

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE INGENIERIA EN ALIMENTOS

**Concentración de Extracto Enzimático Obtenido de
Hojas de Maqui (*Aristotelia chilensis Mol.*) para su
Utilización en Quesería**

Tesis presentada como parte de los
requisitos para optar al grado de
Licenciado en Ingeniería de los Alimentos.

Andrea Karina Leal Mora

VALDIVIA -CHILE
2006

PROFESOR PATROCINANTE

Sra. Luz Haydée Molina C.

Prof. Biología y Química

Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

PROFESOR INFORMANTE

Sra. Carmen Brito C.

Ingeniero en Alimentos, M. Sc. Food Science

Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Sra. Marcia Costa L.

Ingeniero Civil Bioquímico, Diploma en Ing. Industrial

Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

AGRADECIMIENTOS

A mi profesora patrocinante, Sra. Luz Haydée Molina Carrasco, por su apoyo incondicional durante la realización de este trabajo.

A mis profesoras informantes, Sras. Carmen Brito Contreras y Marcia Costa Lobo, por su valiosa ayuda y colaboración.

Al personal de los Laboratorios de Química y Microbiología y auxiliares del Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, quienes a través de su enorme colaboración, hicieron posible la realización de la etapa experimental de esta Tesis.

A mis Padres, por su confianza puesta en mí y por todo su apoyo durante mi etapa universitaria.

A mis compañeros y amigos, por estar conmigo y entregarme el apoyo necesario para seguir adelante.

INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCIÓN	1
2	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1	Antecedentes generales del maqui	3
2.1.1	Morfología de la planta	4
2.1.2	Distribución geográfica	4
2.1.3	Hábitat natural	5
2.1.4	Usos de la planta	5
2.2	Enzimas coagulantes	6
2.2.1	Enzimas de origen animal	7
2.2.2	Enzimas de origen vegetal	9
2.2.3	Enzimas de origen microbiano	13
2.2.4	Enzimas de origen genético	16
2.3	Coagulación enzimática de la leche	18
2.3.1	Influencia del pH	20
2.3.2	Influencia de la temperatura de la leche	23
2.3.3	Influencia de la concentración de iones calcio	25
2.3.4	Concentración de la enzima y sustancias nitrogenadas	26
2.4	Calidad bacteriológica de enzimas coagulantes	26
2.5	Ultrafiltración	29
2.6	Quesos elaborados con coagulantes vegetales	31
3	MATERIAL Y METODO	33
3.1	Obtención de muestras	33

3.2	Ubicación de los ensayos	33
3.3	Diseño experimental	33
3.4	Pruebas preliminares de extracción de proteínas a la planta nativa maqui	35
3.4.1	Extracción según AÑON Y MARTINEZ (1996)	35
3.4.2	Extracción según GUPTA Y ESKIN (1977)	36
3.4.3	Análisis de los extractos obtenidos	37
3.5	Métodos de análisis	37
3.5.1	Análisis de la planta	37
3.5.1.1	Determinación del contenido de proteína Kjeldahl	37
3.5.1.2	Determinación del contenido de humedad	38
3.5.2	Análisis del extracto vegetal	38
3.5.2.1	Determinación del contenido de proteínas del extracto enzimático vegetal	38
3.5.2.2	Medición de la fuerza del cuajo	38
3.5.2.3	Tiempo de coagulación	38
3.5.2.4	Determinación de la sinéresis del gel	39
3.5.2.5	Determinación de la fuerza del gel obtenido	39
3.5.2.6	Electroforesis discontinua en geles PAA-SDS	39
3.5.2.7	Cromatografía en columna DEAE celulosa	39
3.5.2.8	Ultrafiltración en equipo Millipore	40
3.5.2.9	Recuento total de bacterias mesófilas	40
3.5.2.10	Recuento de Enterobacterias	40
3.5.2.11	Recuento de Staphylococcus aureus	40
4	PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS	41
4.1	Resultados de extracción de enzimas vegetales	41
4.2	Determinación de la temperatura y pH óptimo de actividad coagulante del extracto enzimático de origen vegetal	42

4.3	Contenido de proteínas y humedad de la hoja de maqui (<i>Aristotelia chilensis</i> Mol.)	44
4.4	Caracterización del extracto enzimático de maqui ultrafiltrado	45
4.4.1	Contenido de proteínas del extracto enzimático de maqui ultrafiltrado	45
4.4.2	Fuerza del cuajo del extracto enzimático de maqui ultrafiltrado	47
4.4.3	Tiempo de coagulación del extracto enzimático de maqui ultrafiltrado	48
4.4.4	Sinéresis del gel con extracto enzimático de maqui ultrafiltrado	50
4.4.5	Fuerza del gel del extracto enzimático de maqui ultrafiltrado	52
4.4.6	Electroforesis discontinua en geles PAA-SDS	53
4.4.7	Cromatografía en columna DEAE celulosa	55
4.5	Estudio de estabilidad del extracto enzimático de maqui ultrafiltrado	57
4.5.1	Efecto de la adición de sorbato de potasio sobre la actividad coagulante del extracto enzimático de maqui ultrafiltrado	57
4.5.2	Efecto de la adición de sorbato de potasio sobre la calidad microbiológica del extracto enzimático de maqui ultrafiltrado	60
5	CONCLUSIONES	63
6	RESUMEN	64
	SUMMARY	65

7	BIBLIOGRAFIA	66
	ANEXOS	75

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Fuente de enzimas coagulantes	6
2	Proteinasas utilizadas en tecnología de alimentos	23
3	Especificaciones microbiológicas para enzimas coagulantes	27
4	Lugar y fecha de los muestreos de hojas de maqui	33
5	Diseño experimental	34
6	Estabilidad del extracto enzimático vegetal ultrafiltrado	34
7	Fuerza del cuajo obtenida de la extracción según GUPTA Y ESKIN (1977) ultrafiltrado	41
8	Contenido de proteína y humedad en hojas de maqui (<i>Aristotelia chilensis</i> Mol.)	44
9	Contenido de proteínas del extracto enzimático de maqui ultrafiltrado	46
10	Fuerza del cuajo del extracto enzimático de maqui ultrafiltrado	47
11	Tiempo de coagulación del extracto enzimático de maqui ultrafiltrado	49
12	Sinéresis del gel del extracto enzimático de maqui ultrafiltrado	51
13	Fuerza del gel con extracto enzimático de maqui ultrafiltrado	52
14	Fuerza del cuajo de los principales picos de absorbancia del extracto enzimático de maqui ultrafiltrado	57

15 Efecto de la adición de sorbato de potasio sobre la actividad coagulante del extracto enzimático de maqui concentrado

57

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Árbol, hojas y fruto del maqui (<i>Aristotelia chilensis</i> Mol.).	3
2	Características de enzimas coagulantes de origen animal	8
3	Perfil de elución de HPLC de cardosina A y B extraídas de <i>Cynara cardunculus</i>	11
4	pH y temperatura de estabilidad óptima de enzimas extraídas de <i>Mucor miehei</i>	14
5	Formación de fracciones de nitrógeno soluble (NS) y nitrógeno aminoacídico (NA), durante la maduración de queso Gouda elaborado con cuajo de origen animal y cuajo de origen genético	17
6	Coagulación enzimática de la leche	19
7	Relación entre el grado de producción de acidez hasta la etapa de desuerado y la estructura básica del queso	21
8	Esquema del Proceso de Ultrafiltración	30
9	Quesos elaborados con coagulante vegetal	32
10	Extracción de proteínas según AÑÓN Y MARTINEZ (1996)	35
11	Extracción de proteínas según GUPTA Y ESKIN (1977)	36
12	Temperatura óptima del extracto enzimático de maqui ultrafiltrado	42
13	pH óptimo del extracto enzimático de maqui ultrafiltrado	43
14	Electroforesis PAA-SDS del extracto enzimático de maqui y estándares de peso molecular	54
15	Gráfico de movilidad relativa (Rf) v/s peso molecular	55

16	Perfil de elución del extracto enzimático de maqui (muestreo 1) y del cuajo estándar	56
17	Efecto de la adición de sorbato de potasio sobre la fuerza del cuajo del extracto enzimático de maqui ultrafiltrado	58
18	Efecto de la adición de sorbato de potasio sobre el tiempo de coagulación del extracto enzimático de maqui ultrafiltrado	59
19	Recuento total de bacterias aerobias mesófilas en el extracto enzimático de maqui ultrafiltrado	61

INDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Figura de filtros Centriplus de Millipore de concentración y recuperación	76
2	Determinación del contenido de nitrógeno según STEUBING <i>et al.</i> (2002).	77
3	Determinación del contenido de proteínas, de acuerdo al método de LOWRY <i>et al.</i> (1951)	78
4	Determinación de la fuerza del cuajo de acuerdo al método descrito por ALAIS (1985), modificado en la temperatura y contenido de calcio	80
5	Electroforesis en geles de PAA-SDS. Método de LAEMMLI (1970) modificado en placa	81
6	Análisis estadístico del contenido de humedad en hojas de maqui	83
7	Información meteorológica para los días de muestreo	84
8	Análisis estadísticos para proteína total en base seca en hojas de maqui	85
9	Análisis estadísticos para contenido de proteínas del extracto enzimático vegetal	86
10	Resultados de análisis realizados a la hoja y extracto de maqui	87
11	Análisis estadísticos para fuerza del cuajo del extracto enzimático vegetal	89
12	Análisis estadísticos para tiempo de coagulación del extracto enzimático vegetal	90

13	Análisis estadísticos para sinéresis del gel del extracto enzimático vegetal	91
14	Análisis estadísticos para fuerza del gel del extracto enzimático vegetal	92
15	Imagen de cuajo vegetal y cuajo estándar HALA	93
16	Obtención de pesos moleculares de proteínas del extracto enzimático vegetal encontradas utilizando electroforesis en geles de PAA-SDS	94