p>Neolipasas Lecitinasas Fitolipasas</p>
		<p>Disacarasas</p>	<p>Maltasas Sacarasas Trealasas Melilasas</p>
		<p>Trisacarasas</p>	
		<p>Tetrasacarasas</p>	
	<p>Carbohidrasas</p>	<p>Glucosidasas</p>	<p>Amigdalasas Gaulterasas Mirosinasas</p>
		<p>Polisacarasas</p>	<p>Amilasas Dextrinasas Adromasas Inulinasas Seminasas Pectinasas</p>
		<p>Simples amidasas</p>	<p>Ureasas Arginasas Creatinasas</p>
		<p>Peptasas</p>	
	<p>Amidasas y proteasas</p>	<p>Treptasas</p>	
		<p>Nucleasas</p>	
		<p>Triptasas</p>	<p>Tripsina del pancreas Triptasas de invertebra Fitotriptasas (dos)</p>
		<p>Pepsinasas</p>	<p>Pepsina del estómago Pepsinasas vegetales</p>
		<p>Trombasas</p>	
	<p>Coagulasas</p>	<p>Peptasas</p>	
		<p>Mucinasas</p>	

LA LECHE.-su composición.

sustancias nitrogenadas.-La caseína.-su estado físico
en la leche.

---o---

La leche, producto de las glándulas mamarias, es el más completo, el más común e importante alimento animal. Es un líquido blanco, opaco, de un olor sui generis y de un sabor ligeramente azucarado. Es una emulsión de materia grasa en un suero que tiene en solución un azúcar (lactosa) diversas materias nitrogenadas y pequeñas cantidades de otras sustancias, (ácido cítrico, sales minerales, etc.)

Un análisis efectuado sobre una leche de vaca, ha dado la composición química siguiente:

Densidad a -- 15°	1.0355		
Caseína	31.2	por mil.	
Albúmina	4.4	" "	
Otras sustancias proteicas	1.1	" "	
Sustancias aminadas	2.2	" "	
Lactosa	49.9	" "	
Materia grasa	44.5	" "	
Sustancias minerales	6.5	" "	

Cal de fosfatos	1.365	por mil.	
Cal de la caseína	0.485	" "	
Magnesia	0.139	" "	
Potasio	1.691	" "	
Sodio	0.596	" "	
Cloro	1.071	" "	
Acido sulfúrico	0.335	" "	
Acido fosfórico de los fosfatos.....	1.278	" "	
Acido fosfórico de la caseína	0.607	" "	

La materia nitrogenada que se encuentra en la leche pertenece en su mayor parte al grupo de los albuminoideos, encontrándose en pequeña cantidad urea, ácido orótico (Biscaro y Belloni-1905), hipoxantina, creatina, adenina y guanina.

El estudio de la materia albuminoidea de la leche ha merecido la atención de muchos investigadores, los que han llegado a los más distintos resultados; pues mientras algunos admitían la presencia de ocho o más materias albuminoideas diferentes; Duclaux pretendía demostrar que la leche no posee solamente una materia albuminoidea, la caseína, la que se comporta de manera diferente con los diversos reactivos haciendo pensar en la presencia de varias sustancias.

Las materias minerales y la lactosa disueltas ejercen una gran influencia sobre la solubilidad de estos cuerpos; por lo que Lindet sostiene que la materia albuminoidea soluble de la leche son: la caseína solubilizada por los elementos minerales, fosfatos y citratos alcalinos, contenidos en el lacto-suero comprendiendo una parte de la caseína coloidal (alfa caseína) y ~~siguen~~ albúmina (beta caseína) la que se diferencia de la primera por su poder rotatorio.

Sus solubilidades son igualmente influenciadas por las mismas condiciones experimentales.

Hammarssten, Hopper-Seyler, Schman, estudiando la composición de la materia albúminoidea contrarían en parte las ideas expuestas por Duclaux asegurando de que existen en la leche como compuestos nitrogenados proteicos la caseína, una albúmina (lacto-albúmina), una globulina (lacto globulina).

Esta hipótesis que admite la existencia de las tres materias albuminoideas responde en una forma satisfactoria a los hechos prácticos experimentales, por esta razón nosotros la aceptamos.

Autores como Danilewski y Madenhasen creen que la caseína no existe como una especie química, porque el tratamiento por el alcohol separa de ella la protalbumina y la caseoalbúmina; las dos algo distintas.

de los productos muy semejantes que se extraen del suero, sin que pueda precisarse si hay que atribuir esta diferencia por una fórmula distinta. Para los mismos autores, los globulos grasos contienen todavía una albúmina especial y en el suero existen otras, mas tres peptonas cuyos nombres un tanto rebuscados son los de lactosinprotalbina y otoproteína.

La caseína.

Como hemos visto es la materia nitrogenada mas abundante en la leche, constituye un 3 % de esta, es la que se puede aislar en mayor estado de pureza. pertenece al grupo mal conocido de los pseudos o nucleoproteidos. Es pues la sustancia mas importante de la leche no solo por la cantidad y poder nutritivo, sino por la transformación que sufre en el proceso biológico de la maduración de los quesos.

El análisis elemental ha demostrado que su composición centesimal es la siguiente:

	Hammerssten	Volker	Lieberkuhn	Chittenden-Mainter
Carbono.	52.96	53.42	53.53	52.30
Hidrógeno.	7.05	7.12	7.06	7.07
Nitrógeno.	15.65	15.26	15.61	15.91
Oxígeno.	22.65	21.92	22.80	---
Azufre.	0.78	1.11	1.00	0.82
Fósforo.	0.85	0.74	---	0.84

Duclaux ha demostrado que la cantidad de fósforo indicada por Hammerssten es elevada, probablemente debida a la presencia de ácido fosfórico libre; habiendo encontrado 0.75 de fósforo por ciento en lugar de 0.85 por la digestión clorhídrico-pepsina deja separar una paranucleína que contiene 2 a 3 % de fósforo.

Los estudios hechos sobre la caseína nos llevan a la conclusión de que la caseína es un cuerpo definido; su personalidad puede afirmarse por el hecho de que las precipitaciones sucesivas o fraccionadas no modi-

fician el tanto por ciento en fósforo, pero según Lubavine su fósforo se pierde por ebullición prolongada(1).

La caseína es insoluble o casi insoluble en agua pura, insoluble en el alcohol, en el éter; es precipitada totalmente de sus soluciones por el sulfato de magnesio a saturación a la temperatura ordinaria, por el alumbre(1/10 de la solución saturada); con los álcalis diluidos da soluciones perfectas de las que es precipitada por adición de un ácido. Es soluble en la resorcina(Lindet), en los ácidos concentrados con los cuales se combina.

Es muy fácil de obtener una solución de caseína en ácido acético, pues la desmineraliza y la hace mas soluble; este hecho no debe pasar inadvertido cuando se trata de la determinación de esta sustancia en la leche.

La caseína, precipitada de la leche por el ácido acético, purificada por su disolución en alcali diluido y por precipitaciones sucesivas, por el mismo ácido, presenta una reacción ácida al tornasol; descompone los carbonatos alcalinos, debiendo hacer notar que una parte de la acidez, es debida al ácido fosfórico o a los fosfatos ácidos producidos por la acción del ácido acético sobre los fosfatos aprisionados por el cuagulo de caseína.

Saturando la leche por el sulfato de magnesio se precipita, (dicen algunos autores) toda la caseína, si en el líquido filtrado se produce un precipitado por el calor, este debe ser debido a la albúmina; no produciéndose o solo muy poco con la leche hervida, porque en esta, el calor ha coagulado la albúmina de antemano. Pero despues se constata que el sulfato de magnesio no elimina totalmente la caseína, quedando algo de ella despues de la precipitación de la albúmina y en el cuagulo obtenido por la sal magnesiana se encuentra además de la caseína, albúmina. Por consiguiente el sulfato de magnesio no provoca mas que una separación aparente de una sustancia única.

(1). Soc. chim. - LXXIII - 1880 - p. 3. 255 -

Segun la temperatura se necesitan cantidades muy variables de sal de magnesio, obteniendose cantidades inversamente proporcionales de cada uno de los pretendidos albuminoides, cantidades que varian con la temperatura a la cual se efectua el ensayo. Como se ve, se trata de una modificación física de la caseina por la acción del sulfato de magnesio, presentandola igualmente la de la leche hervida. Esto es general, todas las sales neutras tienen la misma propiedad que el sulfato de magnesio. La albúmina de la clara del huevo se conduce del mismo modo que la caseina de la leche. Por lo que podemos decir que las sales neutras coagulan los albuminoides y entre ellos a la caseina de un modo gradual, dando variaciones de coherencia que se traducen por la variedad creciente de la misma caseina.

Sobre estos diversos estados de la caseina el cuajo ejerce su acción superpuesta a la acción de las mismas sales; si bien resultan de aquí equilibrios complejos, difíciles de deslindar de un modo exacto.

Es preciso conceder una importancia especial a las sales alcalinas, que en una forma semejante a la de los alcalis retardan de un modo manifiesto la acción del cuajo. El carbonato de sodio, en la dosis de 1 en 1000, decuplica el tiempo de coagulación; 2 en 1000 de borax retardan el fenómeno diez y seis veces mas tiempo. Pero los hechos no se limitan a un simple retraso, habiendo por lo tanto razón para pensar que una sustancia tan compleja como la caseina, sea alterada por estas sustancias anticoagulantes. En efecto, calentada a la temperatura de 57° con sales alcalinas, la leche se decolora, su transparencia aumenta y concluye por transformarse en un líquido homogéneo, del que es difícil precipitar la caseina. La acción tan marcada de las sales alcalinas es utilizada con frecuencia para la conservación de la leche. Esta acción disolvente de las sales alcalinas y de los alcalis no se produce si la caseina ha sido recientemente precipitada, no dándole tiempo a que se contraiga formando copos o coagulo; un exceso de

sales alcalinas, sobre todo en presencia de cal, precipitan la caseína en lugar de disolverla, (Hammarsten), las soluciones artificiales de caseína en los álcalis precipitan por los ácidos, hasta por el ácido carbónico; es la acción de un ácido que desplaza a otro menos enérgico, un peso determinado de ácido clorhídrico, precipita más caseína que la cantidad equivalente de ácido acético, porque la saturación de la solución a dado cloruro de sodio, en el primer caso, acetato en el segundo; y la caseína es más soluble en los acetatos que en los cloruros.

Si la solución artificial de caseína encierra fosfatos y si se trata por el ácido acético, la cantidad que es precipitada depende, para una misma cantidad de ácido, del tenor en fosfatos. Del mismo modo una solución de caseína en agua de cal o de barita, puede ser neutralizada por ácido fosfórico, sin que la caseína, ni los fosfatos terrosos se precipiten, por lo menos hasta después de un tiempo de la neutralización; la solución queda límpida, los cuerpos están en parte al estado de suspensión coloidal.

Las soluciones artificiales de caseína en los álcalis, los caseinatos presentan en parte las propiedades de la leche. Hemos visto que precipitan por los ácidos, que coagulan por el cuajo; pueden ser calentadas sin coagularse, sometidas a la evaporación forman como la leche una película superficial.

Millon y Commaille pusieron en evidencia las propiedades ácidas de la caseína(1), diluyendo la caseína con magnesia, cal o barita y precipitando el líquido filtrado por el alcohol, se obtienen precipitados blancos que toman el aspecto cuerno por la desecación, que responden a la fórmula: 2 caseína mas 3 de óxido de magnesio mas 4 de agua.

2 " " 5 " " " calcio ,4 de agua.

"2 " " 1 " " " bario ,4 de agua.

Estos compuestos se unen al óxido de calcio formando sales dobles.

(1) C.R.-t.LX-1865-págs.118 y 859-

La caseína no solamente se combina con los álcalis dando caseinatos, sino que puede combinarse también con ciertas sales, especialmente con los fosfatos terrosos. El ácido fosfórico y el calcio aprisionados por la caseína durante su precipitación, son en parte, fijados sobre la molécula albuminoidea, favoreciendo su disolución.

Los fosfatos terrosos son insolubles, lo mismo que la caseína; pero el fosfocaseinato resultante de su combinación, es bastante soluble en los elementos del lacto-suero. Lindet y Ammann(1), agregando a una leche fosfato de calcio han obtenido después de su filtración sobre kaolín, un suero con mayor cantidad en materia nitrogenada y en ácido fosfórico que la de la leche testigo.

La caseína posee la propiedad de hacer desviar a la izquierda, como la mayoría de las materias albuminoideas, el plano de vibración de la luz polarizada. La magnitud del poder rotatorio no puede ser determinado exactamente, pues este varía según la naturaleza del medio en la que se ha disuelto. Los disolventes que parecen modificar menos la naturaleza de la caseína, son las sales neutras, pero la poca solubilidad de la caseína en las soluciones de estas sales, hace que las cifras que se han obtenido sean poco precisas. Los disolventes que permiten concentrar la caseína y obtener el máximo de exactitud, son los álcalis o las sales alcalinas, pero ellos modifican el poder rotatorio de la caseína, como lo ha demostrado Bechamp, Lindet y Ammann; estos dos últimos autores han encontrado para la caseína de la leche fresca los siguientes valores:

Disuelta en soda	$\alpha_D = -116,6$
" " cal	$\alpha_D = 116.-$
" " fosfato de cal	$\alpha_D = -116,2$

El poder rotatorio calculado según la rotación que imprime un suero filtrado, antes y después de la coagulación por cuajo, alcohol, y sales, filtrados sobre kaolín ha dado los valores:

por cuajo

(1) Lindet et Ammann, Annales de l'Institut agronomique, 1916.

Por presura	=	-121,6
" alcohol	=	-124,9
" sal marina a 10 %	=	-121,6
" cloruro de calcio 6%	=	-112,6

Estas determinaciones dejan preveer que la caseina en la leche, en su estado coloidal ó en disolución pero siempre combinada al fosfato de calcio presenta su poder rotatorio como los caseinatos es decir de -115° a -124° .

Lacto- albúmina

En la leche existe albúmina en muy poca proporción, Boyere y Poggiale se ha ocupado de delatar su presencia en la leche, basandose en el poder rotatorio antes y despues de la eliminación, de la materia albuminoidea soluble de la leche filtrada.

La leche de vaca es la que menos cantidad contiene solo 0,5 por ciento representando en parte lo que Duclaux denomina caseina soluble, considerando que esta es solo una modificación de la caseina primitiva.

Sebelien ha constatado su presencia en la leche siguiendo el método de Hammarsten para la separación de la albúmina de la sangre, habiendo operado en la forma siguiente: (1) se comienza por saturar la leche con cloruro de sodio, se filtra; una adición de sulfato de magnesio en el filtrado precipita un cuerpo albuminoideo, que Sebelien considera lactoglobulina; el nuevo filtrado es adicionado de 0,25 % de ácido acético y la lacto-albúmina se deposita. Este método es el criticado por Duclaux, sin embargo es necesario reconocer que este nos da una sustancia albuminoidea distinta de la caseina.

El poder rotatorio de la lacto-albúmina varia entre -20 y -37° según el procedimiento utilizado para su obtención.

(1) Zeit. für physiol. chem. - 5. J. - 1885 - pág. 445-

La lacto-albúmina presenta la composición elemental siguiente:

Carbono-----	52,19
Hidrógeno-----	7,18
Nitrógeno-----	15,77
Azufre -----	1,75 á 1,96
Oxígeno-----	diferencias
Cenizas-----	1,13 á 2,60

Las soluciones de lacto-albúmina no son precipitadas á 40° por el sulfato de magnesio, pero sí por el de sodio á la temperatura de 30° á 40° y por el sulfato de amonio á la temperatura ordinaria. Coagula á 72° cuando está exempta de sal; á 76° cuando encierra un 0,5 % de cloruro de sodio y á 80° cuando contiene 2,5 % y á 84° cuando la dosis alcanza á 5 % .

Lacto-globulina

Hemos visto ya como se separa la lacto-albúmina de la leche por el método seguido por Bebelion . Después de haber saturado por sulfato de magnesio , el suero de la leche se coagula por cloruro de sodio, este coagulo redissuelto y purificado por el sulfato de magnesio, dialisado y precipitado por adición de cloruro de sodio ó ácido acético da una sustancia que se cree es de lacto-globulina.

La solución de lacto-globulina en presencia de un 0 % de sal marina se enturbia, á los 72° y se coagula á los 75° ó 76°.

La lacto-globulina es totalmente precipitada de sus soluciones por el sulfato de magnesio á saturación á la temperatura ordinaria;

El poder rotatorio de la lacto-globulina es de 47°,6 (Frédérice).

En la leche fresca , no existen otras sustancias albuminoideas verdaderas que las presedentes , no se encuentran proteosas, ni peptonas; estos productos que se constatan en las leches viejas, son el resultado de la digestión, por los microbios ó por las diastasas proteolíticas, de las materias albuminoideas normales.

En el suero de la leche obtenido por la acción del cuajo, se encuentra la llamada por Lammarssten proteína soluble del suero y a la que Arthus y Pagés denominan albumosa; ^{dicen} varios autores que esta sustancia designada con diferentes nombres y descrita por los que la han estudiado, no es una peptona; faltando por lo tanto caracterizar cierto número de cuerpos que responden realmente a los caracteres de las peptonas y que preexisten en la leche.

ESTADO FÍSICO DE LA CASEINA EN LA LECHE.

Con muchos los autores que se han ocupado del estudio sobre el estado físico de la caseína en la leche, entre ellos merece especial mención Lammarssten quien ha llegado a comprobar que las sales de calcio juegan un rol importante, habiendo constatado que la solución de caseína en agua de cal y saturada de ácido fosfórico coagula como la leche, de donde se deduce en consecuencia que la caseína en la leche debe encontrarse como sal de calcio, idea que mas tarde Arthus y Pagés han comprobado, pues privando a la leche de sales de calcio por el oxalato de amonio, se ve que no es coagulada por el cuajo.

Cuando se filtra leche descremada, por bujía de porcelana, por un vaso poroso de pila, sobre kaolín o bien por un espesor grande de papel de filtro, se obtiene un líquido límpido de color amarillo verdoso que encierra todas las sustancias solubles, pero otra gran parte de las sustancias contenidas en la leche han quedado en el filtro, son estos los cuerpos insolubles.

Para muchos autores entre ellos Duclaux, la caseína es la ^{vúnica} materia albúminoidea de la leche, existiendo en ella bajo la forma de caseína insoluble, en suspensión; caseína al estado coloidal en pseudo solución y de caseína disuelta.

Besana por su parte afirma que el estado de la caseína en la leche se asemeja al de la fibrina en el suero de la sangre.

Bernthsen por estudios recientes cree poder establecer que la caseína no está suspendida, pero que se encuentra disuelta en la leche por la acción de los álcalis, bajo este estado la caseína es una mezcla de globulina, albúmina y fosfocaseinato de cal. el resto de la materia albuminoidea se encuentra al estado de pseudo solución coloidal.

Vaudin(1) admite que el fosfato de calcio está disuelto a favor del fosfato disódico y del citrato de sodio, siendo esta acción facilitada por la lactosa. El fosfato de calcio es igualmente soluble en ácido carbónico. La caseína es pues según este autor un cuerpo que se encuentra en la leche al estado coloidal y puede provocarse fácilmente su precipitación; esta pseudo solución es muy inestable. El reposo prolongado es suficiente para insolubilizar una parte de la caseína coloidal que es precisamente lo que Duclaux llama caseína insoluble. Una cantidad pequeña de un coloide de signo contrario es suficiente para precipitar la caseína; el cuajo precipita únicamente la caseína que se encuentra en solución coloidal.

(1) Annales de l'Institut Pasteur-1894-

MICROORGANISMOS DE LA LECHE

En capitulos anteriores hemos visto que la leche es uno de los alimentos de más difícil conservación, pues ella encierra sustancias nitrogenadas, grasas, materias minerales compuestas que pueden servir de alimentos a numerosos microorganismos, por esto es que la leche es considerada como uno de los mejores medios de cultivo. Encuentranse microbios que atacan preferentemente a la lactosa, otros atacan a las materias nitrogenadas y otros que descomponen las grasas.

Los análisis bacteriológicos de la leche han demostrado que en una glándula mamaria sana, la leche se encuentra exenta de microbios pero al salir de ella la contaminación es rápida y fácil haciéndose por lo tanto un alimento de muy difícil conservación por cuya razón antes de ser ingerida conviene hervirla.

La contaminación empieza en los canales galactóforos, los cuales pueden ser permeables a los microbios pero la infección hematógama de las mamas raramente se produce.

En la leche se encuentran el *B. lactis* que coagula la leche con o sin desprendimiento gaseoso, encuentranse bacilos que peptonizan la caseína de la leche, muchos de ellos son útiles otros ocasionan las enfermedades de la leche, manteca y queso.

Pueden encontrarse especies aerobias que se desarrollan rápidamente y anaerobias que no se manifiestan sino por un desprendimiento gaseoso muy abundante.

Otros en cambio secretan ácido coagulando la caseína, otros transforman la caseína tanto en medio ácido como en medio neutro ó alcalino, pueden encontrarse microorganismos que atacan la lactosa y la materia nitrogenada a la vez. Las materias grasas son más difíciles de descomponer su saponificación puede hacerse bajo distintas influencias.

Vemos pues la diversidad de microbios que pueden vivir a expensas de

de los que se encuentran en la leche por liberar los diversos patógenos para el hombre como ser el bacterio de la tuberculosis y en general especies bucales traídas por el aire. Estas especies se multiplican con gran rapidez cuando se encuentran en condiciones favorables, encontrándose en la leche libre de al consumo con un número de 10,000 ó más microorganismos por cm³. En resumen se encuentran en la leche juntamente con los microbios bucales traídos por el aire, las siguientes especies:

1ª Los fermentos alcohólicos y los fermentos lácticos como la *Lactobacillus*, estos fermentos lácticos juegan un rol importante en la industria quesera, a los 70° es decir a temperatura de pasteurización la leche dejan de actuar.

2ª El grupo de los mohos;

3ª El grupo de los fermentos de la caseína.

La primera levadura capaz de transformar la lactosa en alcohol fue aislada por Duclaux (1) (total de Duclaux es una levadura forma *Saccharomyces*, aerobia pero su aerobiosis ^{vno} aumenta su actividad como fermento; no produciendo *laba* ni *caseína*, y no coagulando la leche pero es capaz de fermentar la lactosa, la sacarosa, y la galactosa.

Existen otras levaduras como la *Saccharomyces*, *Lactobacillus* y la *Lactobacillus* en general las levaduras de lactosa se diferencian de las otras por su resistencia al cloruro de sodio y al ácido láctico.

4ª Los mohos se encuentran en las leches alteradas, en la mantequilla o en los quesos. La clasificación de los mohos es muy amplia, en general se utilizan en la diagnóstico. Los caracteres del micelio de los mohos frutíferos o de sus esporas.

Los principales representantes de este grupo son el *Penicillium* y el *Aspergillus* que actúan principalmente sobre el material albuminico de la leche es coagulada con el ácido cítrico o su glicolato; durante el crecimiento sobre la caseína llega hasta la formación de amoníaco.

El hongo *Aspergillus* ataca energicamente a los materiales albuminicos, coagula...

(1) Duclaux, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1881.

de la leche y desmenuza el coágulo formado; la desintegración va a ser
ácidos amoniacales.

El ácido láctico funciona de una manera semejante, pero menos activamente,
es el único nohe que produce una proporción de ácido ^{vapreciable}; los otros re-
presentante de este grupo son los destructores del ácido láctico.

La acción de los microorganismos sobre la caseína es la mejor precisa-
da y la más fácil de observar. La modificación sufrida por la caseína
son de dos ordenes: coagulación y disolución del coágulo.

La coagulación de la caseína se hace por dos mecanismos diferentes: por
acidificación & por acción del lab, fermento soluble secretado por ma-
chos microorganismos (Lactobacilli). Otros microorganismos atacan la lactosa
en muy débil proporción y producen una cantidad de ácido que es insufi-
ciente para provocar la coagulación de la caseína a temperatura ordina-
ria. En general los fermentos lácticos provocan la coagulación de la

leche en 15 ó 48 horas y cuando el microbio es anaerobio de preferencia.
Otros fermentos necesitan cuatro ó cinco días para coagular la leche.

Existen otros microorganismos que efectúan un trabajo contrario al an-
terior disolviendo el coágulo formado, bajo la influencia de la caseína
que la digiere más ó menos completamente. Esta caseína microbiana es la
que juega un rol importante en la maduración de los quesos.

Es producida por los bacterias *Lactobacilli* (Lactobacilli) por los *B. casei* etc.

La caseína microbiana sea por que está formada por fermentos diferentes
ó por que posee una actividad variable, conduce más ó menos lejos la

desintegración de la molécula de caseína.

DIASTASAS DE LA LECHE

La idea de que en la leche existen diastاسas fué emitida en el año 1877 por Aruchard y Morgan ellos pensaron en la presencia de un fermento proteolítico o proteasa hoy el número de diastاسas identificadas en la leche es muy grande creyéndose que se encuentran representantes de la mayoría de los grupos; estas son de gran importancia por el rol biológico que desempeñan. Sabemos que dando a un ternero leche materna hervida este muere, por que el calor destruye las diastاسas necesarias para la digestión de la leche impidiendo así la asimilación del producto.

La diastasa proteolítica denominada impropriadamente galactasa por los autores americanos, proteasa o proteolasa actúa sobre las materias albuminoides, como lo harían la tripsina y la pepsina, pero su acción va mas lejos pues llega hasta producir amoníaco.

Para Vandeveld(1) la proteasa se comportaría como una kinasa que activaría la acción de los líquidos digestivos en la digestión de la leche cruda.

Béchamp ha demostrado que en algunas leches se encuentran amilasas. Koning demostró que cien gramos de leche de vaca transforma en media hora una cantidad de almidón que puede llegar a 0,12 gramos.

En la leche no se encuentran lipasas es decir lipasas capaces de saponificar las grasas neutras se encuentran solamente una monobutirinasas.

Las diastاسas que pertenecen al grupo de las oxidantes pueden ser divididas en dos subgrupos unas fijan directamente el oxígeno del aire sobre el cuerpo a oxidar estas son las oxidasas (aeroxidاسas) las otras toman a un peróxido orgánico o mineral el oxígeno necesario para la reacción estas son las peroxidاسas (aneroxidasas). Oxidasas no se encuentran en la leche en ella solo se encuentran peroxidاسas.

Las diastاسas reductoras que se encuentran en la leche son tambien de dos clases; en una leche normal y fresca es necesario hacer intervenir una pequeña cantidad de un reductor, se elige una aldehida para que actúe una reductasa, a la que se llama reductasa aldehídica.

-(1)-----

(1). Revue générale du lait-1907-

En la leche se encuentra también una diastasa capaz de descomponer al agua oxigenada en agua y oxígeno molecular inerte, esta es denominada clastasa o catalasa.

Desde hace algunos años varios autores han tratado de diferenciar la leche fresca y cruda de la esterilizada por la ebullición o pasteurizada, basándose en fenómenos diastásicos.

Coagulación de la leche.-Generalidades.

Sabemos que la leche abandonada a si misma se coagula, esta coagulación es provocada en la generalidad de los casos por un aumento de acidez producido por la fermentación láctica, pudiendo esta definirse como la transformación o desdoblamiento de la lactosa en ácido láctico; esta transformación ha demostrado Duclaux que es producida por microorganismos. Conjuntamente con esta la leche es invadida por los tirotrix que no actúan produciendo ácido láctico, sino segregando diastatas capaces de actuar sobre la caseína coagulandola, ambas acciones se adicionan y dan por resultado una más pronta coagulación. Como veremos más adelante al estudiar las distintas teorías o interpretaciones sobre la composición de la caseína y su estado físico en la leche, es necesario establecer una distinción entre los fermentos que coagulan la leche por las diastatas coagulantes que segregan en medio neutro y aquellos que coagulan por la acidez que ellos producen.

La coagulación de la caseína por un aumento de acidez del medio es considerada como una pseudo coagulación o mejor dicho como una precipitación.

Por experiencias sucesivas se ha comprobado que la mayoría de los microorganismos que secretan fermentos capaces de coagular la leche, secretan a su vez otros fermentos que actúan sobre la caseína coagulada solubilizandola, esta es la caseasa.

La industria quesera para este objeto emplea generalmente presura o cuajo animal.

Este fermento se encuentra también en el reino vegetal; conocido es el empleo de la flor del cardo o de la leche de higuera (latex) para la obtención de la cuajada en nuestro país.

ACCIÓN DEL CUAJO SOBRE LA LECHE

La leche es muy sensible á la acción del cuajo tan es así que puede prepararse extractos líquidos de cuajo del cual una parte coagula cincuentamil partes de leche calentada á 35° en cuarenta minutos y extractos secos que puede llegar á tener una fuerza septupla del primero. Soldner en el año 1888 se ocupó de este asunto y preparó de un volumen de cloruro de sodio y cuajo, un precipitado activo; una parte de este coagulaba 1,000,000 de partes de leche á 35° y en cuarenta minutos. Este precipitado al estado seco contenía un 36% por ciento de materia orgánica de donde la proporción de leche coagulada vendría á ser aproximadamente tres veces mayor en relación á la materia orgánica. Cuando se trata la leche por el cuajo, se presenta inalterada por un tiempo más o menos corto según la actividad del cuajo, enseguida comienza á condensarse poniéndose la leche viscosa hasta un cierto punto en que el suero se quedado completamente separado del coágulo formado, tocándole entonces con una ^{S'}patula, se divide en pedazos gelatinosos, si se eleva la temperatura y el coágulo se quedado en contacto del suero se hace más compacto.

Son varios los factores que influyen en la acción del cuajo; ya hemos visto, la influencia que ejercen algunas sales minerales y otras orgánicas. La temperatura favorece esta acción hasta un cierto límite, el óptimo es cerca de los 41°, á 0° el cuajo queda inactivo, pero si la leche se calienta previamente y se trata por cuajo á 0° á los 30° ó 40° la coagulación se manifiesta.

La acción del cuajo á temperatura ordinaria es débil aumenta notablemente con la temperatura y alcanza su máximo á los 41°, después del cual la actividad del cuajo decrece rápidamente, al aumentar la temperatura el cuajo influenciado sensiblemente por este factor, según haya sido la temperatura á que se ha efectuado la coagulación, su consistencia varia

es de esta manera que se llegan a obtener cuagulos blandos poco compacto a los 15°, de 25° a 45° es más compacto y arriba de los 50° se presenta blando .

Tiene tambien importancia en el cuagulo formado, la acides de la leche empleada, cuanto mayor es esta más rapidamente se coagula .

La neutralización de la leche por los álcalis retarda la coagulación y puede llegar á paralizarla si este se encuentra en exceso este retardo es proporcional á la dosis de álcalis empleado; esta acción desfavorable de los álcalis se ha atribuido no á su influencia sobre el cuajo o sobre caseina, sinó a una disminución de las sales solubles de Ca existentes en la leche.

Si por ejemplo en una leche alcalinizada agregamos cloruro de calcio y una pequeña cantidad de ácido esa leche se hace sensible al cuajo aunque la coagulación es algo retardada.

El aguado de la leche tambien tiene importancia en la coagulación, retardandola y obteniendose cuagulos flojos si esta se ha hecho en exceso, pasado un cierto límite el cuagulo formado no se seca y cuando la cantidad de agua empleada es mucha la coagulación queda paralizada . Una cantidad de cuajo mayor que la de los límites establecidos puede llegar a ser un inconveniente , es así como se obtienen cuagulos de los cuales es difícil separar el suero. Otras sustancias que tambien retardan la coagulación de la leche por el cuajo, son el sublimado corrosivo (Cl_2Hg), 0,1 retarda bastante la coagulación y 0,5 % la suspende ; el fluoruro de sodio y la formaldehida en un 0,2 % agregados a la leche antes de verter el cuajo tiene igual acción . (demostrado en 1904 por Lowenstein).

Si a la leche se agrega Alcohol amílico, creosota, quinina, sulfito de sodio ó ácido bórico la coagulación de la leche por el cuajo no es impedida, pues éstos a pesar de ser antifermentativos y antisepticos no ejercen acción precipitante sobre la diastasa coagulante y no altera tampoco la constitución física y química de la leche. Existen otras en cambio que exaltan la fuerza coagulante tales como, los ácidos orgánicos y mine-

rales , el cloruro de calcio, el fosfato de cal, actúan favoreciendo la coagulación, habiendo otras que actúan en sentido inverso .En general se puede decir que las sales de calcio tienen la propiedad de exaltar la acción del cuajo en cambio otras como las de sodio ,potasio, amonio y sobre todo esta última más activas que las anteriores agregadas en la leche en 1-2 % suspende la coagulación, el borato de sodio en una proporción de 0,1 % tiene la facultad de hacer diez veces más lenta la coagulación, este hecho ha sido demostrado por Duclaux en el año 1894.

ACCION DEL CUAJO SOBRE LA LECHE COCIDA

La acción del cuajo sobre la leche cocida ha sido estudiado por varios químicos pero los trabajos de Söldner merecen especial mención, este comprobó que haciendo hervir la leche y enfriándola después, sometida a la acción del cuajo no coagula o si lo hace es con suma lentitud, el coagulo obtenido de esta manera es difícil de recoger, es ténue y sin consistencia. El autor mencionado atribuye este hecho de que cuando la leche es calentada, la alta temperatura a que es sometida trae consigo una transformación de las sales de calcio existentes en ella que en parte se insolubilizan disminuyendo así la cantidad de sales solubles de calcio, el fermento coagulante queda sin acción, este hecho está comprobado y puede ponerse en evidencia pues agregando sales de calcio como cloruro de calcio, ácido carbónico, o algún otro ácido débil en la leche hervida esta adquiere nuevamente la propiedad de coagular bajo la acción del cuajo,

Para que la leche adquiriera la propiedad de no coagularse bajo la acción del cuajo, no es necesario llevarla a la ebullición, bastará solamente la temperatura de 70° durante 15 minutos.

La propiedad ya enunciada que adquiere la leche al ser calentada, es una de las dificultades que se han presentado para la obtención de queso, pasteurizadas o esterilizadas, además la obtención del queso con dichas leches se hace difícil por cuanto con la pasteurización se altera la estructura físico química de la leche y se disminuyen los bacterios que contienen. Además se priva a la caseína de los gemenes que también una función química en la maduración de los quesos. Lo racional es entonces agregar a las leches cultivos de los bacterios necesarios, ya que se pierden por la pasteurización y cloruro de calcio. Klein y Kirsten en 1898 fundandose en estos hechos con resultados favorables agregaban cloruro de calcio en solución acuosa al 40 % en la proporción de 100 a 120 cm^3 por 100 g de leche pasteurizada y cultivo de bacterios obtenidos en la forma siguiente.

La leche flaca ^{ny} mantenida por dos horas a 40° (temperatura favorable al desarrollo de bacterias), agregarlos luego a la leche que se quiere hacer coagular en un 2,5 %.

2ª la leche flaca tratada por cultivos de bacterias lácticas que sirven en la fabricación de la manteca.

3ª agregar una porción de queso blando del mismo tipo del que se desea obtener.

El cloruro de calcio en proporción de 0,1 % en la leche reduce la duración de la coagulación de la leche a la mitad o al tercio, y en una cantidad al 1 % , la duración es 5 veces más rápida que en la leche no ~~ni~~ adicionada de cloruro de calcio , aumentando la dosis de este, la coagulación no se acelera, más bien se verifica un retardo. (Ducloux 1894).

Las sales de calcio y el óxido de calcio tienen aplicación en la industria quesera, pues se ha comprobado que agregando este en un diez a veinte por ciento de leche y coagulando por cuajo se llega a obtener un rendimiento mayor en queso.

INFLUENCIAS DE LAS CONDICIONES EXTERIORES

Se ha comprobado que la leche colocada al abrigo del aire puede conservarse indefinidamente sin alteración, experimentando tan solo los cambios de orden físico las diversas capas por razón de densidad, pero abandonada a si misma experimenta siempre una fermentación láctica poco después que se ha separado la materia grasa. Es cuando como ya hemos mencionado se ve aparecer en la leche una nueva sustancia, el ácido láctico que es el que coagula la caseína y la hace insoluble aun cuando sobrenada un líquido ligeramente, verdoso que es el suero.

La producción de ácido láctico tiene lugar á expensas de la lactosa, por lo que es necesario admitir un fermento el que debe tener una temperatura óptima, el primero es el fermento láctico y el segundo factor la temperatura comprendida entre 15° y 20° como vemos la acidez tiene importancia respecto á la coagulación de la leche desde el momento que es capaz por si sola de producirla cuando se encuentra en cantidad conveniente, al aumentar ella, aumenta la actividad del cuajo.

Si la leche a coagular es muy ácida su coagulo es sólido y se hace cuajado granuloso, en cambio sucede lo contrario con leches poco ácidas la cantidad de lab fermento empleado tambien tiene importancia y ejerce su acción en la coagulación de la leche, así se dice que entre ciertos límites las temperaturas necesarias á la coagulación está en razón inversa de las cantidades empleadas, pero si es mucha la cantidad de lab fermento empleado esta ley no es exacta.

Fleischman á observado la influencia de la temperatura en la coagulación, así el cuajo hace sentir su acción á los 20° y se hace cada vez más energética hasta los 41°, pasados el cual su acción se debilita y a los 60° se anula, Duclaux á demostrado que el lab fermento no deja de ser activo á baja temperaturas este á 8° varias semanas, manifiesta su acción cuando se calienta á 35°. Cuando la leche es ácida el cuajo resiste más la temperatura.

NATURALEZA QUIMICA DEL CUAJO.

Deschamps en 1840 se ocupó de aislar el principio activo del cuajo, para ello procedía en la forma siguiente: agregaba amoníaco a una maceración de cuajares de terneros, hecha con alcohol diluido, adicionado de sal marina. El precipitado obtenido en esta forma contenía, según este autor, el principio activo que él iba buscando y al cual le dio el nombre de quimosina.

En un comienzo se creyó que el principio coagulante del cuajo animal y el del cuajo vegetal era un ácido y que este era el que producía la coagulación de la leche; si bien es cierto que el jugo de la mayoría de los vegetales contienen ácidos, lo mismo que los segregados por las mucosas estomacales, para derribar esta hipótesis bastará tener presente lo siguiente:

- 1°.- Que el cuajo animal o vegetal neutralizado con álcalis coagulan la leche,
- 2°.- Los mismos a una temperatura próxima a los 70° pierden la propiedad coagulante, aunque mantengan la reacción ácida.
- 3°.- La cuajada obtenida por la leche coagulada con un ácido no es capaz de dar^{o hacerse} queso, como se hace con la obtenida con el cuajo animal o vegetal.

Besana en 1871, Soxhlet en 1873, Mayer en 1878 y muchos otros autores posteriormente se han ocupado de este asunto, entre ellos Hammansten reconocen que la quimosina aislada por el método descrito de Deschamps, no es un individuo químico, es una mezcla de sustancias nitrogenadas mezcladas a su vez con fosfato de calcio.

Admite este autor que en el estómago de los mamíferos existen dos diastases que pueden coagular la leche, una sería el lab-fermento y la otra sería la pepsina, diferenciándose una de otra entre otras propiedades en que la pepsina resiste más el calor en solución acuosa

que el lab-fermento ,propiedad usada para la separación de ambos .
La pepsina no reacciona sobre la leche neutra,necesita para actuar
una cierta acidez.

En 1857 Nava se ocupó de determinar o mejor dicho caracterizar y co-
nocer la composición elemental del principio activo del cuajo del
ternero que llamaba quimosina, en esta investigación llega a la conclu-
sión de que difiere muy poco de la composición de la albúmina,
contiene un 15,62 % de nitrógeno; Selmi trató de obtener el mismo
producto por otros métodos, el que analizado confirmó los resultados
anteriores.

TEORIAS SOBRE LA COAGULACION DE LA LECHE.

Respecto a la naturaleza del fenómeno de la coagulación de la leche, existen diversas teorías que tratan de explicarlo, unas de carácter físico y otras que lo interpretan como un fenómeno químico.

Entre las primeras se encuentra la de Duclaux, el que ha confirmado sus ideas apoyándose en los trabajos posteriores de Perrain, sobre la naturaleza de las soluciones coloidales.

Duclaux había observado en sus numerosas experiencias, que las partículas pequeñas que se encuentran en suspensión no se precipitan o decantan, porque su adhesión a las moléculas del líquido, la sustraen a las leyes por las que debía separarse de acuerdo con su diferencia de densidad. Pero cuando se agrega un agente coagulante, cloruro de calcio por ejemplo, el equilibrio entre el peso y las fuerzas moleculares se rompe y sea que la adhesión entre el sólido y el líquido haya disminuido, o lo que es más probable, que las fuerzas de atracción entre las partículas del sólido hayan aumentado, estas se reúnen y agregan, formando ~~formando~~ otras cada vez más voluminosas, las que se precipitan.

Los corpúsculos al contacto de los líquidos se electrizan, se cargan de iones provenientes de la descomposición del agua, iones hidrógeno positivos y iones oxhidrilo negativos. Estos iones se rechazan y tratan de segmentar los gránulos haciéndolos más pequeños. Pero por otra parte la cohesión y la tensión superficial reaccionan en sentido contrario y tienden a juntar los gránulos. La tensión y la cohesión favorecen el crecimiento de los gránulos, pero la electrización es una causa interna de dislocación, se concibe que haya un diametro de gránulos para los cuales estas dos influencias se equilibran, de aquí que si una sustancia toma al contacto del agua una débil tensión superficial y una fuerte electrización, se tiene una emulsión, esta

emulsión tendrá tanto más gránulos finos cuanto más considerable sea la electrización de contacto, pero si esta disminuye los gránulos aumentan en grosor y se aglomeran .

Estas son las teorías físicas que se han aplicado á la coagulación de la leche las que la interpretan como debido al aporte de iones de signo contrario de los que se cargan los gránulos en emulsión.

Las teorías químicas que han pretendido explicarlo han perdido en parte su interés, no pareciendo razonables si se considera la desproporción que existe entre la masa precipitada y la sustancia precipitante.

Ya hemos visto que la caseína en la leche se encuentra al estado de sal de calcio y que Arthus y Pagés comprobaron que la leche tratada por el oxalato de amonio es decir privada de calcio no es coagulada por el cuajo; lo que nos lleva á la conclusión de que las sales de calcio son necesarias para que el cuajo ejerza su acción.

Para dar una idea clara de estos fenómenos sobre la coagulación de la leche se ha hecho la hipótesis de un desdoblamiento de la materia nitrogenada, bajo la influencia de la pepsina en una sustancia insoluble, la paracaseína, y una proteína soluble . Según el autor mencionado la primera de estas sustancias se precipita bajo forma de coágulo encerrando cantidades variables de calcio y ácido fosfórico y para otros autores no es más que una combinación cálcica.

La teoría de Hammarsten ha sido sumamente combatida y se ha hecho para ello muchas experiencias entre las que citaremos la siguiente:

Tomando caseína pura disolviéndola, en agua de cal , saturando la cal por ácido fosfórico, coagular por cuajo y observar el poder rotatorio de la materia nitrogenada del suero, se ve que este poder rotatorio es igual al del fosfocaseinato de cal primitivo 2119° .

Se admite entonces que el cuajo ha determinado la formación de una proteína soluble que tiene igual poder rotatorio que la caseína empleada. En una solución artificial de caseína los cuatro quintos de ella están al estado coloidal la demás disuelta, la primera de esta es coagu-

lada por el cuajo dejando un suero que tiene fosfo-caseinato de cal soluble . respecto a esto se ha hecho notar que el coágulo obtenido así tiene menos fosfato de cal con relación á la materia nitrogenada que el del suero primitivo.

Debido pues á la diversidad de opiniones existentes con estas teorías y como ninguna de ellas nos explica satisfactoriamente este fenómeno es que descartamos las teorías químicas fundándonos tan solo en las teorías físicas.

Cuajos.

Llamamos cuajo a la sustancia empleada en la industria quesera para la coagulación de la leche.

Hemos visto que algunos organismos vegetales y animales elaboran sustancias orgánicas particulares, no idénticas entre ellas, pero sí dotadas de una acción específica sobre la caseína de la leche, de las cuales el nombre saca provecho.

De los vegetales no ha podido obtenerse una preparación industrial que pudiera competir con los cuajos animales que son los que ofrece el comercio y los únicos empleados para la fabricación de quesos.

Sabemos que el cuajo o presura se encuentra en el estómago de los animales mamíferos en el período de la lactancia (en los ruminantes en el cuarto estómago o cuajar) es secretada por la mucosa estomacal, encontrándose en mayor cantidad en el jugo segregado por los folículos gástricos que se encuentran en las membranas internas del cuajar.

Para la obtención de cuajos se utilizan preferentemente ventrículos de terneros mamoneros y excepcional es el empleo de cuajares o estómagos de animales adultos o que han llegado a comer forraje. Pueden también utilizarse ventrículos de cabritos y estómagos de burritos pero estos son menos activos que los anteriores.

Los cuajos obtenidos pueden responder a diversos tipos: cuajo en bolsitas, cuajo en pasta, conserva de cuajo, cuajo líquido y cuajo en polvo.

En las granjas y queserías de los diversos países se preparaba antes a estos cuajos a expensas de medios empíricos, ~~pero~~ todos ellos si bien es cierto que trataban de disolverlo, concentrarlo y preservar en lo posible la alteración del principio activo, obtenían cuajos muy impuros, con abundante cantidad de materias orgánicas inertes y gran cantidad de gérmenes lo que los hacía de difícil conservación, de poder coagulante muy variable y muchas veces poco económico; estos cuajos han sido remplazados con ventajas por los que ofrece el comercio. Estos son cuajos en polvo y cuajos líquidos en su casi totalidad, las otras formas (bolsitas, conserva y pasta) han caído en desuso.

Describiremos las varias formas, detallando sus procedimientos de preparación.

Cuajo en bolsitas: Esta forma, posiblemente la más antigua y usada hasta hace pocos años en Hungría, se preparaba vaciando los cuajares, separándolos prolijamente de las partes caseosas y grasas adheridas, lavándolos ligeramente, privándolos de sus apéndices y secándolos al aire. El ventrículo así preparado tiene la apariencia de una bolsita, de donde proviene su nombre, seca, lúcida, semitransparente y de color característico.

Cuajo en pasta: En un tiempo se creía que la parte activa del cuajar era su contenido caseoso, al que se le da el nombre de gema, por cuya causa se apreciaban más a dicho contenido que al mismo cuajar; para su preparación utilizaban los ventrículos de terneros, los que dejaban estacionar y secaban con el respectivo contenido caseoso, en un lugar tibio y seco, después de haberlos polvoreados con sal, después de unos meses, se cortaban en pedazos se les añadía abundante cantidad de sal y vinagre en cantidad suficiente para que la masa adquiriera una consistencia de pasta blanda; algunos fabricantes la mezclaban con queso fresco, harina u otras sustancias inertes y algunas veces nocivas.

Este cuajo era poco homogéneo, constaba de una mezcla de trozos relativamente grandes de membranas, masas caseosas y sal; estando su preparación en manos empíricas y por lo general poco escrupulosas empleaban con frecuencia cuajares no sanos, alterados o mohosos o con larvas.

Su aplicación era incómoda, porque se debía suspender en leche y separar las partes no solubles. Se acostumbraba a colocar la cantidad necesaria para la coagulación en una muñeca, la que se sumergía en la leche y luego con la mano se exprimía la pasta, con el objeto de que cediera al principio coagulante.

Este cuajo en pasta se conocía también con el nombre de cuajo de Hausen el que dejó de usarse cuando se supo que la masa blanquecina contenida en el cuajar era de muy bajo poder coagulante y que solo era leche cuajada a favor de una sustancia secretada por las paredes del mismo.

Cuajo líquido. En su origen fué designado con el nombre de cuajo artificial, denominación equívoca que hacia suponer que este cuajo era un preparado extraño al ventrículo de ternero; por el contrario el cuajo líquido no es otra cosa que un extracto acuoso de la membrana que constituye el cuajar al que se le agrega un antiséptico para impedir su putrefacción. Soxhlet propuso el empleo del ácido bórico y el alcohol, otros emplean el ácido clorhídrico o la sal común, siendo los más usados ésta última y el ácido bórico.

En el comercio se encuentran ~~patos~~ cuajos líquidos o extractos de prensa de diversas procedencias: Hansen de Copenhague; blumenthal de Berlín; Fabre de Paris; Erba de Milán; etc.

Para obtener estos cuajos se procede en la forma siguiente: Extraído el cuajar se vacía de su contenido y se elimina el tejido adiposo y adherencias; se liga una de sus aberturas y se infla por la otra, cuando la membrana esta distendida se liga ésta, el ventrículo así preparado está en condiciones para ser secado, lo que se hace al aire, una vez secos se desligan y se acumulan en lugares secos y aerados hasta el momento de ser empleados en la preparación de la solución coagulante. Estas membranas así llamadas en el comercio, después de tres meses de estacionamiento, no deben pesar mas de 45 grs. cada una, las que pesan de 55 a 60 grs. son sospechosas, por lo general provienen de terneros que ya han sido alimentados con forraje; las mejores son las lúcidas, semitransparentes, privadas de apéndices o grumos caseosos, de olor característico nunca pútrido.

No deben usarse membranas que no han permanecido estacionadas por lo menos tres meses, las frescas tienen una fuerza coagulante menor, adquiriendo un máximo después de este tiempo, cuando han pasado un año decrece dicha fuerza, llegando a perderla casi por completo lo que las hace inservibles.

Se cortan las membranas en trocitos de 1 centímetro cuadrado, teniendo cuidado de separar la extremidad tubulosa que corresponde al píloro, la

que contiene mucha gelatina y poco fermento. Se ponen en maceración 100 grs. de estos fragmentos con un litro de agua tibia que contiene en solución 50 grs. de sal común; se dejan macerar durante cinco días, agitando frecuentemente, después de este tiempo se añaden otros 50 grs. de sal y 100 c.c. de alcohol a 90°, se mezcla bien y se filtra, el filtrado se lleva al volumen de un litro *ppp* agregando agua. Se obtiene de este modo un litro de cuajo líquido, él que contiene un 10 % de sal, un 8 a 9 % de alcohol y si los ventrículos usados eran buenos su fuerza coagulante es aproximadamente de 1 parte para 10.000 de leche.

Estos cuajos son de difícil conservación, no tardan en enturbiarse y formar depósito; el agregado de antisépticos ácido bórico, salicílico, benzoico, etc. si bien es cierto que contribuye su conservación, deben ser usados con prudencia pues tienden a insolubilizar el principio activo del cuajo.

Cuajo en gelatina de Eriksen o conserva de cuajo, se presenta en láminas delgadas de consistencia gelatinosa. Para obtenerlo se comienza por extraer los ventrículos de mamones con agua acidulada con ácido clorhídrico al 3 o 4 %, a la temperatura de 40° C. y por un tiempo no mayor de 48 horas; el filtrado es neutralizado con hidrato de sodio y se determina su poder coagulante; en esta solución se agrega gelatina pura (25 grs. por litro) y un poco de glicerina, después de disuelta la gelatina se extiende la masa sobre una mesa de vidrio o lámina de porcelana y se hace secar, luego se corta en pequeños cuadraditos de manera que uno de ellos disuelto en agua tenga la cantidad de cuajo necesaria para coagular 20 lts. de leche en media hora y a la temperatura de 25° C.

Cuajo en polvo o cuajo cristalino. - Este cuajo puesto en el comercio en el año 1882 por M. Blumenthal de Berlin se presenta como un polvo de color blanco amarillento, arenoso al tacto, de olor animal semejante al de la pepsina, de sabor salado y soluble en agua.

Su obtención esta basada en la evaporación a baja temperatura del extracto acuoso adicionado de sal común, pero este método al parecer tan simple presenta varios inconvenientes pues los cuajos por él obtenidos contienen

proteínas y sustancias extractivas en una cantidad tal que suelen comunicarles un olor poco agradable, los hacen de difícil conservación y pierden pronto gran parte de su poder coagulante. Es preferible tratar los cuajares con alcohol, después con agua glicerinada la que disuelve el fermento y precipitarlo de esta solución glicérica por el alcohol, el precipitado obtenido se mezcla con cloruro de sodio, lactosa u otra sustancia inerte, pudiendo secarse a un moderado calor. Estos cuajos son más puros y conservan largo tiempo su poder.

Como la mayor dificultad para la fabricación industrial de los cuajos consiste en la adquisición a precios convenientes de los cuajares de mamones, los que se sacrifican excepcionalmente y su producción no puede suministrar la cantidad exigida por la industria, se recurre a los estómagos de cordero y vacuno; si bien es cierto que el lab o quimosina es más abundante durante el período de lactancia y su cantidad disminuye cediendo su lugar a la pepsina, no desaparece por completo en el resto de la vida.

De los estómagos se extrae conjuntamente con la pepsina macerando la mucosa estomacal o la papilla obtenida raspando dicha mucosa, con agua acidulada con ácido clorhídrico, se filtra y el líquido filtrado se trata por el alcohol que precipita ambos fermentos; para su separación se disuelven en agua y se trata por el acetato neutro de plomo el que solo precipita a la pepsina, en el filtrado el acetato básico del mismo metal precipita a la caseína o lab fermento, estos dos precipitados puestos en suspensión en agua son tratados por el hidrógeno sulfurado, se separa el plomo al estado de sulfuro, quedando el fermento en solución, de la que se separa por el alcohol.

Puede también separarse la mezcla de pepsina y quimosina tratando la solución con carbonato de magnesio, la que precipita a la pepsina, del líquido filtrado se obtiene la quimosina precipitándola con el sub-acetato de plomo y siguiendo el procedimiento ya mencionado.

EL LEB-FERMENTO EN LOS VEGETALES.

En el reino vegetal se encuentran fermentos capaces de producir la coagulación de la leche y cuyo rol en la vida del vegetal nos es aun desconocido.

El latex de la higuera (*Ficus carica*) ha sido empleado con este objeto desde tiempos remotos, siendo frecuente su uso en el interior del país para preparar la conocida cuajada; las hojas o ramitas de higuera suelen ser remplazadas, en las provincias del litoral por la flor del cardo (*Cynara cardunculus*).

Bucloux en el tomo segundo de su microbiología (pág. 592) señala como plantas que contienen cuajo, a las siguientes: *Carica papaya*, *Cynara scolymus*, *Whitaniacoagulans*, *Datura stramonium*, *Risum sativum*, *Lupinus hirsutus*, *Ricinus communis*, etc.

Bouchardat, Quevenne y ultimamente J. Bartrand estudiaron la flor del alocañil y con su jugo consiguen coagular la leche, pero no obtienen una cuajada compacta que pueda ser utilizada en quesería.

Gerber en una serie de trabajos publicados en los Comptes de l'Académie des sciences y de la Société de biologie, detalla sus investigaciones de carácter puramente científico sobre el poder coagulante de una serie de plantas.

En nuestro país el Dr. Francisco R. Lavalle ha estudiado "El cardo de Castilla" (1) ocupándose preferentemente del fermento coagulante que sus flores poseen. El tasi (*Araujia libens*), la enredadera tan común en el litoral del Plata, que ha merecido la atención del Dr. Pedro A. Grata, tiene una diastasa coagulante, la que con un fin digno de elo-

(1) Rev. Universidad de Bs.As. - T. XV - pág. 348-

gio, como es el de su posible utilización industrial, fué estudiada y ensayada por el Sr. Ing. Agrónomo Julio G. Velárdez(1).

El escaso conocimiento que aún se tiene sobre la naturaleza y acción de estos fermentos diastásicos, cuyos estudios y ensayos de aplicación no han salido de el ambiente de los laboratorios, hacen que no sean utilizados por la industria quesera, la que emplea el cuajo animal exigiendo el sacrificio poco económico de terneros mamones.

Describiremos los procedimientos aconsejados para la extracción de estos fermentos vegetales; las propiedades de algunos de ellos comparandolos con el cuajo animal y la acción de los diversos factores que influyen en su acción.

Gerber (2) da un procedimiento largo y complicado, el que solo es aplicable para el estudio bio-químico de la diastasa coagulante, cuando se trata de obtenerla pura y privada de las sustancias que normalmente la acompañan en el jugo de las plantas; los cuajos obtenidos por este autor son de poca energía, sin duda alguna por la ausencia de estas sustancias que deben desempeñar algun rol en el fenómeno de la coagulación.

El procedimiento empleado generalmente para la extracción de diastases es el siguiente: se extrae el jugo y latex de la planta por trituración y fuerte presión, empleando para este caso una prensa. El jugo así obtenido es evaporado a la temperatura ordinaria hasta consistencia pastosa, el residuo es tratado repetidas veces con alcohol absoluto, en pequeñas cantidades agitando con una varilla de vidrio y decantando. Al principio el alcohol se colorea de verde y el residuo conserva su consistencia gomosa adquiriendo mayor consistencia a medida que se repiten los tratamientos; cuando el

(1) Contribución al estudio de la diastasa coagulante de la "Araujia Albens" J. G. Velárdez-univ. de Plata-Tesis-1916

(2) C. Rendu de la Société de Biologie-Méthode générale de preparation de présures végétales-n° 19-pág 890-1909-

alcohol comienza a salir límpido, toda la masa se desintegra poniéndose en suspensión un precipitado que es arrastrado por el alcohol. Por unas horas de reposo, el precipitado se deposita y el alcohol queda coloreado en amarillo. Decantado y evaporado ese extracto alcohólico, disuelto el residuo en agua destilada y ensayado, se comprueba que no coagula la leche. El precipitado separado por decantación y secado al aire, se disuelve en agua destilada, se deja reposar para separar la parte que no se ha disuelto y en el líquido decantado se efectúan los ensayos necesarios para determinar su poder o fuerza coagulante.

El fermento así obtenido es relativamente impuro, para purificarlo hay que precipitarlo y redissolverlo repetidas veces, teniendo en cuenta que en cada precipitación una parte del fermento queda disuelto, de manera que la cantidad de diastasa que se pierde aumenta a medida que se purifica.

Como precipitante en lugar del alcohol, en algunos casos conviene usar la colestérina diluida en una mezcla de cuatro partes de alcohol y una de éter, o las soluciones concentradas de sales neutras como cloruro de sodio, sulfato de magnesio, etc.

El cuajo vegetal es comparable al cuajo animal, del punto de vista físico en diferenciándose algunos por actuar en distinta forma sobre la leche, según sea esta cruda o cocida. Es menos soluble en agua, más difícilmente precipitable por alcohol absoluto y este precipitado en estado de regular pureza, se presenta como un polvo amorfo y blanquecino.

Werber cree que este fermento es más abundante en las plantas que contienen latex y que la caseasa y tripsina que lo acompañan en algunos vegetales, no son más que tres aspectos diferentes de una misma diastasa coagulante de la leche.

El mismo autor, estudiando la distribución del fermento en las partes y tejidos de los vegetales, a encontrado que en la *Centaurea Scabiosa* y *Cynara Cardunculus* abunda esta diastasa en los miembros que contienen clorófila y es así que en el parenquima de las hojas es dos veces más activa que la de los nervios que contienen menos pigmento, de aquí dedujo que el fermento es proporcional a la cantidad de clorófila. Esta diastasa es menos abundante en los órganos y tejidos privados de clorófila.

De todos los cuajos vegetales el único que ha tenido aplicación en la industria quesera es el cuajo preparado con las flores de cardo, (1) este que era conocido desde los tiempos más remotos, fué estudiado en 1898 por Rasetti quien trató de establecer la naturaleza de este fermento, dió el nombre de Cinarasi a la enzima que se encuentra en el alcaucil solvático. Este mismo autor constató que la coagulación de la leche hecha por esta enzima no es impedida por algunos antisépticos entre los que se citan el ácido salicílico, bórico, benzina, alcohol amílico y sulfato de cobre.

El máximo de acción es a la temperatura de 50°, siendo destruida a los 65°.

La diastasa aislada por este autor se presenta como un polvo oscuro amorfo, soluble en agua y se encuentra en el alcaucil silvestre en la proporción de un cinco por ciento.

El Dr. Francisco P. Lavallo en su trabajo sobre "El cardo de Castilla" ya mencionado, estudiando este fermento, llega a las conclusiones siguientes: 1ª.-El máxima de temperatura para el fermento del cardo es como para el lab 41°C.

2ª.-El fermento del cardo así como para el lab, obran del mismo modo sobre la albúmina de origen vegetal que de animal.

(1) Caseificio-Carlo Besana.-Enciclopedia Agraria Italiana.-

- 3°.-La acción del fermento, como la del lab, consiste en un desdoblamiento de la albúmina en dos partes, una soluble y la otra insoluble.
- 4°.-El fermento y el lab obran sobre la leche cruda y la hervida, pero en esta última la acción es mas tardía.
- 5°.-El fermento y el lab obran solamente en presencia de sales de calcio.
- 6°.-El fermento y el lab actúan en cantidades variables en razón inversa del tiempo; pero pasando de ciertos límites, cantidades mayores de uno y de otro no abrevian el tiempo de acción.
- 7°.-El fermento y el lab pierden su acción coagulante con la obulición.
- 8°.-El fermento y el lab obran con lentitud en las soluciones diluidas.
- 9°.-Las sales de calcio abrevian la coagulación para el fermento y para el lab
- 10.-No obstante esas propiedades comunes que parece identificarlos, el fermento no es igual al lab porque en presencia de sales extrañas obran de manera muy distinta.

El Sr. Ing. Julio G. Velázquez en su estudio sobre la diastasa coagulante de la Araujia Albens llega a las conclusiones siguientes:

- 1°.-El latex y jugo celular de la Araujia Albens contienen un principio diastásico coagulante de la leche.
- 2°.-Este cuajo actúa mas enérgicamente sobre la leche hervida que sobre la leche cruda y su actividad coagulante se manifiesta mejor a temperaturas comprendidas entre 40° y 55°.
- 3°.-Coagula mayor cantidad de caseína que el cuajo animal.

El mismo autor ha demostrado que la coagulación es activamente acelerada por el cloruro de calcio y con menor intensidad, por el carbonato y bicarbonato de calcio y por el cloruro de sodio. El fosfato tricalcico no tiene ninguna acción y el fosfato ácido de magnesio y el carbonato son retardatrices.

ANÁLISIS DE CUAJOS.

Al efectuar este trabajo uno de los fines que nos ha guiado ha sido el de conocer la composición y poder coagulante de los cuajos del comercio. En estos cuajos destinados a la industria quesera la determinación que tiene mayor importancia es la de su poder o fuerza coagulante, pues su valor industrial depende de este; no existiendo siempre una relación directa entre el valor industrial y el valor comercial o precio de los mismos.

También hemos podido comprobar que algunas de las muestras (especialmente de cuajos líquidos) se alteran con facilidad, perdiendo después de un cierto tiempo gran parte de su fuerza coagulante.

La presencia de algunas sustancias conservadoras prohibidas (ácido bórico) no es objetable en estos productos, teniendo en cuenta las pequeñas dosis empleadas y que siendo solubles pasan en su mayor parte al suero de la leche coagulada.

En los análisis de las muestras que pudimos adquirir en el comercio empleamos el procedimiento siguiente:

Determinación del poder coagulante: Se denomina cuajo normal, aceptándose por convención como término de comparación al cuajo del cual 1 parte coagula 10.000 partes de leche a la temperatura de 35° C. en 40^m. El poder coagulante de un cuajo es proporcional al volumen de leche que es capaz de coagular e inversamente proporcional al tiempo de coagulación para un mismo volumen de leche, en iguales condiciones de temperatura y acidez.

Esta ley puede aceptarse como cierta dentro de determinados límites como lo demuestra el cuadro siguiente:

•
•
•
•
•
•
•
•
•
•

•

•

•

•

•

•

•

•
•
•

•

•
•
•

- 1	.	---	---
	.	100.00	---
	100.00	0.00	---
-	.	00.00	---
1	.	.	.
-	.	100.00	1.00
	100.00	100.00	100.00
-	100.00	0.00	100.00
100.00	.	00.00	0.00
-	00.00	00.00	00.00
	100.00	01.00	00.00
-	00.00	00.00	00.00
	00.00	100.00	1.00
0 -	00.00	100.00	0.00
	00.00	100.00	100.00
-	00.00	.	00.00
	00.00	100.00	.
-	00.00	.	00.00

Determinación del poder coagulante.

Tiempo en minutos	Dilución 1/10	Dilución 1/30	Dilución 1/50
10	4.000	12.000	20.000
11	3.636	10.909	16.180
12	3.333	10.000	16.666
13	3.076	9.230	15.384
14	2.857	8.571	14.285
15	2.666	8.000	13.333
16	2.500	7.500	12.500
17	2.353	7.059	11.565
18	2.222	6.666	11.111
19	2.105	6.316	10.525
20	2.000	6.000	10.000
21	1.904	5.712	9.520
22	1.818	5.454	9.090
23	1.739	5.207	8.695
24	1.666	5.000	8.333
25	1.600	4.800	8.000
26	1.538	4.584	7.690
27	1.481	4.444	7.405
28	1.428	4.285	7.140
29	1.379	4.137	6.890
30	1.333	4.000	6.666

Cantidad de leche empleada 100 c.c.

Temperatura 35° C.

Cantidad de cuajo empleada 1 c.c. de solución.

Determinación del poder coagulante.

Tiempo en minutos	Dilución 1/100	Dilución 1/300	Dilución 1/500
10	40.000	120.000	---
11	36.263	109.090	181.818
12	33.333	100.000	166.666
13	30.769	92.300	153.845
14	28.570	85.710	142.850
15	26.666	80.000	133.333
16	25.000	75.000	125.000
17	23.530	70.590	116.666
18	22.222	66.666	111.111
19	21.050	63.150	105.252
20	20.000	60.000	100.000
21	19.040	57.124	95.200
22	18.181	54.545	90.909
23	17.390	52.073	86.950
24	16.666	50.000	83.333
25	16.000	48.000	80.000
26	15.380	45.840	76.900
27	14.800	44.444	74.050
28	14.280	42.857	71.400
29	13.793	41.370	68.900
30	13.333	40.000	66.666

Cantidad de leche empleada 100 c.c.

Temperatura 35° C.

Cantidad de cuajo empleada, 1 c.c. de la solución

Humedad y residuo fijo: 5 grs. de cuajo sólido fueron colocados en una cápsula de porcelana, tarada, colocados en una estufa a la temperatura de 110° C. durante 6 horas, al cabo de ellas, se retiró la cápsula, se dejó enfriar en un desecador sulfúrico y se pesó; la pérdida de peso referida a 100 grs. la consideramos como humedad. En los cuajos líquidos determinamos el residuo fijo colocando 10 c.c. en una cápsula, los que evaporamos a baño maria y luego llevamos a la estufa siguiendo el procedimiento anterior; el aumento de peso X 10 nos da la cantidad de materias disueltas o residuo fijo por ciento.

Materias orgánicas y sustancias minerales: la cápsula con su contenido empleado en una de las operaciones anteriores, se colocaron en el interior de una mufla, calentada al rojo débil, teniendo cuidado de tapar la cápsula para evitar pérdidas; la diferencia de peso la consignamos como materia orgánica y el residuo de materias minerales lo reservamos para determinar cloruros .

° Sustancias nitrogenadas: efectuamos una determinación de nitrógeno por el procedimiento Kjeldahl, sobre 2 grs. de cuajo sólido o 5 c.c. de cuajo líquido previamente evaporados en presencia de ácido sulfúrico; la cantidad de nitrógeno la calculamos en materia proteica multiplicándola por el factor 6,25.

Cloruros: el residuo de materias minerales lo disolvemos en agua caliente, filtramos y llevamos el líquido filtrado a un volumen conocido, sobre una parte del cual determinamos cloruros por el procedimiento de Mohr.

Investigación del ácido bórico: procedimos en la forma siguiente: de los cuajos líquidos colocamos 10 c.c. en una cápsula de porcelana, alcalinizamos con lechada de cal, evaporamos en baño maria y calcinamos para destruir la materia orgánica; el residuo lo tratamos con 5 c.c. de ácido clorhídrico al 1/2 y 10 c.c. de alcohol , filtramos y en el líquido filtrado sumergimos la mitad de una tira de papel de cárcuma el que secamos sobre un vidrio de reloj colocado sobre un baño maria a la ebullición; en los casos en que

el ácido bórico estaba presente, nos ha sido revelado por la coloración roja, rojo salmón o rosada que tomaba la parte de la tira de papel de cúrcuma secada. De los cuajos sólidos pesamos 5 grs. en una cápsula que tratamos con lechada de cal y seguimos el procedimiento anterior.

Determinación cuantitativa del ácido bórico.: Son dos los procedimientos que hemos ensayado, uno colorimétrico y volumétrico el otro.

Metodo colorimétrico.-10 grs. de cuajo solido o 10 c.c. de cuajo liquido fueron alcalinizados con agua de cal y luego de evaporados calcinados, el residuo se trató con 5 c.c. de ácido clorhídrico al 10 % 10 c.c. de alcohol a 95° y 15 c.c. de ácido clorhídrico puro(D. 1.19) se filtra y se lava el filtro con 5 c.c. de alcohol, a la totalidad del liquido filtrado se le adiciona 0.2 c.c. de una solución o tintura alcoholica de curcumina al 0.2 %, se agita la mezcla y se deja 24 horas al abrigo de la luz, completamos el volumen de 50 c.c. , comparando luego la coloración con los tubos de una escala colorimétrica, que ha sido preparada conjuntamente con los ensayos en la forma siguiente: en cinco tubos en los cuales hemos marcado con un trazo el volumen de 50 c.c. , colocamos 1/2, 1, 1 y 1/2, 2 y 2y 1/2 c.c. de una solución de ácido bórico al 1 %, los que corresponden a 0.005-0.010-0.015-0.020 y 0.025 grs. de ácido bórico respectivamente, le agregamos a cada uno 5 c.c. de ácido clorhídrico al 10 % , 15 c.c. de alcohol, 15 de ácido clorhídrico (D = 1.19) y 9.20 c.c. de la solución de curcumina al 0.20 %.(1), dejamos como en el caso del ensayo 24 horas, completamos con agua el volumen de 50 c.c. y, mezclamos, teniendo

(1) La solución de curcumina la preparamos extrayendo con eter de petroleo, en un extractor soxhlet polvo de raiz (rizoma) de cúrcuma, (curcuma longa) previamente secada a 100° C, eliminadas ~~las~~ las sustancias grasas, se extrae en el mismo aparato la materia colorante con benzol, en el que por concentración y enfriamiento precipita bajo forma de pequeños cristales amarillos. La solución se obtiene disolviendo 0.20 g. en 100 c.c. de alcohol a 90°.

presente que la cantidad de cuajo empleada es de diez gramos, multiplicando por diez la cantidad de ácido bórico que contiene el tubo de la escala cuya coloración corresponde a la del ensayo, tendremos la cantidad de ácido bórico por ciento.

Investigación del ácido clorhídrico: En los cuajos líquidos que presentan una fuerte reacción ácida, hemos investigado la presencia del ácido clorhídrico libre, añadiendo a unos cinco c.c. de cuajo colocados en un tubo de ensayo unas gotas de una solución al 0.01 % de violeta de metilo. En los casos en que había ácido clorhídrico el líquido tomó una coloración verde-azulado.

Investigación del ácido láctico: Utilizamos el reactivo de Uffelmann, (solución de fenol azuleada por el percloruro de hierro) el que da una coloración amarilla en presencia de los ácidos-alcoholes.

Damos a continuación los resultados analíticos obtenidos en las muestras de cuajos líquidos, en polvo y comprimidos de cuajo que encontramos en el comercio.

CUAJOS LIQUIDOS.

Designación	H	B	M	Z
Caracteres organolepticos	Satisfact.	Satisfact.	Poco sat.	Satisfact.
Poder coagulante declarado.	---	---	7.000	10.000
Poder coagulante encontrado	12.000	3.333	8.800	7.512
Acidez de la leche empleada.	1.58	1.66	1.64	1.65
Materias disueltas %	21.14	14.51	20.62	28.43
Materia orgánica	2.24	1.03	2.54	4.78
Materia mineral	18.90	13.48	18.08	23.65
Nitrógeno total	0.30	---	---	0.49
Materias proteicas	2.18	---	---	3.05
Otras sustancias org.	0.06	---	---	1.73
Cloruro de sodio	18.20	12.36	19.14	21.86
Acido bórico	0.30	0.65	0.45	0.60
Acido clorhídrico	No cont.	Vestigios	Vestig.	No cont.
Acido láctico	Si cont.	No contie.	No cont.	" "
Alcohol	No cont.	No cont.	No cont.	" "
Glicerina	" "	" "	Si cont.	Si cont.

Quesos en polvo

Designación	N. D.	F.	P.M.	E.A.	C.M.F.L. (1)	C.M.F.L. (2)
Caracteres organoleptivos	Satisfac.	Satisfac.	Satisfac.	Satisfac.	No satis.	Malos.
Poder coagulante declarado	50.000	80.000	50.000	80.000	21.050	17.390
Poder coagulante encontrado	48.000	72.000	42.857	72.400	21.050	17.390
Acidez de la leche empleada	1.58	1.66	1.65	1.64	1.67	1.67
Humedad	1.75	2.16	1.40	0.80	19.42	21.06
Mat. orgánica	4.26	3.57	5.83	4.53	80.48	8.96
Sust. minerales	93.99	994.27	92.77	94.67	8.90	69.98 (2)
Azoe total	0.49	0.46	0.84	--	1.40	0.98
Mat. proteicas	3.05	2.78	5.25	--	8.75	6.12
Otras sust. org.	1.21	1.29	0.58	--	71.73 (1)	2.84
Cloruro de sodio	92.43	93.60	92.77	92.90	1.09	11.70
Acido bórico	No cont.	0.50	No cont.	51 cent.	0.50	0.45

(1) Contiene lactosa y ácido clorhídrico.

(2) Contiene carbonato de calcio.

Guajos sólidos

Designación	Gr. T.	B.	I. E.
Caracteres organolépticos	Satisfact.	Satisfact.	Satisfact.
Poder coagulante declarado	---	---	100.000
Poder coagulante encontrado	80.000	54.545	92.300
Acidez de la leche empleada	1.62	1.60	1.65
Humedad	% 0.90	1.12	0.74
Mat. orgánica	" 3.50	4.27	5.75
Sust. minerales	" 95.60	94.61	94.81
Azoe total	" 0.36	0.38	0.60
Mat. proteicas	" 2.62	2.80	4.37
Otras sust. org.	" 0.88	1.47	1.08
Clerure de sodio	" 94.21	94.21	93.78
Acido bórico	" 0.20	Mo cont.	0.25

Comprimidos de quejo.

Designación	"S" tubo 10 past.	"C" tubo 20 past.
Peso medio de undsemprimido	0,683 grs.	0,55 grs.
Poder coagulante declarado	1 past:10 lts	1 past. 1 lt.
Poder coagulante encontrado	1/10 coag.1 lt. en 46'a 35° 0,66	1 past. coag.1 lt en 28'a 35° 0,54
Peso de un comprimido		
Materia mineral	0,52	0,51
Materia orgánica y humedad	0,14	0,03
Cloruro de sodio	0,49	--
Acido bórico	Vestigios	Vestigios
Almidón	Si contiene	No contiene

CONCLUSIONES.

El poder coagulante encontrado en la mayor parte de los cuajos del comercio es menor que el poder coagulante declarado.

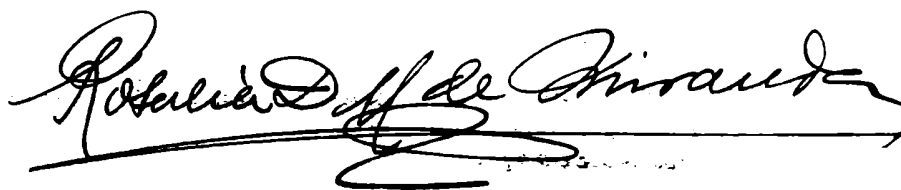
Los cuajos fabricados en el país son en su mayoría de bajo poder coagulante y de difícil conservación.

Para determinar el poder coagulante es conveniente efectuar diluciones de manera que el tiempo necesario para la coagulación sea el comprendido entre 10 y 30 segundos.

En algunos casos un mismo cuajo ensayado con leches frescas (inmediatamente después del ordeño) proveniente de vacas distintas nos han dado resultados diferentes, esta falta de correspondencia debida sin duda alguna a diferencias de composición en las leches utilizadas nunca han sido lo suficientemente elevadas alterar fundamentalmente la cifra del poder coagulante.

Hemos constatado la presencia del ácido bórico en todos los cuajos líquidos ensayados y en la mayoría de los cuajos en polvo.

Creemos que la presencia del ácido bórico en estos productos no es perjudicial, teniendo en cuenta las pequeñas dosis empleadas y que siendo soluble pasa en su parte con el suero de la leche coagulada.



Trabajo efectuado en el Laboratorio de Bromatología de
la Facultad de Ciencias Médicas.

Buenos Aires, 21 de Abril de 1922.