

COAGULANTE VEGETAL DE CARDOS PARA LA ELABORACIÓN DE QUESOS DIFERENCIADOS

Kruszyn, M. S. (i), Reñones, L. (i), Cañameras, C. (ii), Cornachini, M. (ii), Martínez, M. (i)
(i)INTI Química, (ii)INTI Lácteos
marismar@inti.gob.ar

Introducción

Los coagulantes de origen vegetal han sido utilizados desde tiempos ancestrales por su fácil obtención en comparación con el cuajo animal o renina, proveniente del jugo gástrico de los mamíferos rumiantes. Actualmente, en los procesos industriales de elaboración de queso, se utilizan coagulantes tanto de origen sintético, como fúngicos y también recombinantes.

Los coagulantes vegetales se distinguen en la producción de quesos con denominación de origen, como los elaborados en la península Ibérica “Torta del Casar” de España (Figura 1) y “Serra da Estrela” de Portugal, cuajados con extractos de pistilo del cardo *Cynara cardunculus*.



Figura 1: “Torta del Casar”, denominación de origen de queso producido en España, a partir de coagulante vegetal de *C. cardunculus*.

Tradicionalmente, el proceso de obtención del extracto enzimático vegetal se realiza con las inflorescencias de *C. cardunculus*, recolectadas y oreadas a la intemperie.

El coagulante es obtenido por maceración con agua y luego se utiliza para la fabricación artesanal del queso. Éste, comúnmente se elabora con leche de oveja Merina.

En Argentina hay trabajos previos (Vairo Cavalli *et al.*, 2005; 2013) en los cuales se revisan las aplicaciones de los extractos acuosos de inflorescencias de *Silybum marianum* (L.) Gaertn., en los que hay presentes proteasas aspárticas con la capacidad de coagular leche. Se han encontrado trabajos de diversas regiones del mundo en los cuales se estudian distintas especies de cardos, provenientes de

varios géneros o familias que presentan actividad enzimática, que se podrían utilizar para la obtención de cuajo vegetal.

Objetivo

- Obtener preparados enzimáticos a partir de inflorescencias de tres variedades de cardo de la provincia de Buenos Aires.
- Determinar el poder coagulante de los preparados enzimáticos obtenidos.

Descripción

Recolección y acondicionamiento de las muestras

Se recolectaron inflorescencias de tres variedades de cardo (Figura 2) de la provincia de Buenos Aires, separando cada especie en frescas (congeladas) y secas (en estufa de venteo a 30 °C). Además, se subdividieron en muestras de plantas enteras, receptáculos y pistilos de las flores.

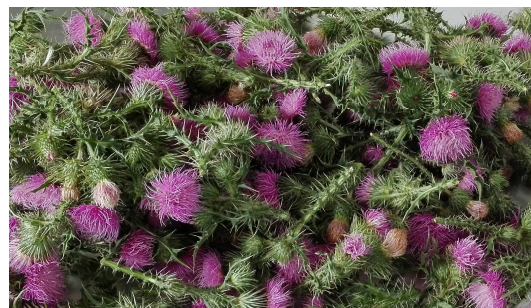


Figura 2: Muestras de cardo mariano (*Silybum marianum*) enteras y frescas, una de las variedades utilizadas en el estudio.

Obtención de los extractos

Se prepararon las muestras molidas, cortadas a cuchillo y procesadas con mortero.

La extracción se llevó a cabo en un baño de hielo para prevenir la degradación enzimática, con agitación durante 90 minutos. Como solventes se utilizaron agua destilada y *buffer* fosfato 0,2 M, pH 4,7. Las muestras se filtraron luego con tela y papel de filtro, separando alícuotas de los extractos obtenidos para su posterior análisis.

Determinación de la actividad enzimática

Fue determinada mediante una combinación de los métodos de la unidad de tirosina (TU/cm³) (Quinde Fuentes *et al.*, 2013) y el modificado de Kunitz (Barros *et al.*, 2001). La medición se realizó espectrofotométricamente a una longitud de onda de 280 nm.

Determinación de la concentración proteica

La concentración de proteínas fue determinada espectrofotométricamente a una longitud de onda de 560 nm. (Lowry *et al.*, 1951).

Determinación de la fuerza de cuajo

La fuerza de cuajo o poder coagulante (Figura 3) está definida como el volumen de leche que es capaz de coagular un volumen de enzimas en 40 minutos a 35 °C. Se expresa en forma de relación, por ejemplo, 1:150 significa que 1 cm³ de enzima es capaz de coagular 150 cm³ de leche.



Figura 3: Determinación de la fuerza de cuajo.

Conservación de las muestras

Para evaluar la conservación se dividió cada una de las muestras en tres partes iguales, una se colocó en *freezer* a -20 °C, otra en heladera a 4 °C y la última fracción se liofilizó, luego de lo cual se comprobó que no afectara la actividad proteolítica del extracto.

Resultados

Se preseleccionaron las muestras que presentaron mayor actividad enzimática, como se muestra en la tabla 1. Estas muestras se compararon contra una muestra comercial de origen español y se observó que los extractos presentaron actividades enzimáticas menores, siendo la muestra C11 la que presentó la mayor actividad enzimática, correlacionándose con el resultado obtenido en la determinación de la fuerza de cuajo.

Muestras	MC	C5	C10	C7	C11
Proteínas (mg/cm ³)	0,60	3,50	12,8	3,33	3,09
Actividad Enzimática (TU/cm ³)	919	228	246	198	561
Fuerza de Cuajo	1:61 (40 min)	NC	1:100 (>40 min)	NC	1:100 (<40 min)

Tabla 1: caracterización de los extractos enzimáticos: MC: muestra comercial, C5: muestra seca molida (extracción acuosa), C10: muestra liofilizada resuspendida, C7: muestra seca molida (extracción en *buffer* pH 7), C11: muestra fresca, NC: No coaguló.

Conclusiones

El extracto C11 mostró una actividad enzimática comparable al preparado enzimático comercial, lo que alienta futuros estudios para la elaboración de quesos diferenciados con una fuente no tradicional de enzimas.

Este tipo de estudios preliminares resultan de importancia para la obtención de productos con agregado de valor en la industria de la quesería. Por esta razón se continuará con el desarrollo interdisciplinario entre INTI Lácteos e INTI Química para la obtención de coagulantes de origen vegetal de especies locales.

Bibliografía

- Elena Ordiales Rey (2012), *Caracterización del Cardo (Cynara Cardunculus, L.) para su uso como coagulante vegetal en el proceso de elaboración de la Torta del Casar*. (Tesis doctoral). España: Universidad de Extremadura.
- Vairo-Cavalli, S. et al. (2013). Properties and Applications of Phytpepsins from Thistle flowers. *Phytochemistry*, 92, 16-32.
- Vairo-Cavalli, S. et al. (2005). Extraction and partial characterization of a coagulant preparation from Silybum marianum flowers. Its action on bovine caseinate. *Journal of Dairy Research*, 72(3), 271-275.
- Barros, R. M. et al. (2001). Quantitative studies on the enzymatic hydrolysis of milk proteins brought about by cardosins precipitated by ammonium sulfate. *Enzyme and Microbial Technology*, 29, 541-547.
- Quinde Fuentes, C. S. et al. (2013). *Extracción, purificación parcial y secado de la enzima bromelina obtenida a partir del corazón de la piña (Ananas comusus)*. (Tesis de grado). Guayaquil: Escuela Superior Politécnica del Litoral.
- Lowry, O. H. et al. (1951). Protein measurement with the Folin Phenol Reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265-275.