



Facultad de
Ciencias Agrarias
y Forestales



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA



Laboratorio
de Investigación
en Productos
Agroindustriales

Caracterización y puesta a punto de protocolos de elaboración de un queso semiduro empleando cuajo de origen vegetal obtenido de flores de alcaucil (*Cynara scolymus*)

Joaquín Derdoy & Agustina Fernández

Directora: Dra. Magalí Darré

Co-director: Dr. Federico Pintos



OCTUBRE 2023

Caracterización y puesta a punto de protocolos de
elaboración de un queso semiduro empleando cuajo de
origen vegetal obtenido de flores de alcaucil
(*Cynara scolimus*)



El presente trabajo, para optar por el grado de Ingenieros Agrónomos de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata, fue desarrollado en el Laboratorio de Investigación en Productos Agroindustriales (LIPA), bajo la dirección de la Dra. Magalí Darré y la codirección del Dr. Federico Pintos.

Resumen	1
Capítulo 1: Introducción	2
1.1. Producción de quesos en Argentina	2
1.2. Elaboración de quesos	2
1.3. Cultivo de alcaucil	3
1.4. Uso de coagulantes vegetales en la elaboración de quesos	4
Capítulo 2: Objetivos e hipótesis	6
2.1. Objetivo general	6
2.2. Objetivos específicos	6
2.3. Hipótesis	6
Capítulo 3: Materiales & Métodos	7
3.1. Preparación de extracto enzimático de flores de alcaucil	7
3.2. Evaluación de la actividad coagulante	7
3.3. Evaluación de conservación de la enzima vegetal	7
3.4. Elaboración de queso semiduro	7
3.5. Determinaciones analíticas	8
3.5.1. <i>Análisis composicional de la leche</i>	8
3.5.2. <i>pH de los quesos</i>	8
3.5.3. <i>Humedad</i>	8
3.5.4. <i>Materia grasa</i>	9
3.5.5. <i>Proteína</i>	9
3.5.6. <i>Color</i>	9
3.5.7. <i>Análisis de perfil de textura (TPA)</i>	10
3.5.8. <i>Análisis sensorial</i>	12
3.6. Análisis estadístico	12
Capítulo 4: Resultados y discusión	14
4.1. Obtención y caracterización del extracto crudo	14
4.2. Análisis de la materia prima para la elaboración de quesos	19
4.3. Análisis composicional de quesos tipo “Pategrás”	20
4.4. Análisis sensorial de quesos tipo “Pategrás”	24
Capítulo 5: Conclusiones	26
Referencias bibliográficas	27

Figuras

- Figura 1: Cultivo de alcaucil.** a) Cultivo a campo de *Cynara scolymus*, b) y c) inflorescencia cerradas con exposición de las brácteas del alcaucil y d) inflorescencia de alcaucil abierta para cosechar.....4
- Figura 2: Esquema representativo del espacio de color CIELAB.** Se muestran los parámetros L, a* y b*.....9
- Figura 3: Esquema de una gráfica típica de Fuerza vs distancia.** Se observa el área bajo la curva o la adhesividad de un alimento para un ensayo de compresión uniaxial en dos ciclos sucesivos en un texturómetro..... 10
- Figura 4: Dureza.** Se muestra en el esquema de fuerza vs distancia marcado con un punto rojo el valor máximo de carga luego de un ciclo de compresión, valor que se corresponde con la definición matemática de dureza..... 11
- Figura 5: Elasticidad.** Esquema de una gráfica típica de fuerza vs distancia donde se observa la distancia (mm) o la elasticidad de un alimento para un ensayo de compresión uniaxial en dos ciclos sucesivos en un texturómetro..... 12
- Figura 6: Apariencia visual del extracto vegetal.** a) EC elaborado con flores de alcauciles desinfectadas. b) EC elaborado con flores de alcauciles sin desinfectar. ... 15
- Figura 7: Evolución del color en los EC de alcaucil almacenados a 20 °C a los 14 días de su obtención.** a) y b) Apariencia visual de los EC obtenidos con flores de alcauciles desinfectadas y sin desinfectar, respectivamente. c) Ángulo HUE de los respectivos extractos el día inicial, a los 7 y 14 días 16
- Figura 8: Evolución del color en los EC de alcaucil almacenados a 5 °C a los 21 días de su obtención.** a) y b) Apariencia visual de los EC obtenidos con flores de alcauciles desinfectadas y sin desinfectar, respectivamente. c) Ángulo HUE de los respectivos extractos.. 17
- Figura 9: Quesos elaborados.** a) y b) Vista lateral de los quesos obtenidos con extracto vegetal y enzima animal, respectivamente. c y d) Vista cenital de los quesos elaborados con extracto vegetal y enzima animal, respectivamente. Las fotos corresponden a un tiempo de maduración de 40 días..... 22
- Figura 10: Gráfico tipo tela de araña con información del análisis sensorial.** Se evaluaron los parámetros de color, textura, aroma, sabor y aceptabilidad general. 24

Tablas

Tabla 1: pH de los extractos de alcaucil en distintos tiempos de almacenamiento. Los resultados están expresados como la media $\pm$ el desvío estándar de cuadruplicados experimentales.	17
Tabla 2: Actividad coagulante de los extractos crudos (EC) en distintos tiempos de almacenamiento y condiciones de desinfección. Los resultados están expresados como la media $\pm$ el desvío estándar de triplicados experimentales.....	19
Tabla 3: Calidad composicional de la leche de vaca y de cabra empleada en las dos elaboraciones de queso de mediana humedad tipo Patagrás.	20
Tabla 4: Comparación de rendimiento, parámetros fisicoquímicos y texturales de los quesos elaborados con EC vegetal (queso vegetal) y con quimosina (queso animal).....	21

Resumen

El alcaucil (*Cynara scolymus* L.) constituye por tradición un cultivo de importancia en la República Argentina. La mayor concentración de la producción se encuentra en las localidades de Arana y Los Hornos, en el partido de La Plata. El queso se produce tradicionalmente mediante el uso de cuajo de ternera comercial o sustitutos del cuajo como enzimas de origen microbiano, proteasas recombinantes (quimosinas) sintetizadas por microorganismos genéticamente modificados y proteasas vegetales. En el presente trabajo se obtuvo y se caracterizó el extracto de flor de alcaucil con el objetivo de evaluar la potencial factibilidad de su uso como agente coagulante para obtener quesos con características diferenciales. El cuajo más comercializado y utilizado en nuestro país es la quimosina recombinante. Se elaboraron quesos de pasta semi-dura tipo “Pategrás” a partir de mezclas de leche bovina y ovina, empleando los dos tipos de coagulantes anteriormente mencionados. En una primera instancia se caracterizó el extracto floral en función de la desinfección de las flores, tipo y condición de almacenamiento. Los resultados indicaron que para que el extracto conserve su color violeta, el mismo pH y una baja turbidez, debe ser elaborado a partir de flores desinfectadas y conservado en refrigeración hasta por 21 días. Se realizó un queso a escala industrial donde se evaluaron las características físico-químicas más relevantes de los productos elaborados con extracto de *C. scolymus* o quimosina y se realizó también un panel sensorial con evaluadores no entrenados. El extracto vegetal coaguló la leche en un tiempo adecuado para su uso a escala industrial. El rendimiento de los quesos producidos a partir de los cuajos vegetal y comercial fue similar, con valores cercanos al 9%. Se observaron diferencias en los productos obtenidos según el tipo de coagulante utilizado en distintos parámetros tales como color, textura, pH y aspectos sensoriales como el sabor. Se observó una menor luminosidad y dureza y un pH mayor para los quesos elaborados con el extracto vegetal. En cuanto al sabor, fue ligeramente más aceptado el queso elaborado con la enzima animal. En conclusión, los resultados indican que el extracto de flor de alcaucil es adecuado para ser utilizado como agente coagulante en la elaboración de quesos de pasta semi-dura tipo “Pategrás” evaluado a escala de pequeñas industrias, constituyendo una alternativa sustentable en el proceso de elaboración de estos productos.

Capítulo 1: Introducción

1.1. Producción de quesos en Argentina

La cadena de la leche en Argentina representa uno de los complejos agroalimentarios de mayor relevancia y dinamismo en la economía nacional, no solo debido a su amplia distribución territorial sino también a su capacidad de generación de empleo (**Castellano et al., 2009**). La producción nacional durante el año 2020 alcanzó un total de 11.113 millones de litros de leche, de los cuales aproximadamente un 41,6 % fueron destinados a la producción de quesos. De ese porcentaje, un 16,9 % corresponde a quesos de pasta blanda, un 16,8 % a quesos de pasta semidura, un 6 % a quesos de pasta dura y un 1,9 % a quesos de pasta muy blanda (**OCLA, 2020**). El queso constituye un producto de relevancia en la dieta de los ciudadanos argentinos, siendo el consumo per cápita de alrededor de 12 kg/habitante/año (**OCLA, 2020**).

1.2. Elaboración de quesos

Según el Código Alimentario Argentino (**Decreto N° 111, 12.1.76 art. 605**), se entiende por queso al producto fresco o madurado que se obtiene por separación del suero de la leche o de la leche reconstituida entera, parcial o totalmente descremada, coagulada por acción del cuajo y/o enzimas específicas. Se puede complementar con bacterias específicas o ácidos orgánicos y agregar sustancias colorantes, especias o condimentos. De esta definición se desprende que es posible producir una amplia variedad de quesos en función del manejo de variables como la humedad, el contenido de grasa, el período de maduración, el tipo de coagulación, el tipo de corteza, el origen de la materia prima, los microorganismos empleados, entre otras.

El proceso general de elaboración de quesos consta de una serie de etapas, enumeradas y detalladas a continuación:

1) *Recepción y tratamiento de la leche*. Previo a la elaboración, la leche es filtrada y analizada. Se determinan su contenido de grasa y proteína, la acidez y la presencia de inhibidores que pudiera afectar la acidificación bacteriana. Posteriormente, se somete a un tratamiento de pasteurización a fin de eliminar posibles contaminaciones microbianas (patógenos) que pudieran haber existido durante el ordeño, transporte y conservación de la leche. El tratamiento térmico también destruye gran parte de la flora láctica de la leche e insolubiliza parte del calcio (**Veisseyre, 1988**).

2) *Agregado de fermento y de cloruro de calcio*. Culminada la pasteurización se enfría la leche hasta lograr una temperatura de 32-38 °C, momento en el que se agrega el

fermento. Los fermentos más comunes contienen bacterias lácticas específicas, que permiten la acidificación, la coagulación de la leche y el desuerado e inhiben además el desarrollo de otros microorganismos no deseados. El fermento a agregar dependerá del tipo de queso que se desea elaborar. El agregado de cloruro de calcio es imprescindible para lograr una buena coagulación de la leche. Normalmente se adicionan entre 20-40 g cada 100 litros de leche (**Alais, 1985**).

3) *Coagulación de la leche*. Se adiciona un volumen variable de coagulante dependiendo de la fuerza del mismo para que la coagulación ocurra en 30-40 minutos a una temperatura constante entre los 32-38 °C. Es importante distribuir el coagulante uniformemente en el volumen total de leche.

4) *Tratamientos de la cuajada*. Luego de la coagulación de la leche, se corta la cuajada utilizando liras. Se agita cuidando que no se rompa demasiado, pero procurando uniformidad en toda la masa, lo que facilita la expulsión del suero, o sinéresis. El corte, la agitación y el calentamiento aumentan esta última. Una vez lograda la consistencia deseada se deja descansar la cuajada. Finalmente, la misma es retirada en forma manual mediante el empleo de telas o por descarga automática en las tinas que así lo permitan.

5) *Moldeado, prensado y salado*. La masa se coloca en moldes de la forma deseada con perforaciones que permiten eliminar el excedente de suero. Inicialmente, los moldes se apilan invirtiéndose su posición al menos una vez. El prensado se realiza colocando los moldes en la prensa durante unas 12 horas, luego se dejan orear a temperatura ambiente antes de ingresar a la salmuera. Los objetivos perseguidos en este proceso son endurecer la masa, eliminar el suero sobrante, alcanzar el pH deseado (entre 5,2-5,4) y unir el grano. El salado se realiza normalmente por inmersión en salmuera con una concentración de 20-25 % de NaCl (en frío). El tiempo de permanencia en la salmuera depende de la temperatura del mismo, de la forma, del tamaño y del tipo de queso. Este proceso, más allá de contribuir al sabor del producto, regula el desarrollo de microorganismos y la acidificación de la cuajada.

6) *Maduración del queso*. Una vez finalizado el salado, los quesos se olean y son colocados en estanterías para su maduración. Durante este periodo se deben controlar las condiciones de la sala de maduración particularmente temperatura y humedad.

1.3. Cultivo de alcaucil

El alcaucil; *Cynara scolymus* L., también llamado alcachofa es una especie perteneciente a la familia de las Asteráceas. Constituye por tradición un cultivo de

importancia en la República Argentina. Su ingreso se produjo hace más de 60 años en la zona rioplatense y de allí fue distribuido hacia distintas regiones del país, siendo la ciudad de La Plata la zona de producción con mayor relevancia y productividad (**Figura 1a**). Actualmente hay alrededor de 2000 ha del cultivo, circunscrito casi exclusivamente a la zona platense para consumo en fresco y la región de Cuyo para destino industrial. La mayor concentración de producción se encuentra en las localidades de Arana y Los Hornos, en el partido de La Plata (**Granitto, 2016**).

La inflorescencia recibe el nombre de capítulo y consta de un receptáculo carnoso sobre el que se asientan brácteas imbricadas, siendo más anchas y gruesas las basales (**Figura 1d**). La parte inferior de las brácteas junto con el receptáculo y antes que se produzca la apertura de la inflorescencia, constituye la parte comestible de esta hortaliza (**Figuras 1b y 1c**).

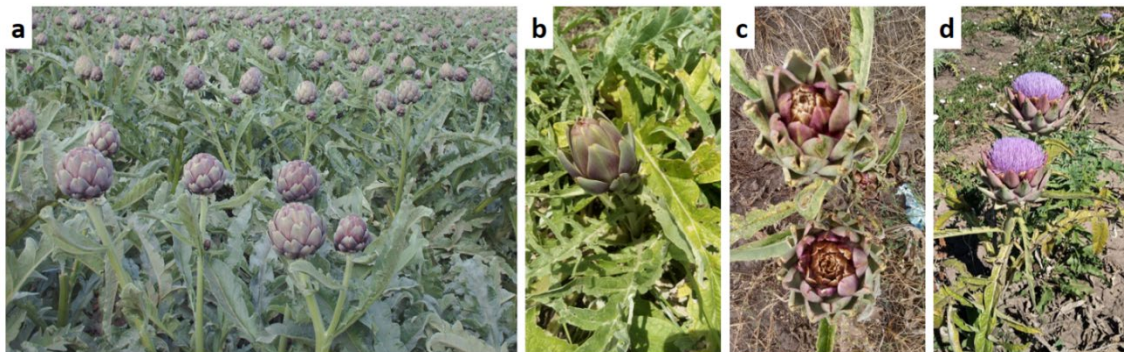


FIGURA 1 | Cultivo de alcaucil. a) Cultivo a campo de *Cynara scolymus*, **b) y c)** inflorescencia cerradas con exposición de las brácteas del alcaucil y **d)** inflorescencia de alcaucil abierta para cosechar.

El cultivo de alcaucil se ha desarrollado teniendo en cuenta diversas utilidades como el consumo de la hortaliza, el empleo del tallo para alimentos; las hojas que contienen numerosos compuestos químicos útiles en el campo de la salud; la producción de biodiesel; y finalmente es posible el uso de las flores en la fabricación de quesos.

1.4. Uso de coagulantes vegetales en la elaboración de quesos

El uso de coagulantes alternativos en la fabricación de quesos permite la obtención de productos con características diferenciales, distintas a las de los productos que habitualmente se encuentran en el mercado. Para la coagulación de la leche es posible emplear además de enzimas de origen animal y microbiano, enzimas de origen vegetal. Las enzimas de origen vegetal ofrecen una gran alternativa de “cuajo” no animal o de síntesis química para la elaboración de quesos. El interés por este tipo de coagulantes ha crecido debido a su fácil disponibilidad y su relativamente sencillo proceso de

purificación. Además, el uso de proteasas vegetales en la producción de queso promueve una mayor aceptabilidad por parte de los vegetarianos, algunos grupos religiosos y las personas con reticencia a consumir alimentos transgénicos (**Grozdanovic et al., 2013**). Las plantas producen proteasas, que pueden coagular la leche, presentes en distintos órganos como frutos, semillas, raíces, aunque principalmente se localizan en las hojas y flores (**García et al., 2014**). Los coagulantes vegetales más utilizados en la actualidad son los derivados de *Cynara Cardunculus* (cardo de castilla), una especie de la familia Asteraceae, que permiten la elaboración de quesos con características organolépticas diferentes ampliamente aceptadas por consumidores. La principal desventaja del uso de esta fuente de coagulantes radica en la variabilidad natural del extracto de la planta con respecto a la actividad enzimática, así como la escasez de flores que limitan el uso del extracto de flores silvestres (**Almeida y Simões 2018; Feijoo-siota y col., 2018**). La flor del alcaucil tiene la ventaja de ser una especie cultivada con menor variabilidad que las flores silvestres para la preparación de extractos. La producción de alcaucil en La Plata (Argentina) posee un signo de indicación geográfica (IG); este sello identifica y garantiza la calidad y reputación particular ligada al origen geográfico del producto haciendo de las flores cultivadas en esta zona un excelente material para la extracción de enzimas coagulantes (**Selhi, 2018**). Además, el uso de pequeñas inflorescencias que no alcanzan la calidad comercial del alcaucil podría representar un beneficio para los pequeños y medianos productores de la región. En general, los estudios realizados hasta la fecha han centrado su atención en conocer las características que las enzimas vegetales le otorgan a los quesos. En este contexto, resulta de interés conocer las mejores condiciones de obtención y almacenamiento para los distintos tipos de coagulantes para ser utilizados tecnológicamente de forma adecuada. Del mismo modo deben conocerse las características más relevantes con relación a su capacidad coagulante ya que estas pueden diferir notablemente de las del coagulante convencional (quimosina). En este sentido, el presente trabajo final de carrera busca aportar información valiosa sobre la obtención y usos de este tipo de coagulantes de origen vegetal en la elaboración de quesos de pasta semidura tipo “*Pategrás*”.

Capítulo 2: Objetivos e hipótesis

2.1. Objetivo general

El objetivo general de este trabajo fue optimizar la extracción de coagulante vegetal a partir de flores de alcaucil y evaluar las características físico-químicas más relevantes de quesos de pasta semi-dura elaborados con este agente coagulante.

2.2. Objetivos específicos

Los objetivos específicos que contribuyen al objetivo general son:

- a) Optimizar un protocolo de extracción de coagulante vegetal a partir de flores de alcauciles (*Cynara scolymus*) cv Romanesco provenientes del Cinturón Hortícola Platense.
- b) Caracterizar el coagulante obtenido y proponer un protocolo de utilización, conservación y almacenamiento del mismo.
- c) Elaborar y evaluar las características físico-químicas más relevantes de quesos de pasta semidura producidos a partir de este agente coagulante y compararlo con uno elaborado a partir de quimosina recombinante.
- d) Analizar las propiedades sensoriales de los quesos obtenidos con un panel de evaluadores no entrenados.

2.3. Hipótesis

En base a los antecedentes anteriormente descritos se plantea la siguiente hipótesis de trabajo:

- ✓ La desinfección de las flores con hipoclorito de sodio permitirá obtener un extracto de mejor calidad y más seguro.
- ✓ La elaboración de quesos utilizando enzimas de origen vegetal, permitirá obtener un producto de buena calidad, con propiedades organolépticas diferenciales y con buena aceptabilidad por parte de los consumidores

Capítulo 3: Materiales y Métodos

3.1. Preparación de extracto enzimático de flores de alcaucil

Se cosecharon 60 inflorescencias de *C. scolymus* producidas en una finca del cinturón hortícola platense y se dividieron en dos lotes: a) sin desinfectar y b) desinfectadas por inmersión con una solución de 200 ppm de hipoclorito de sodio durante 3 minutos. Posteriormente se trituraron utilizando nitrógeno líquido y una trituradora hasta obtener un polvo fino. Los dos lotes se homogeneizaron en buffer cítrico-citrato 25 mM (pH 3,0) en una relación 1 g de polvo por cada 3 ml de disolvente. Se agitaron durante 30 minutos, se procedió a filtrar el extracto obtenido con gasa y finalmente se centrifugó durante 15 minutos a 3500 rpm (Giumeli Z19DF). El sobrenadante obtenido se denominó extracto crudo (EC).

3.2. Evaluación de la actividad coagulante

La actividad coagulante del extracto sobre la leche se determinó de manera empírica. El ensayo consistió en adicionar 3 ml del EC desinfectado o de la correspondiente dilución de la proteasa comercial (quimosina Chy-Max®) en 10 ml de leche descremada en polvo reconstituida al 12,5 % de sólidos totales con el agregado de CaCl_2 30 mM a 37 °C. La actividad coagulante se definió como el tiempo en minutos en el cual una pequeña varilla plástica de 3 cm de largo queda suspendida en el coágulo de forma vertical. Se realizaron triplicados para cada condición.

3.3. Evaluación de conservación de la enzima vegetal

Los extractos coagulantes se almacenaron a diferentes temperaturas, en heladera (5 °C) y a temperatura ambiente (18 - 20 °C). La actividad residual se midió según el tiempo de conservación en función de las condiciones estándar de medida de la actividad coagulante (Nouani et al., 2009). Se realizaron las medidas de pH, actividad y color del extracto vegetal a los 5, 8, 14 y 21 días luego de su elaboración en las distintas condiciones de almacenamiento.

3.4. Elaboración de queso semiduro

El queso se realizó en ollas de acero inoxidable de 60 L de capacidad en las instalaciones del Curso de Agroindustrias de la FCAyF. La elaboración se realizó a partir de una mezcla de leche cabra y vaca que es la que habitualmente se utiliza en los protocolos de elaboración del queso semiduro en la mencionada cátedra. Se trabajó con 40 litros de una mezcla de partes iguales de leche de vaca y leche de cabra a los que

se les realizó una pasteurización (72 °C por 15 segundos). Una vez cumplido este proceso se enfrió rápidamente hasta 35 °C. Luego se agregó cloruro de calcio en una dosis de 0,25 g/l y se realizó una incorporación de un cultivo iniciador de bacterias lácticas mesófilas RSF-742 (CHR Hansen), para uso directo en tina. Posteriormente la leche se dividió en dos lotes y se llevó adelante la etapa de coagulación mediante el agregado de quimosina (1 ml/l) a una parte y a la parte restante se le agregó el EC de la enzima vegetal (10 ml/l). Los dos grupos se trabajaron como se describe a continuación. Se agitó durante la adición de los distintos coagulantes evitando que se formen burbujas. Inmediatamente después se detuvo el movimiento y se esperó por 20 minutos hasta que se formó el gel. Posteriormente se procedió a cortar la cuajada con una lira en dados de 1,5-2 cm de lado. Se dejó reposar 10 minutos agitando cada 2-3 minutos. Luego la masa se colocó en moldes de 800 g y se dejó escurrir. Los moldes se apilaron e invirtieron frecuentemente para darle forma a los quesos y luego se colocaron en la prensa. Se cambiaron de posición en las pilas con frecuencia para que eliminen suero de manera homogénea y después se desmoldaron. Los quesos se colocaron en salmuera (25 % p/p NaCl) a 5 °C a razón de 1 h/kg de queso. Finalmente se colocaron en sala de maduración por 40 días a una temperatura de 18 ± 2 °C. Se realizaron dos elaboraciones independientes para cada tratamiento. Sobre el producto terminado, se realizaron las determinaciones físico-químicas que se detallan a continuación.

3.5. Determinaciones analíticas

3.5.1. *Análisis composicional de la leche*

Se determinó la calidad composicional a partir de un analizador de leche por ultrasonido portátil (Milko Tester, modelo Master Eco origen Bulgaria). El mismo arroja los valores de grasa (%), lactosa (%), proteína (%), sales (%), sólidos no grasos (%), densidad (°Quevenne) y punto crioscópico (°C) de la materia prima.

3.5.2. *pH de los quesos*

Se midió utilizando un peachímetro equipado con sonda para medir sólidos. Se realizaron 3 determinaciones por tratamiento (enzima animal vs enzima vegetal) y elaboración.

3.5.3. *Humedad*

Se pesaron aproximadamente 3 g de muestra en una cápsula conteniendo arena calcinada y una varilla de vidrio previamente taradas. Las muestras se extendieron con ayuda de la varilla formando una pasta con la arena a fin de impedir la formación de

costras durante el secado. Se llevó la cápsula a estufa a 105 ± 2 °C hasta peso constante (AOAC, 1980). Los resultados se expresaron como porcentaje de humedad. Se realizaron 3 determinaciones por tratamiento y elaboración.

3.5.4. *Materia grasa*

Se pesaron 2,5 g de muestra en un butirómetro “Gerber” para quesos y se añadió ácido sulfúrico ($\delta= 1,525$) hasta cubrir la muestra. El butirómetro se agitó hasta la disgregación de la muestra. Posteriormente se agregó 1 ml de alcohol amílico. Las muestras se llevaron a baño de agua a 65 °C por 5 minutos. Luego se centrifugaron por 5 minutos, se colocaron nuevamente 5 minutos en un baño de agua a 65 °C y se realizó la lectura en la escala graduada del butirómetro. Se realizaron 3 determinaciones por tratamiento y elaboración.

3.5.5. *Proteína*

El contenido de proteína de las muestras se determinó por el método de Kjeldahl (AOAC, 1980). Se realizaron 3 determinaciones por tratamiento y elaboración.

3.5.6. *Color*

Se determinó el color superficial de los quesos utilizando un colorímetro Minolta CR-400 (Konica Minolta, Sakura-machi, Hnoshi, Tokyo, Japan). Se evaluaron los parámetros de la Commission Internationale de l'Eclairage (CIE): L^* , a^* y b^* (CIELAB). Este modelo cromático se utiliza para describir los colores que puede percibir el ojo humano. Las siglas Lab se refieren al espacio de color tridimensional, donde L^* es la luminosidad y toma valores de 0 = negro a 100 = blanco, a^* va de rojo a verde y b^* la coordenada amarillo-azul (Figura 2).

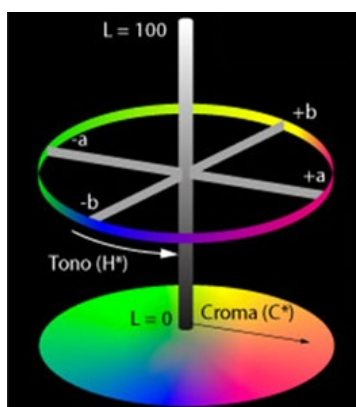


FIGURA 2 | Esquema representativo del espacio de color CIELAB. Se muestran los parámetros L^* , a^* y b^* .

Los parámetros Chroma (saturación) y ángulo de tono (Hue) también se utilizan para describir color. El primero de ellos toma valores de 0 a 100 y el segundo de 0 a 360°. Se realizaron 10 determinaciones para cada tratamiento y elaboración.

3.5.7. Análisis de perfil de textura (TPA).

Se utilizó un equipo CT3 Texture Analyzer (Brookfield Ametek, Middleboro, MA, USA).

Se cortaron con un calador cilindros de queso de una altura de 20 mm y diámetro 25 mm y se dejaron a temperatura equilibrada de 20 °C. Las muestras se comprimieron en un 80 % de su altura inicial utilizando una sonda de 35 mm de diámetro y una velocidad de 50 mm/minuto. El ensayo de compresión uniaxial se realizó en dos ciclos sucesivos, y se calcularon los parámetros de adhesividad, dureza, cohesividad, masticabilidad y elasticidad. Se analizaron seis muestras para cada tratamiento y elaboración. A continuación, se describen los parámetros analizados.

Adhesividad

- *Definición sensorial:* se entiende por definición al trabajo necesario para arrancar el alimento de la superficie de los otros materiales como la lengua, los dientes y el paladar.
- *Definición matemática:* Área debajo de la curva Carga vs Distancia, tomada desde donde el ciclo 1 primero alcanza una carga cero hasta donde termina (**Figura 3**).

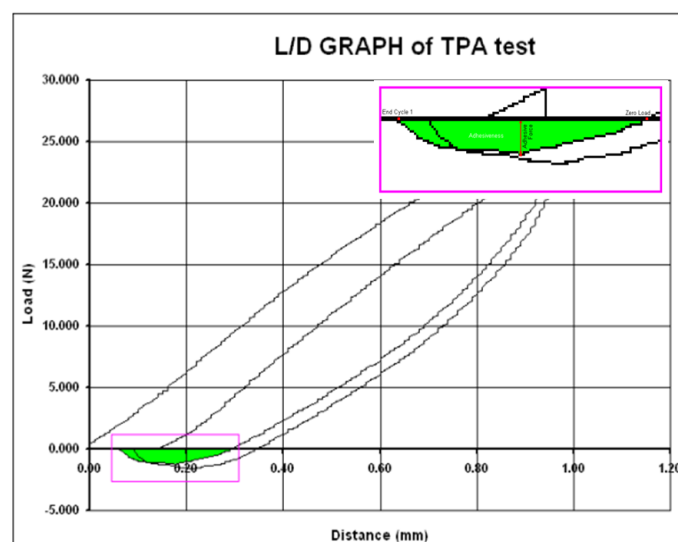


FIGURA 3 | Esquema de una gráfica típica de fuerza vs distancia. Se observa el área bajo la curva o la adhesividad de un alimento para un ensayo de compresión uniaxial en dos ciclos sucesivos en un texturómetro.

Dureza

- *Definición sensorial:* Máxima fuerza requerida para comprimir un alimento entre las muelas.

- *Definición matemática:* Valor máximo de carga del ciclo 1 de compresión (**Figura 4**).

Cohesividad

- *Definición sensorial:* Indica la fuerza de los enlaces internos que constituyen el cuerpo del alimento.

- *Definición matemática:*

$$\text{Cohesividad} = \frac{\text{Trabajo dureza terminado ciclo 2}}{\text{Trabajo dureza terminado ciclo 1}}$$

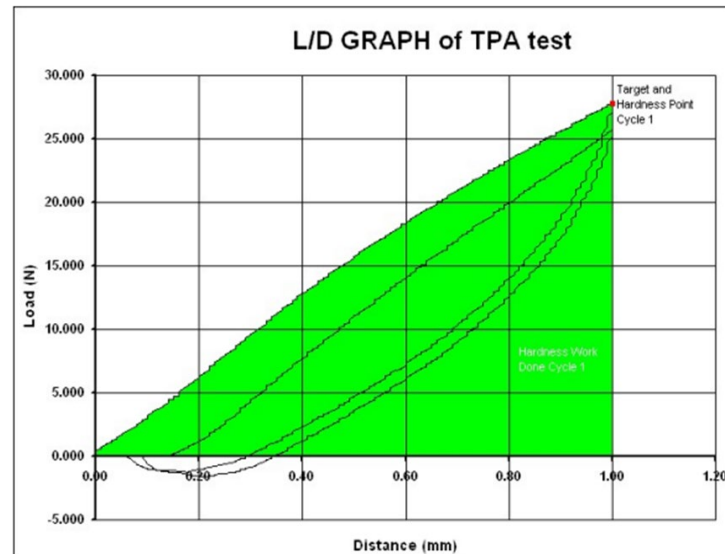


FIGURA 4 | Dureza. Se muestra en el esquema de fuerza vs distancia marcado con un punto rojo el valor máximo de carga luego de un ciclo de compresión, valor que se corresponde con la definición matemática de dureza.

Masticabilidad

- *Definición sensorial:* Indica la energía requerida para masticar un alimento sólido hasta el punto de poder ingerirlo.

- *Definición matemática:* Dureza* cohesividad* elasticidad.

Elasticidad

- *Definición sensorial:* Altura que recupera el alimento entre la primera y la segunda mordedura. *Definición matemática:* Distancia desde la deformación objetivo del ciclo 1 hasta el punto de inicio (trigger point) del ciclo 2. En la **Figura 5** se observa la distancia en mm, con una línea roja.

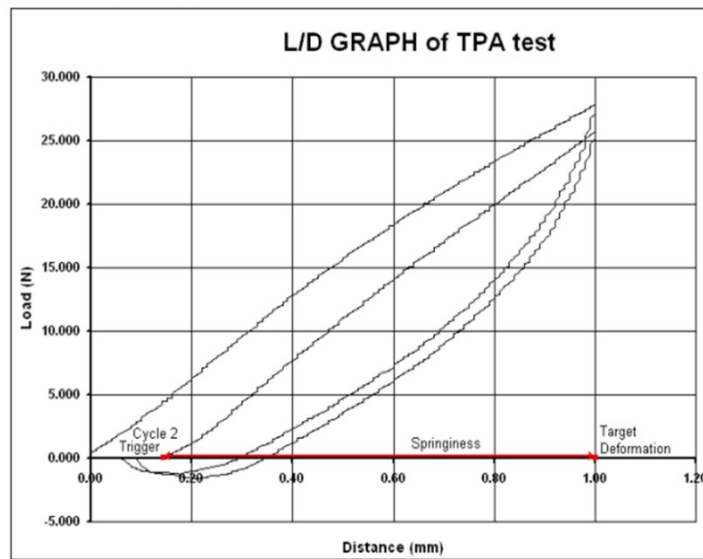


FIGURA 5 | Elasticidad. Esquema de una gráfica típica de fuerza vs distancia donde se observa la distancia (mm) o la elasticidad de un alimento para un ensayo de compresión uniaxial en dos ciclos sucesivos en un texturómetro.

3.5.8. Análisis sensorial

La calidad sensorial de los quesos se analizó mediante un ensayo con escala hedónica de 0-9 puntos evaluando los siguientes descriptores: color, sabor, textura y aceptabilidad general. El panel sensorial se conformó con 60 consumidores no entrenados para cada elaboración, los cuales fueron convocados espontáneamente el mismo día del panel. Para llevar adelante el panel se respetó el protocolo de seguridad e higiene de la FCAyF y se trabajó en grupos de 10 personas por turno.

3.6. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se analizaron por medio de ANOVA y las medias se compararon por medio del test LSD de Fisher con un nivel de significación de 0,05. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software InfoStat (**Di Rienzo et al., 2018**). En el caso del análisis sensorial para el cual se utilizó una escala hedónica las diferencias significativas se discernieron utilizando el estadístico t de Student. Se calculó la “t” experimental utilizando las siguientes fórmulas:

$$\bar{d} = \frac{\sum d_i}{N} = \quad Sd. = \sqrt{\frac{\sum (d_i - \bar{d})^2}{N - 1}} = \quad t_{\text{exp}} = \frac{\bar{d}}{Sd. / \sqrt{N}} =$$

d= Son las diferencias entre los puntajes asignados a cada parámetro (aroma, sabor, etc) por cada consumidor entre el grupo de quesos elaborado con una y otra enzima.

$\bar{d}$ = Media de las diferencias.

N= 60.

Sd= desviación estándar.

t_{exp} = distribución de t Student experimental

Para calcular t teórico se utilizó la tabla de distribución de t de Student para un ensayo de dos colas; ya que *a priori* en este tipo de ensayos no se conocen las diferencias (si el producto gusta o no).

La prueba t-Student se basa en dos supuestos: i) distribución de normalidad, y ii) independencia entre las muestras. Permite comparar muestras con $N \leq 30$, permitiendo establecer la diferencia entre medias. La hipótesis nula establece que no hay diferencias en la media de las dos muestras independientes y que, de existir esta diferencia, sólo se debe al azar. La hipótesis alternativa, por el contrario, establece que hay diferencias entre las medias de las muestras (**Sánchez Turcio, 2015**).

Capítulo 4: Resultados y discusión

4.1. Obtención y caracterización del extracto crudo

Las enzimas coagulantes de la leche son los principales agentes activos en la fabricación de quesos. El cuajo de ternera fue la primera preparación de enzimas coagulantes de la leche (**Chazarra et al., 2007**). Sin embargo, los coagulantes vegetales han sido un tema de creciente interés en la industria láctea. Numerosos géneros de plantas se han estudiado como posibles coagulantes, pero muy pocos han sido adecuados para la elaboración de quesos comerciales (**Roseiro et al., 2003; García et al., 2015**). Los sustitutos del cuajo animal o enzimas que se utilizan actualmente en la producción de queso, son las endopeptidasas aspárticas (AP) de origen microbiano y vegetal, cuyas propiedades proteolíticas no son exactamente iguales a las de la quimosina (**Almeida et al., 2017**). Dentro de las opciones vegetales, el género *Cynara* sp. es de los más estudiados dado que los extractos de sus flores permiten obtener quesos de calidad sin una excesiva actividad proteolítica que afecte al rendimiento de los quesos o genere sabores amargos (**Jacob et al., 2011; Colombo et al., 2021**). En este trabajo, una vez obtenido el extracto vegetal, tal como se describió en la sección 4.1 del capítulo Materiales y Métodos, se realizó una caracterización del uso de la enzima vegetal partiendo de inflorescencias desinfectadas con 200 ppm de hipoclorito de sodio y sin desinfectar evaluando color, pH y visualizando el estado de conservación de los extractos obtenidos. El extracto de flores de alcaucil sin desinfectar se observó visualmente con un tono de color más oscuro y una mayor turbidez que el extracto obtenido a partir de flores desinfectadas. Esto es coincidente con la medida de color donde se observaron diferencias estadísticas el día inicial en la medida de color del ángulo Hue (**Figura 6**). Las flores desinfectadas presentaron un valor inferior a 320° de ángulo Hue, mientras que aquellas que no fueron sometidas a un tratamiento de desinfección tuvieron un ángulo mayor de 340°.

Los extractos crudos de flores tienden a oscurecerse por exceso de oxidación y esto constituye un gran inconveniente para su uso en la tecnología del queso (**Nouani et al., 2009**). Esta menor coloración en los extractos de flores desinfectadas es un aspecto positivo para la elaboración del queso, dado que, cuanto menos color tenga el extracto obtenido menos se verá modificado el color en la leche y posteriormente en el queso obtenido.

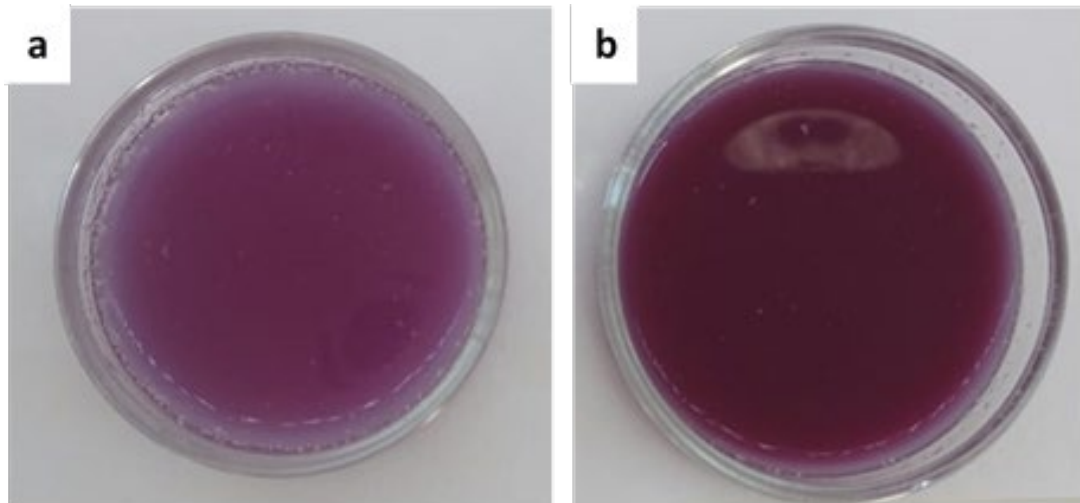


FIGURA 6 | Apariencia visual del extracto vegetal. a) EC elaborado con flores de alcauciles desinfectadas. **b)** EC elaborado con flores de alcauciles sin desinfectar.

Para obtener información acerca de la mejor forma de conservación de este extracto vegetal se realizó un almacenamiento del producto a 2 temperaturas diferentes: temperatura ambiente y refrigeración (5 °C). Aunque no se realizó un análisis microbiológico, se observó que los extractos que se dejaron a temperatura ambiente presentaron desarrollo de hongos (micelio visible), turbidez y viscosidad luego de 14 días de su elaboración y por esta razón en ese tiempo concluyó el muestreo para ese tratamiento (**Figura 7**).

Por el contrario, en los extractos almacenados en heladera no se observó micelio hasta los 21 días posteriores a su extracción (**Figura 8**). En todos los casos se observó que, al aumentar el tiempo de almacenamiento, el valor de Hue aumentó. Esto indica que el extracto viró desde el violeta hacia los rojos más intensos (mayor ángulo Hue) con valores cercanos a los 360°, siendo mayor el ángulo de tono en el caso del extracto obtenido a partir de flores sin desinfectar, lo que podría atribuirse a la acción de la lavandina como agente despigmentante. Algunos autores informaron que en lechuga “Iceberg” luego de aplicar una desinfección con cloro a 120 ppm por un minuto, se produjo una disminución de la luminosidad y se registraron valores más altos del parámetro a^* (región rojiza), atribuyendo el efecto al pardeamiento enzimático (**Martin-Daiana et al., 2007**). Este fenómeno no debería ser descartado en el extracto vegetal. El efecto de la lavandina también quedó evidenciado en una menor turbidez del extracto desinfectado respecto al sin desinfectar. Si bien no se realizó un análisis microbiológico de los extractos, se observó que a temperatura ambiente el día 14 había desarrollo de micelio dentro de los tubos donde se conservó el producto; mientras que en refrigeración

recién el día 21 se observó presencia de micelio. A los extractos vegetales almacenados se les hizo un seguimiento de pH. Se observó que a las 2 temperaturas analizadas el extracto de flores sin desinfectar presentó el pH más alto (**Tabla 1**).

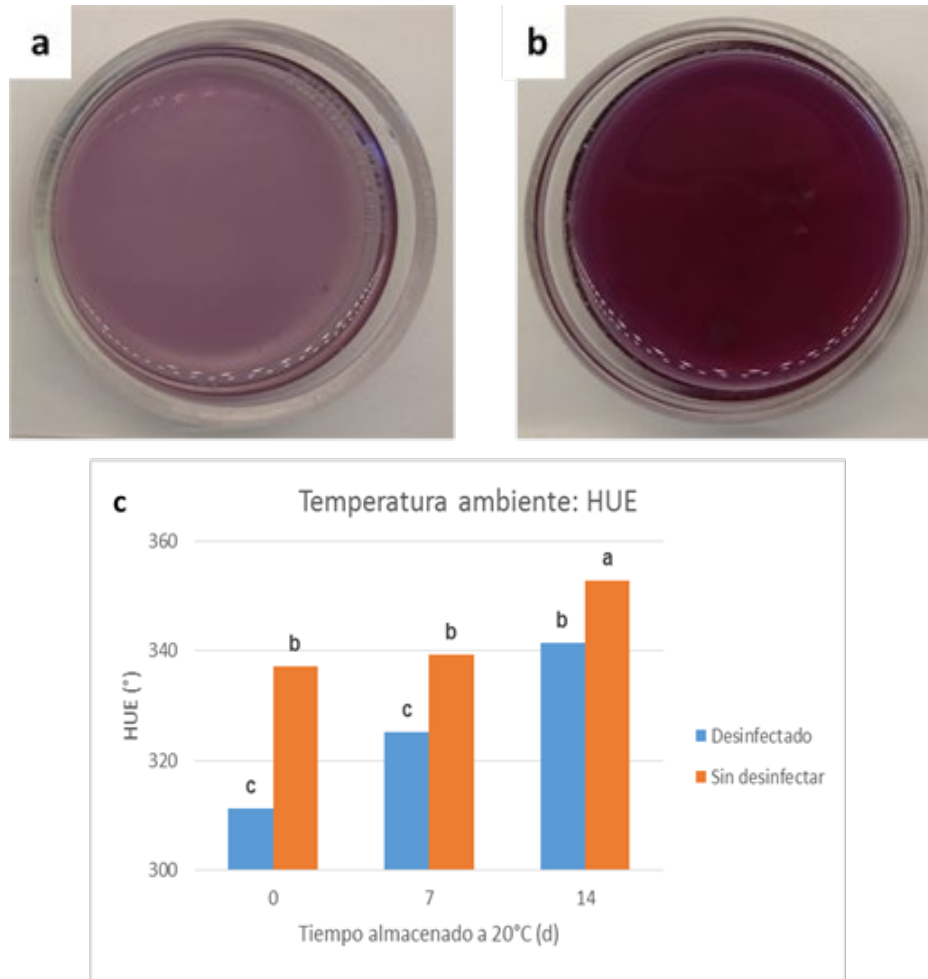


FIGURA 7 | Evolución del color en los EC de alcaucil almacenados a 20 °C a los 14 días de su obtención. a) y b) Apariencia visual de los EC obtenidos con flores de alcauciles desinfectadas y sin desinfectar, respectivamente. **c)** Ángulo HUE de los respectivos extractos el día inicial, a los 7 y 14 días. Letras distintas indican diferencias significativas según el test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $p < 0,05$.

A temperatura ambiente, el pH del extracto de flores sin desinfectar fue de alrededor de 4,8 mientras que el pH del extracto de flores desinfectadas fue estadísticamente diferente y menor, rondando valores de 4,3. Estas diferencias se mantuvieron en ambos extractos almacenados en refrigeración durante los 21 días (**Tabla 1**).

En resumen, en base a los resultados obtenidos podría decirse que el extracto vegetal de alcaucil debería ser conservado en refrigeración por hasta 21 días si la extracción fue realizada a partir de flores desinfectadas. En esas condiciones, se conserva el color violeta, una baja turbidez y el pH se mantiene como al momento de la extracción.

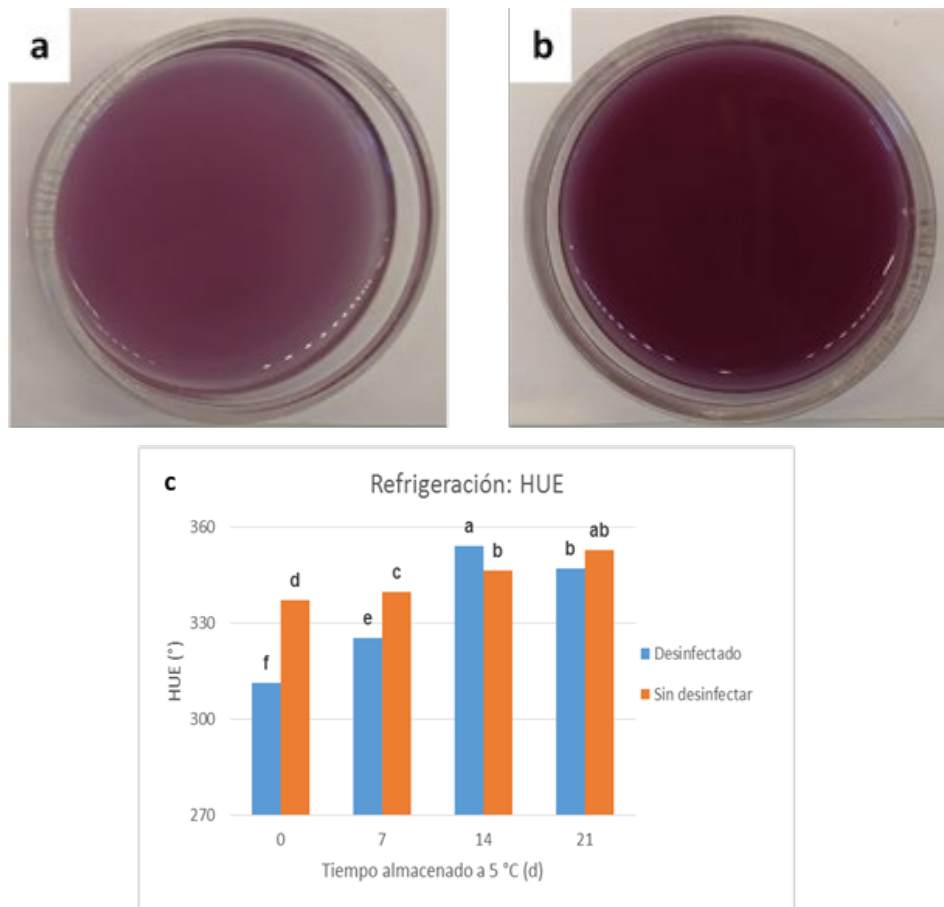


FIGURA 8 | Evolución del color en los EC de alcaucil almacenados a 5 °C a los 21 días de su obtención. a) y b) Apariencia visual de los EC obtenidos con flores de alcauciles desinfectadas y sin desinfectar, respectivamente. c) Ángulo HUE de los respectivos extractos. Letras distintas indican diferencias significativas según el test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $p > 0,05$.

Además, no se observa crecimiento microbiano hasta los 21 días de almacenamiento a 5 °C.

TABLA 1 | pH de los extractos de alcaucil en distintos tiempos de almacenamiento. Los resultados están expresados como la media $\pm$ el desvío estándar de cuadruplicados experimentales. Tratamientos seguidos de una misma letra no difieren significativamente ($p \geq 0,05$) según el test LSD de Fisher. nd: no determinado.

Tiempo (días)	EC temperatura ambiente		EC refrigerado	
	Desinfectado	Sin desinfectar	Desinfectado	Sin desinfectar
0	4,32 $\pm$ 0,05 ^a	4,85 $\pm$ 0,05 ^b	4,32 $\pm$ 0,05 ^a	4,85 $\pm$ 0,05 ^b
5	4,38 $\pm$ 0,01 ^a	5,085 $\pm$ 0,005 ^b	4,40 $\pm$ 0,01 ^c	4,83 $\pm$ 0,02 ^d
8	4,51 $\pm$ 0,01 ^a	5,25 $\pm$ 0,01 ^b	4,47 $\pm$ 0,03 ^c	4,87 $\pm$ 0,01 ^d
14	4,36 $\pm$ 0,04 ^a	5,05 $\pm$ 0,07 ^b	4,39 $\pm$ 0,02 ^a	4,78 $\pm$ 0,03 ^b
21	nd	nd	4,34 $\pm$ 0,01 ^a	4,73 $\pm$ 0,01 ^b

Teniendo en cuenta estos resultados, para cumplir con los objetivos restantes se continuó utilizando este extracto para realizar las elaboraciones de quesos. Como la materia prima utilizada para los extractos es una inflorescencia que se cosechó directamente del campo y se utilizó para elaborar un alimento, es necesario que se encuentre desinfectada para poder desarrollar un protocolo a fin de lograr un producto inocuo y seguro para el consumo humano.

La medición de las actividades coagulantes de los extractos enzimáticos constituye un aspecto importante de la tecnología del queso. La actividad de coagulación de los extractos de plantas del género *Cynara* sp. ha sido bastante estudiada especialmente en *Cynara cardunculus*. Esta propiedad se relaciona con la presencia de diferentes proteasas aspárticas, que hidrolizan el enlace Phe105-Met106 de la κ -caseína. Estas proteasas aspárticas se denominan cardosina A y cardosina B (**Roseiro et al. 2003**). **Sidrach et al. (2005)** encontraron que las proteasas presentes en los extractos de flores de alcaucil son capaces de romper los enlaces kappa-caseína, lo que explica la capacidad de coagular la leche de los extractos de flores de alcaucil que podrían ser utilizados en la elaboración de queso industrial, tal y como demostraron **Llorente et al. (2014)**, quienes concluyeron que el extracto de flores de *C. scolymus* L., además de coagular la leche, era apto para la elaboración de queso tipo “Gouda”. Es importante aclarar que un adecuado extracto vegetal para la elaboración de quesos se caracteriza por una actividad hidrolítica específica alta y una actividad proteolítica general baja (**Uniacke-Lowe & Fox 2017**).

Para caracterizar la utilidad de este tipo de extractos vegetales en la elaboración de quesos, se realizó un seguimiento de su actividad coagulante. En la **Tabla 2** se puede observar que en el día de extracción (día 0), la actividad coagulante fue mayor en el extracto de flores desinfectado. Luego, el comportamiento cambió y en los dos casos los extractos de flores sin desinfectar presentaron mayor actividad coagulante estabilizándose en un tiempo de 120 segundos a partir del día 14.

Esta determinación de actividad coagulante de forma empírica, si bien no es el método oficial, permitió tener una aproximación acerca del comportamiento de los extractos vegetales elaborados a partir de inflorescencias de alcaucil. El único método internacionalmente aceptado es el método Berridge (**IDF 2007**). Además, se han desarrollado métodos similares para enzimas microbianas y otros coagulantes (**Tabayehnejad et al. 2012**). Algunos de estos métodos tienen la gran desventaja de que interrumpen el proceso de coagulación y no son adecuados para aplicaciones en

línea (Castillo et al. 2000). Actualmente, se utilizan varios métodos continuos y no destructivos para este fin, muchos de los cuales se basan en propiedades ópticas como la refracción, la reflexión, la absorbancia o la dispersión.

TABLA 2 | Actividad coagulante de los extractos crudos (EC) en distintos tiempos de almacenamiento y condiciones de desinfección. Los resultados están expresados como la media $\pm$ el desvío estándar de triplicados experimentales. Tratamientos seguidos de una misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$) según el test LSD de Fisher. nd: no determinado.

Tiempo de almacenamiento (días)	Actividad coagulante (s)			
	EC temperatura ambiente		EC refrigerado	
	Desinfectado	Sin desinfectar	Desinfectado	Sin desinfectar
0	120 $\pm$ 0,0 ^a	80 $\pm$ 0,0 ^b	120 $\pm$ 0,0 ^a	80 $\pm$ 0,0 ^b
5	110 $\pm$ 17,3 ^a	126,7 $\pm$ 5,8 ^b	120 $\pm$ 0,0 ^a	129,33 $\pm$ 10,06 ^b
8	120 $\pm$ 0,0 ^a	138,3 $\pm$ 2,8 ^b	120 $\pm$ 0,0 ^a	138,3 $\pm$ 10,4 ^b
14	135 $\pm$ 5,0 ^a	150 $\pm$ 0,0 ^b	120 $\pm$ 0,0 ^a	120 $\pm$ 0,0 ^b
21	nd	nd	120 $\pm$ 0,0 ^a	120 $\pm$ 0,0 ^b

4.2. Análisis de la materia prima para la elaboración de quesos

Las dos elaboraciones de quesos se realizaron a partir de una mezcla en partes iguales de leche de vaca y leche de cabra. La leche de vaca provino del tambo “6 de agosto” y la leche de cabra fue aportada por el tambo del Curso de Introducción a la Producción Animal. A partir de un equipo con sensor infrarrojo (milko-tester) se analizó la calidad composicional de la leche de cabra, de vaca y de la mezcla (1:1) utilizada para las dos elaboraciones de quesos a partir de quimosina y de extracto vegetal de inflorescencias de alcauciles. La **tabla 3** muestra los resultados obtenidos.

Los parámetros composicionales de las muestras de leche no presentaron grandes variaciones con respecto a una leche normal estándar. Como se observa en la **Tabla 3**, en la primera elaboración la leche de vaca presentó un punto menos de grasa porcentual respecto a la segunda elaboración. Esta diferencia no es determinante en este tipo de elaboración y podría deberse a que este es el componente de la leche de mayor variación por diferentes factores tales como la alimentación, época del año, etc. En consecuencia, puede afirmarse que se partió de leche de buena calidad y de composición normal para una leche de vaca para la posterior elaboración de quesos.

TABLA 3 | Calidad composicional de la leche de vaca y de cabra empleada en las dos elaboraciones de queso de mediana humedad tipo Patagrás.

Parámetro medido	Primer elaboración			Segunda elaboración		
	Vaca	Cabra	Mezcla	Vaca	Cabra	Mezcla
Temperatura (°C)	18,2	15,3	23,9	19	12	15,9
Grasa (%)	2,2	3,4	2,8	3,4	3,2	3,4
Proteína (%)	3,5	3,3	3,4	3,4	3,2	3,3
Lactosa (%)	5,3	4,9	5,1	5,1	4,9	4,9
Sales (%)	0,8	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
Punto crioscópico (°C)	-0,621	-0,577	-0,596	-0,596	-0,568	-0,578
Sólidos no grasos (%)	9,7	9	9,3	9,3	8,9	9
Densidad (kg/m³)	1,0342	1,0306	1,0322	1,0316	1,0303	1,0307
Acidez (°D)	16	17	17,5	14,5	18	17

4.3. Análisis composicional de quesos tipo “Pategrás”

Se realizaron dos elaboraciones independientes de quesos tipo “Pategrás”, en cada elaboración se utilizó a su vez dos tipos de enzimas para coagular la leche; i-cuajo comercial y ii-enzimas de un extracto vegetal obtenida a partir de flores de alcaucil. Las elaboraciones se realizaron simultáneamente en la sala de elaboración del Curso de Agroindustrias (FCAyF, UNLP) utilizando el mismo equipamiento y reactivos, por lo que las diferencias observadas se atribuyen principalmente a la acción del coagulante utilizado. Los quesos semi-duros obtenidos con ambos coagulantes se maduraron por 40 días. Tanto el extracto vegetal como el cuajo comercial (quimosina) pudieron coagular la leche en 30 min a 35 °C, tiempo adecuado para su utilización a escala industrial. La cuajada fue firme y elástica en todos los casos y el suero producido fue claro y traslúcido, lo que indica una alta eficiencia de las enzimas en la coagulación de las caseínas. El rendimiento obtenido al final del periodo de maduración en los quesos elaborados con el extracto vegetal fue un 4% menor respecto al obtenido con la enzima animal (**Tabla 4**) y fue el esperable para un queso de este contenido de humedad. Estos resultados coinciden con los obtenidos por **Llorente et al. (2014)** para otro tipo de queso similar de mediana humedad como es el Gouda.

En cuanto a la apariencia, ambos tipos de quesos, con sus características particulares de forma y estructura, se presentaron bien logrados y aptos para el consumo y/o comercialización luego de 40 días de maduración (**Figura 9**). Se observó que el queso obtenido con extracto vegetal tendió a perder la forma cilíndrica y rígida; tomando una

apariencia “más fluida”; punto que será específicamente desarrollado cuando se discutan los parámetros de textura.

TABLA 4 | Comparación de rendimiento, parámetros fisicoquímicos y texturales de los quesos elaborados con EC vegetal (queso vegetal) y con quimosina (queso animal). Tratamientos seguidos de una misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$) según el test LSD de Fisher.

Parámetro		Queso vegetal	Queso animal
Proteína (%)		18,84 ± 0 ^a	18,53 ± 0,41 ^a
Materia grasa (%)		22 ± 0 ^a	20,5 ± 0,7 ^b
Humedad (%)		38,873 ± 0,55 ^a	39,56 ± 1,13 ^a
Rendimiento (kg / 100 L de leche)		8,875 ± 1,237 ^a	9,25 ± 1,06 ^a
pH		5,26 ± 0,37 ^a	5,05 ± 0,021 ^b
Color	L	80,65 ± 3,23 ^a	88,90 ± 0,51 ^b
	a*	-4,89 ± 0,26 ^a	-4,28 ± 0,15 ^b
	b*	37,46 ± 0,89 ^a	36,90 ± 0,75 ^a
Textura	Dureza (N)	7,028 ± 0,781 ^a	29,068 ± 2,263 ^b
	Adhesividad (mJ)	0,217 ± 0,117 ^a	0,133 ± 0,103 ^a
	Cohesividad	0,628 ± 0,010 ^a	0,648 ± 0,013 ^b
	Masticabilidad (mJ)	16,583 ± 2,072 ^a	78,683 ± 6,741 ^b
	Elasticidad (mm)	3,742 ± 0,179 ^a	4,185 ± 0,196 ^b

El porcentaje de humedad en un queso semiduro puede variar, pero generalmente se encuentra en un rango de 36-40 % (**McSweeney et al., 2017**). Esto significa que el queso contiene esa cantidad de agua en relación con su peso total. En las dos elaboraciones realizadas, los quesos presentaron un porcentaje de humedad acorde a su clasificación del orden del ~39 % y se ubicaron dentro del rango teórico, sin diferencias significativas para el queso obtenido a partir del extracto vegetal respecto del queso obtenido a partir de quimosina (**Tabla 4**). El porcentaje de humedad es un parámetro de importancia ya que contribuye a la textura más firme y compacta en comparación con los quesos de pasta blanda que presentan más de 40 % de humedad (**McSweeney et al., 2017**).

El contenido de grasa y proteínas en la producción de quesos son parámetros importantes, en primera instancia estos dos parámetros definen lo que se le paga al productor de leche y por otro se debe estandarizar valores de grasa y proteína en muchos tipos de queso. En Argentina el productor recibe su remuneración de acuerdo a la calidad composicional (% grasa butirosa, % proteína), higiénica (UFC/ml) y sanitaria

de la leche (CS/ml) (**OCLA 2023**). La calidad composicional (teniendo buena calidad higiénica y sanitaria) de la leche condiciona la elaboración de quesos y define el rendimiento y su contenido de grasa/proteína le confiere las características de sabor y textura del producto final. Ambos tipos de quesos presentaron valores finales de proteínas en el orden del ~18 % y de grasa ~21 % sin diferencias estadísticas significativas.



FIGURA 9 | Quesos elaborados. a) y b) Vista lateral de los quesos obtenidos con extracto vegetal y enzima animal, respectivamente. **c) y d)** Vista cenital de los quesos elaborados con extracto vegetal y enzima animal, respectivamente. Las fotos corresponden a un tiempo de maduración de 40 días.

Con respecto a los valores de pH de los quesos luego de los 40 días de maduración, el queso obtenido con extracto vegetal presento valores superiores del orden de 5,26 y con diferencias significativas con respecto al queso obtenido de enzima animal (pH 5,05). Estos valores encontrados coinciden con los informados por **Sousa y Malacata (1997)** quienes realizaron una comparación de cuajo vegetal (*C. cardunculus*) y animal en términos de características microbiológicas, químicas y de proteólisis de quesos elaborados con leche de ovinos. Estas diferencias podrían ser explicadas por el tipo de enzimas utilizadas para la coagulación de la leche; ya que por la mayor actividad

proteolítica residual del extracto vegetal podría generarse mayor cantidad de nitrógeno soluble lo que incrementaría el pH, tal como lo informan **Sousa y Malacata, 1997**.

Por otro lado, la proteólisis influye en la textura de los quesos debido a la rotura de la malla proteica incrementando el pH, como se mencionó anteriormente, por la liberación de NH_3 (**Saldo Periago, J. 2002**). Además, la proteólisis forma péptidos cortos y aminoácidos libres lo que tiene un efecto directo sobre las características de sabor; punto que se desarrolla en el apartado **4.3 (Saldo Periago, J. 2002)**. El efecto de los coagulantes sobre la textura del queso se determinó mediante el análisis TPA. Las enzimas utilizadas mostraron efectos importantes sobre los parámetros de textura. Los quesos coagulados con extracto vegetal presentaron una importante disminución de la dureza (~76 %), masticabilidad (~79 %), cohesividad (~3 %) y elasticidad (~18 %) respecto de los obtenidos con quimosina. Esto pone en evidencia lo que se describió previamente sobre las particularidades de las texturas de los quesos obtenidos que reflejan lo que se percibió visiblemente, como la pérdida de forma cilíndrica del queso obtenido a partir del extracto vegetal, posiblemente debido a la mayor actividad proteolítica del extracto vegetal (ver **Figura 9**). **García Gomez et al., 2019** estudió la interacción entre la fuente de cuajo (animal, microbiano, quimosina recombinante y extracto vegetal) y la transglutaminasa en la producción de queso fresco blanco. El extracto vegetal produjo quesos significativamente más blandos y con menor elasticidad que los obtenidos con el coagulante de origen animal. El queso obtenido con cuajo animal fue un 40,17 % más duro que el obtenido con cuajo vegetal (**García Gomez et al., 2019**).

Con respecto al color, se encontraron diferencias significativas en la luminosidad presentando los quesos obtenidos con extracto vegetal una menor luminosidad en el orden de 80 con respecto a los quesos de enzima animal que presentaron valor de 89. Esto concuerda con lo reportado por **Colombo et al. (2018)**, para quesos elaborados con extracto de flores de *Silybum marianum* que fueron más oscuros que aquellos obtenidos utilizando quimosina como agente coagulante. El parámetro b^* (componente del color amarillo) no presentó diferencias significativas y estuvo en el orden de 37. Se observaron diferencias significativas en el parámetro a^* , pero como son muy chicos; del orden de ~ 4,28-4,8 no explican en forma concreta el color. En suma, la apariencia visual del color de los quesos fue el amarillo característico de este tipo de producto (**Figura 9**).

4.4. Análisis sensorial de quesos tipo “Pategrás”

Se realizó un análisis sensorial de los quesos con un panel de evaluadores no entrenados (60 personas convocadas espontáneamente). A las personas que participaron se les hizo probar los dos tipos de queso y analizar en función de los siguientes descriptores previamente discutidos por el equipo que llevó adelante este trabajo: color, sabor, aroma, textura y aceptabilidad general. Para cada parámetro se elaboró una escala hedónica de 9 puntos. La planilla utilizada se encuentra disponible en el anexo. Los consumidores no entrenados no percibieron diferencias significativas en el color de los dos tipos de quesos (**Figura 10**); aunque le dieron un pequeño mayor puntaje al queso elaborado con enzima animal.

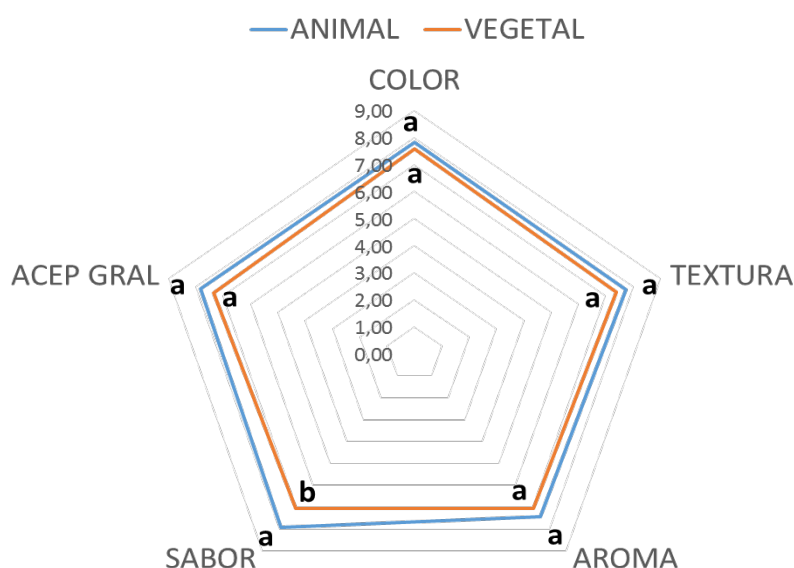


FIGURA 10 | Gráfico tipo tela de araña con información del análisis sensorial. Se evaluaron los parámetros de color, textura, aroma, sabor y aceptabilidad general, Letras distintas indican diferencias significativas según el test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $p < 0,05$.

Esta tendencia se mantuvo en los demás parámetros. En cuanto al aroma de los quesos tampoco se percibieron diferencias significativas; esto no quiere decir que no tienen aroma, sino que no se reportaron diferencias al comparar uno con otro. Sorprendentemente en el parámetro textura no se puntuaron con diferencias significativas, aunque hubo muchos comentarios sobre la untuosidad o apariencia más blanda del queso obtenido con extracto vegetal. Esto contrasta con los resultados obtenidos del análisis con el texturómetro en donde se evidenciaron diferencias significativas en la textura de ambos tipos de quesos. Sí se encontraron diferencias perceptibles en el sabor; donde el queso obtenido por extracto vegetal se puntuó a la baja con respecto al otro. Se recibieron muchos comentarios sobre el sabor amargo del queso (y levemente ácido), lo que se relaciona directamente con lo informado en la

bibliografía sobre la actividad proteolítica remanente de los extractos vegetales discutidos en el apartado **4.2**. Es interesante y valioso el dato de la categoría aceptación general, en la cual no hubo diferencias significativas. Esto podría indicar que las características más representativas del queso obtenido con extracto vegetal como la textura “fundente” (pérdida de la forma cilíndrica y menor dureza) sumadas al característico dejo amargo en el sabor son valoradas positivamente por los consumidores. Podríamos afirmar que el producto tiene características de identidad propias y aceptadas por consumidores no entrenados.

Capítulo 4: Conclusiones

En el presente trabajo se obtuvo y caracterizó el extracto de flor de alcaucil para su utilización como agente coagulante alternativo en la elaboración de quesos de pasta semi-dura tipo “Pategrás” a partir de mezclas de leche bovina y caprina. El trabajo realizado permitió la obtención de un extracto seguro para elaborar quesos a partir de la desinfección de las flores de alcaucil. Además, se pudo establecer la mejor forma de conservarlo, así como también evaluar las principales características de la enzima vegetal tales como color, pH y actividad coagulante. Seguidamente y utilizando el extracto vegetal se realizaron dos elaboraciones de quesos y se analizaron sus características bioquímicas además de evaluar la preferencia de los consumidores a través de un análisis sensorial. Como conclusión, puede decirse que es factible realizar quesos de tipo “Pategrás” utilizando un extracto de flores de alcaucil producidas en el cinturón hortícola platense, generando una opción diferenciada. Asimismo, el producto final obtenido posee características de sabor y textura distintivas y aceptadas por los consumidores, siendo esto de interés por tratarse de un producto de importancia regional ya que el alcaucil se produce en la ciudad de La Plata y es una hortaliza de relevancia a nivel regional.

Referencias bibliográficas

- ALAIS, C. 1985.** Ciencia de la leche. Cuarta edición. Reverte. España. 884 pp.
- ALMEIDA, C. M., & SIMÕES, I. 2018.** Cardoon-based rennets for cheese production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 102(11), 4675-4686.
- AOAC. 1980.** Official Methods of Analysis, 13th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C.
- CAA. 1969.** Código Alimentario Argentino. Ley 123284. Capítulo VIII. En: www.anmat.gov.ar
- CASTELLANO A, ISSALY LC, ITURRIOZ GM, MATEOS M, TERAN JC. 2009.** Análisis de la cadena de la leche en Argentina. INTA.
- CAVALLI, S. V., SILVA, S. V., CIMINO, C., MALCATA, F. X., & PRIOLO, N. (2008).** Hydrolysis of caprine and ovine milk proteins, brought about by aspartic peptidases from *Silybum marianum* flowers. *Food Chem.* 106(3), 997-1003.
- CHAZARRA, S., SIDRACH, L., LOPEZ-MOLINA, D., & RODRÍGUEZ-LÓPEZ, J. N. (2007).** Characterization of the milk-clotting properties of extracts from artichoke (*Cynara scolymus*, L.) flowers. *Int. Dairy J.* 17(12), 1393-1400.
- COLOMBO, M. L., CIMINO, C. V., BRUNO, M. A., HUGO, A., LIGGIERI, C., FERNÁNDEZ, A., & VAIRO-CAVALLI, S. (2021).** Artichoke cv. Francés flower extract as a rennet substitute: effect on textural, microstructural, microbiological, antioxidant properties, and sensory acceptance of miniature cheeses. *J. Sci. Food Agric.* 101(4), 1382-1388.
- COLOMBO, ML, FERNÁNDEZ, A., CIMINO, CV, LIGGIERI, C., BRUNO, M., FARO, C., & VAIRO-CAVALLI, S. (2018).** Miniature cheeses made with blends of chymosin and a vegetable rennet from flowers of *Silybum marianum*: Enzymatic characterization of the flower- coagulant peptidase. *Food Chem.* 266, 223-231.
- DI RIENZO, J.A., CASANOVES, F., BALZARINI, M.G., GONZALEZ, L., TABLADA, M., ROBLEDO, C. W. (2018).** InfoStat (2018). Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba,. <http://www.infostat.com.ar>
- FEIJOO-SIOTA, L., RAMA, JLR, SÁNCHEZ-PÉREZ, A. Y VILLA, TG. 2018.** Expresión, activación y procesamiento de una nueva proteasa aspártica coagulante de la leche vegetal en *Pichia pastoris*. *Rev. Biotechnol.* 268, 28-39.
- GARCÍA, V., ROVIRA, S., BOUTOIAL, K., ÁLVAREZ, D., & LÓPEZ, M. B. (2015).** A comparison of the use of thistle (*Cynara cardunculus* L.) and artichoke (*Cynara scolymus* L.) aqueous extracts for milk coagulation. *Dairy Sci Technol.* 95(2), 197-208.
- GARCÍA, V., ROVIRA, S., BOUTOIAL, K., ÁLVAREZ, D., & LÓPEZ, M. B. (2015).** A comparison of the use of thistle (*Cynara cardunculus* L.) and artichoke (*Cynara scolymus* L.) aqueous extracts for milk coagulation. *Dairy Sci Technol.* 95, 197-208.
- GARCÍA-GÓMEZ, B., VÁZQUEZ-ODÉRIZ, M. L., MUÑOZ-FERREIRO, N., ROMERO-RODRÍGUEZ, M. Á., & VÁZQUEZ, M. (2019).** Interaction between rennet source and transglutaminase in white fresh cheese production: Effect on physicochemical and textural properties. *LWT*, 113, 108279.
- GRANITTO, 2016.** Manejo y producción de alcaucil. Apuntes de la cátedra de Horticultura y Floricultura, FCAyF, UNLP.
- GROZDANOVIC M. M., BURAZER L., AND GAVROVIC-JANKULOVIC M. 2013.** "Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) extract shows potential as a low-cost and efficient milk-clotting agent,". *Int. Dairy J.* vol. 32, no. 1, pp. 46–52.
- INTI. 2011.** Programa pruebas de desempeño de productos. Queso cremoso.
- INTI. 2012.** Quesos Argentinos. En: www.quesosargentinos.gov.ar/ Visitado Jun 2012.

- JACOB, M., JAROS, D., & ROHM, H.** (2011). Recent advances in milk clotting enzymes. *IJDT*, 64(1), 14-33.
- LIBURDI, K., SPINELLI, S. E., BENUCCI, I., LOMBARDELLI, C., & ESTI, M.** (2018). A preliminary study of continuous milk coagulation using *Cynara cardunculus* flower extract and calf rennet immobilized on magnetic particles. *Food chem.* 239, 157-164.
- MARTÍN-DIANA, A. B., RICO, D., BARRY-RYAN, C., FRÍAS, J. M., HENEHAN, G. T., & BARAT, J. M.** (2007). Efficacy of steamer jet-injection as alternative to chlorine in fresh-cut lettuce. *Postharvest Biol. Technol.* 45(1), 97-107.
- MCSWEENEY, P. L., OTTOGALLI, G., & FOX, P. F.** (2017). Diversity and classification of cheese varieties: an overview. *Cheese*, 781-808.
- MINAGRI.** 2012. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Estadísticas, Subsecretaria_de_lecheria. En [http://64.76.123.202/site/subsecretaria de lecheria](http://64.76.123.202/site/subsecretaria_de_lecheria) Visitado Octubre 2012.
- NOUANI, A., DAKO, E., MORSLI, A., BELHAMICHE, N., BELBRAOUE, S., BELLAL, M. M., & DADIE, A.** (2009). Characterization of the purified coagulant extracts derived from artichoke flowers (*Cynara scolymus*) and from the fig tree latex (*Ficus carica*) in light of their use in the manufacture of traditional cheeses in Algeria. *J. Food Technol*, 7(1), 20-29.
- NOUANI, A., DAKO, E., MORSLI, A., BELHAMICHE, N., BELBRAOUE, S., BELLAL, M. M., & DADIE, A.** (2009). Characterization of the purified coagulant extracts derived from artichoke flowers (*Cynara scolymus*) and from the fig tree latex (*Ficus carica*) in light of their use in the manufacture of traditional cheeses in Algeria. *J. Food Technol*, 7(1), 20-29.
- OCLA,** 2020. Observatorio de la Cadena Láctea Argentina, disponible en: <https://www.ocla.org.ar/>
- ROSEIRO, L. B., BARBOSA, M., AMES, J. M., & WILBEY, R. A.** (2003). Cheesemaking with vegetable coagulants—the use of *Cynara* L. for the production of ovine milk cheeses. *IJDT*. 56(2), 76-85.
- SANCHEZ TURCIO, R.A.** (2015) t-Student. Usos y abusos. Revista mexicana de cardiología. Volumen 26, N°1, pp 59 – 61.
- SELHI, M.** 2018. Agrofy Agency. El alcaucil, la estrella del invierno. <https://news.agrofy.com.ar/noticia/176503/alcaucil-platense-estrellainvierno>.
- Saldo Periago, J. (2002). Cambios en las características de un queso de cabra sometido a alta presión hidrostática: aceleración de la maduración. Disponible en: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5633/jsp1de6.pdf;jsessionid=DEAE72A16F6694B13B8AE2D6C9A1216C?sequence=1>.
- SOUSA, M. J., & MALCATA, F. X.** (1997). Comparison of plant and animal rennets in terms of microbiological, chemical, and proteolysis characteristics of ovine cheese. *J. Agric. Food Chem.*, 45(1), 74-81.
- VEISSEYRE, R.** 1988. Lactología técnica. Segunda edición. Editorial Acribia. España. 714 pp.

Anexo

Panel sensorial de quesos

Nombre: _____

Fecha: _____

Evaluador: _____

Usted va a probar dos quesos tipo Gouda. Pruebe las muestras de manera independiente y no continúe con la siguiente hasta terminar la evaluación. Por favor entre muestra y muestra enjuáguese la boca con agua.

Muestra: **902**

	Disgusta								Gusta
Color:	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Textura:	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Sabor:	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Aceptabilidad General:	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐

Muestra: **375**

	Disgusta								Gusta
Aceptabilidad General:	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Color de miga:	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Sabor:	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Textura:	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐

¿Compraría este producto, porque?

¿Cuál escogería de las muestras probadas?

¡¡Muchas gracias por su colaboración!!

