



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA AGROINDUSTRIA

CARACTERIZACIÓN DE LAS ENZIMAS COAGULANTES
PRESENTES EN LA FLOR DEL CARDO (*Cynara Cardunculus L*)
EN LA ELABORACIÓN DE QUESOS

Trabajo de Titulación

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

AUTOR:

MAYCOL ALEXANDER CHANGOLUISA MAIGUA

Riobamba – Ecuador

2022



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA AGROINDUSTRIA

CARACTERIZACIÓN DE LAS ENZIMAS COAGULANTES
PRESENTES EN LA FLOR DEL CARDO (*Cynara Cardunculus L*)
EN LA ELABORACIÓN DE QUESOS

Trabajo de Titulación

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

AUTOR: MAYCOL ALEXANDER CHANGOLUISA MAIGUA

DIRECTOR: Ing. ENRIQUE CESAR VAYAS MACHADO MSc.

Riobamba – Ecuador

2022

© 2022, **Maycol Alexander Changoluisa Maigua**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, MAYCOL ALEXANDER CHANGOLUISA MAIGUA, declaro que el presente Trabajo de Titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Titulación: el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 08 de agosto del 2022



Maycol Alexander Changoluisa Maigua

050410544-6

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA AGROINDUSTRIA

El tribunal del Trabajo de Titulación Certifica que: El trabajo de Titulación; Tipo: Proyecto de Investigación, “**CARACTERIZACIÓN DE LAS ENZIMAS COAGULANTES PRESENTES EN LA FLOR DEL CARDO (*Cynara Cardunculus L*) EN LA ELABORACIÓN DE QUESOS**”, realizado por el señor: **MAYCOL ALEXANDER CHANGOLUISA MAIGUA**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Iván Patricio Salgado Tello, MSc. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		2022/08/08
Ing. Enrique Cesar Vayas Machado, MSc. DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN		2022/08/08
Bqf. María Verónica González Cabrera, MSc. MIEMBRO DEL TRIBUNAL		2022/08/08

DEDICATORIA

Al creador de todas las cosas, el que me ha dado fortaleza para continuar y seguir adelante; por ello, con toda la humildad de mi corazón puede emanar, dedico primeramente a Dios. A mis padres quienes me dieron la vida y han estado conmigo en todo momento. Gracias papá y mamá por darme una carrera para mi futuro y por creer en mí los amo mucho. A mis hermanos por su comprensión, paciencia y por su apoyo, siendo un pilar fundamental en mi vida.

Maycol

AGRADECIMIENTO

Antes que todo agradezco a Dios, mis padres María Maigua Tiglla y Luis Changoluisa Toapanta, y mis hermanos; por enseñarme a luchar en esta vida llena de adversidades, a conquistar mis metas que me proponga, a estar conmigo cuando he caído y motivarme a seguir adelante. Mi eterno agradecimiento a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por permitirme alcanzar un nivel alto de conocimientos y valores. Agradezco también a mi director de tesis el Ing. Enrique Cesar Vayas Machado MSc. y miembro de tesis BQF. María Verónica González Cabrera MSc. Por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico, así como también haberme tenido toda la paciencia del mundo para guiarme durante todo el desarrollo de la tesis.

Maycol

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
RESUMEN	xi
ABSTRACT.....	xii
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL	4
1.1. Antecedentes de investigación	4
1.2. Antecedentes	4
1.3. Marco teórico.....	5
1.3.1. Cuajo vegetal	5
1.3.1.1. Definición.....	5
1.3.1.2. Función del cuajo vegetal	5
1.3.1.3. Tipos de cuajos vegetales	5
1.3.1.4. Obtención del cuajo vegetal a partir de las flores de cardo	6
1.3.1.5. Aislamiento de cardosinas.....	7
1.3.1.6. Ventajas de uso del cuajo vegetal.....	7
1.3.2. El cardo	8
1.3.2.1. Origen y distribución.....	8
1.3.2.2. Generalidades del cardo	8
1.3.2.3. Taxonomía.....	9
1.3.2.4. Características morfológicas	10
1.3.2.5. La flor de cardo en la elaboración de queso	11
1.3.2.6. Peptidasas aspárticas en las flores del cardo.....	12
1.3.2.7. Actividad proteolítica del cuajo obtenido de las flores del cardo.....	13
1.3.3. Tecnología de elaboración de quesos	14
1.3.3.1. Recepción	14
1.3.3.2. Filtración	14
1.3.3.3. Pasteurización.....	14
1.3.3.4. Adición de cloruro de calcio	14
1.3.3.5. Enfriado	14
1.3.3.6. Adición de cuajo.....	15

1.3.3.7.	<i>Coagulación</i>	15
1.3.3.8.	<i>Corte de la cuajada</i>	15
1.3.3.9.	<i>Reposo</i>	15
1.3.3.10.	<i>Batido</i>	15
1.3.3.11.	<i>Desuerado</i>	15
1.3.3.12.	<i>Moldeado</i>	16
1.3.3.13.	<i>Prensado</i>	16
1.3.3.14.	<i>Salado</i>	16
1.3.3.15.	<i>Envasado</i>	16
1.3.3.16.	<i>Almacenado</i>	16
1.3.4.	<i>Clasificación de los quesos</i>	18
1.3.4.1.	<i>Según el contenido de humedad</i>	18
1.3.4.2.	<i>Según el contenido graso</i>	18
1.3.4.3.	<i>Según la maduración</i>	19
1.3.5.	<i>Defectos de los quesos</i>	19
1.3.5.1.	<i>Putrefacción</i>	19
1.3.5.2.	<i>Fermentación anormal</i>	19
1.3.5.3.	<i>Hinchazón</i>	19
1.3.6.	<i>Defectos en la corteza</i>	19
1.3.6.1.	<i>Corteza débil</i>	20
1.3.6.2.	<i>Grietas y rajaduras</i>	20
1.3.6.3.	<i>Corteza arrugada</i>	20
1.3.6.4.	<i>Separación de la corteza</i>	20

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	21
2.1.	Búsqueda de la información bibliográfica	21
2.2.	Criterios de selección	21
2.3.	Método para la sistematización de la información	24

CAPITULO III

3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
3.1.	Propiedades fisicoquímicas de las enzimas coagulantes presentes en la flor del cardo (<i>Cynara Cardunculus</i> L.)	25

3.2.	Usos de las enzimas coagulantes presentes en la flor de cardo (<i>Cynara Cardunculus</i> L.)	26
3.3.	Rendimiento de quesos elaborados con enzimas coagulantes extraídas de la flor del cardo (<i>Cynara Cardunculus</i> L.)	28
	CONCLUSIONES	32
	RECOMENDACIONES	33
	GLOSARIO	
	BIBLIOGRAFÍA	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1:	Plantas con extractos coagulantes	6
Tabla 2-1:	Proporciones en base seca de las partes de la planta del cardo.....	10
Tabla 1-3:	Propiedades fisicoquímicas de las enzimas coagulantes presentes en la flor del cardo (<i>Cynara Cardunculus</i> L.).....	25
Tabla 2-3:	Características organolépticas del queso empleando cuajo extraído del cardo	28
Tabla 3-3:	Rendimiento del cuajo ternera	28
Tabla 4-3:	Rendimiento del cuajo extraído del cardo	29
Tabla 5-3:	Rendimiento de cuajo de origen vegetal y cuajo convencional	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1:	Ciclo de desarrollo del cardo.....	9
Figura 2-1:	Partes del cardo	11
Figura 3-1:	Partes de la flor del cardo	12
Figura 4-1:	Diagrama de flujo de la elaboración de queso fresco pasteurizado.....	17
Figura 5-1:	Esquema de elaboración de queso fresco pasteurizado.....	18

RESUMEN

El presente trabajo consistió en investigar en base a la literatura el efecto coagulante de las enzimas presentes en la flor de cardo (*Cynara Cardunculus L*) usadas en la elaboración de quesos. La investigación con enfoque cualitativa-descriptiva recopiló datos del objeto de estudio para su posterior análisis y evaluación; inicialmente se determinó las propiedades fisicoquímicas como pH, temperatura y especificidad en términos cinéticos, posteriormente se comparó la información de varios autores en donde se mencionan los hallazgos del empleo de las enzimas del cardo, finalmente se detalló un método de extracción y utilización de dichas enzimas como coagulante en la elaboración de quesos, así también se evaluó el rendimiento de los mismos. Para el pH se definió un rango ideal entre 3 y 6,5, con respecto a la temperatura el pico de actividad enzimática se estableció entre 30 y 32 °C para las flores secas, sin embargo en extractos crudos el pico de actividad se registra a 60 °C, en cuanto a la especificidad en términos cinéticos de las enzimas extraídas a partir de las flores del cardo estas se asemejan a las quimosina (Cardosina A) y la pepsina (Cardosina B), en cuanto al rendimiento de los quesos elaborados a partir de la leche de diferentes especies dichas enzimas presentan un índice de coagulación pobre en la leche de bovinos 21,17 (+0,14), por el contrario su índice de coagulación mejora en otras especies como ovinos 87,72 (+3,04), caprinos 110,33 (+10,02) y búfalos 73,28 (+3,04). Las enzimas presentes en las flores del cardo podrían ser empleadas exitosamente en la industria quesera; se recomienda su uso en la leche de especies ovinas, caprinas y búfalos.

Palabras clave: <CARDIO (*Cynara cardunculus L*)>, <EXTRACTO VEGETAL>, <CUAJO VEGETAL>, <QUESO DE FLOR>, <FLOR DE CARDIO>, <CARDOSINAS A Y B>, <ENZIMAS VEGETALES>, <PROTEOLISIS>.

1790-DBRA-UTP-2022


Ing. Cristian Castillo



ABSTRACT

The present work aimed to make a research based on literature about the coagulating effect of the enzymes present in the thistle flower (*Cynara Cardunculus L*) used in cheese production. The research with a qualitative-descriptive approach collected data on the object of study for its subsequent analysis and evaluation. Initially, the physicochemical properties such as pH, temperature and specificity in kinetic terms were determined, then the information of several authors was compared and the findings of the use of thistle enzymes was determined, and finally, a method of extraction and use of these enzymes as coagulant in the preparation of cheese was detailed and evaluated. For pH, an ideal range between 3 and 6.5 was defined; with respect to temperature, the peak of enzymatic activity was established between 30 and 32 °C for the dried flowers; however, in crude extracts, the peak of activity is registered at 60 °C. As for the specificity in kinetic terms of the enzymes extracted from the thistle flowers, these are similar to chymosin (Cardosin A) and pepsin (Cardosin B). As for the yield of cheeses made from the milk of different species, these enzymes show a poor coagulation index in bovine milk 21.17 (+0.14), on the contrary, their coagulation index improves in other species such as sheep 87.72 (+3.04), goats 110.33 (+10.02) and buffaloes 73.28 (+3.04). The enzymes present in thistle flowers could be successfully employed in the cheese industry; their use in milk of sheep, goat and buffalo species is recommended.

Key words: <THISTLE (*Cynara cardunculus L*)>, <VEGETAL EXTRACT>, <VEGETAL THISTLE>, <FLOWER CHEESE>, <THISTLE FLOWER>, <CARDOSINS A AND B>, <VEGETAL ENZYMES>, <PROTEOLYSIS>.

1790-DBRA-UTP-2022



Dra. Gloria Isabel Escudero Orozco

0602698904

INTRODUCCIÓN

Según Nolivos (2011, p. xiii), en la actualidad los quesos se encuentran en miles de tamaños, variedades y formas, no obstante, el queso fresco es el que presenta mayor demanda en el mercado ecuatoriano esto se atribuye a la costumbre de consumo del mismo y su relativamente sencillo proceso de obtención. El queso se elabora a partir de la leche de mamíferos cuajada, la coagulación de la leche se logra gracias a la acción de enzimas que en conjunto con sales de calcio actúan sobre la caseína siendo esta una proteína soluble misma que se transforma en paracaseína insoluble la cual precipita formando los coágulos, separándose así los sólidos presentes en la leche (cuajada) de su parte líquida (suero).

Los registros que datan del año 50 a. C. mencionan el uso de extractos vegetales como agentes coagulantes de la leche usada en la elaboración de quesos, dentro de las principales especies vegetales registradas se mencionan las semillas de cártamo, cardo y los flujos obtenidos a partir de la planta de higo (Roseiro et al., 2003; citado en García, 2015, p. 23).

Los países mediterráneos como Argelia, España, Grecia y Portugal utilizan extractos de las flores del cardo (*Cynara cardunculus* L.) como agente coagulante en la elaboración de variedades de quesos. En España de las 28 Denominaciones de Origen Protegidas (DOPs) 3 corresponden a quesos los cuales emplean extractos de origen vegetal siendo estos el Queso de la Serena, Queso Flor de Guía y Torta del Casar. Las enzimas coagulantes provenientes de las plantas debido a su elevada capacidad proteolítica les confieren a los quesos características específicas tales como la textura blanda y untuosa de la pasta (Estrada, 2019, p. 1).

En el Ecuador la producción de quesos principalmente está localizada en la región Sierra donde se encuentran las provincias de Imbabura, Azuay, Pichincha, Carchi, Cotopaxi, Cañar, Bolívar. En cuanto a la oferta de quesos en el mercado ecuatoriano únicamente el 0,3 % corresponde a importaciones esto debido a que en las provincias de Cotopaxi y Pichincha se produce más de 100 marcas de este modo abasteciendo al mercado nacional (Ulloa, 2018, p. 3).

El presente trabajo tiene como objetivo investigar en base a la literatura el efecto coagulante de las enzimas presentes en la flor del cardo (*Cynara Cardunculus* L.) usadas en la elaboración de quesos.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El cardo al ser una planta silvestre soporta condiciones extremas, por lo mismo tiene la facilidad de invadir terrenos que no son aptos para el cultivo de productos agrícolas misma que desde la antigüedad ha sido empleada de manera empírica en la elaboración de quesos; razón por la cual es necesario formularse la pregunta central:

¿Existen enzimas coagulantes presentes en las flores del cardo (*Cynara Cardunculus L.*)?

JUSTIFICACIÓN

En varios países del mundo el cardo (*Cynara Cardunculus L.*) es considerado como una plaga debido a que estas invaden los cultivos de los agricultores dañando sus cosechas, además el cardo tiene la capacidad de desarrollarse adecuadamente en extensiones de tierra no aptas para el cultivo. Por las características que esta planta presenta específicamente con relación a su hábitat se puede optar por el establecimiento de una nueva fuente de empleo aprovechando las extensiones de tierras que no son aptas para la agricultura de este modo fortaleciendo la economía local.

Las flores del cardo poseen enzimas con un enorme potencial agroindustrial siendo las mejor caracterizadas las cardosinas A y B a las cuales se atribuye la capacidad de coagulación de leche, dicha combinación de enzimas representa una línea de innovación de la industria quesera en el Ecuador.

Cabe destacar la actual existencia de un mercado que cada vez demanda más productos aptos para vegetarianos mismos que deberán estar debidamente certificados, en la mayoría de los casos se busca evitar el sacrificio de animales. Dicho problema se asocia con el desconocimiento de los consumidores relacionado al origen de los alimentos que consumen.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Investigar en base a la literatura el efecto coagulante de las enzimas presentes en la flor del cardo (*Cynara Cardunculus L.*) usadas en la elaboración de quesos.

Objetivos específicos

- Detallar las propiedades fisicoquímicas de las enzimas coagulantes presentes en la flor del cardo (*Cynara Cardunculus* L.).
- Contrastar información obtenida de fuentes fiables relacionada con el uso de las enzimas coagulantes presentes en la flor del cardo (*Cynara Cardunculus* L.).
- Comparar el rendimiento de quesos elaborados con enzimas coagulantes extraídas de la flor del cardo (*Cynara Cardunculus* L.) de investigaciones publicadas.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Antecedentes de investigación

Esta investigación no presento antecedentes en la institución donde se desarrolló, de ahí, su carácter original. Se han realizado investigaciones acerca del uso de diferentes tipos de cuajos tanto animales como vegetales en la elaboración de quesos, pero no se han enfocado en la utilización de enzimas coagulantes presentes en las flores de cardo.

Además, la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo cuenta con una biblioteca virtual en donde se encuentra un respaldo teórico documental abundante proveniente de revistas con contenido científico de donde se extraerá la información relacionada a las enzimas coagulantes presentes en las flores del cardo y sus posibles aplicaciones industriales. Todo ello conlleva a garantizar un prometedor resultado.

1.2. Antecedentes

Según Liburdi et al. (2019, p. 1), el proceso más importante en la industria quesera es la conversión de leche en cuajada. Desde la antigüedad los queseros descubrieron que dicha conversión de leche a cuajada estaba condicionada por una sustancia proveniente de los rumiantes encontrándose está localizada en el abomaso. La producción industrial de quesos desde sus inicios dependió de los estómagos secos de corderos y terneras mismos que fueron suministrados por empresas agrícolas especializadas, durante el siglo XX con la finalidad de garantizar condiciones más higiénicas y evitar posibles pérdidas durante la producción se inició la comercialización de cuajo en presentación de extractos secos (cuajo en polvo) o concentrados (cuajo líquido). En el año 1961 se observó un notable crecimiento en la producción de quesos no obstante la disponibilidad de cuajo disminuyó debido a que existían limitados estómagos de rumiantes, esto obligo a las industrias a buscar nuevas fuentes alternativas de coagulación de la leche. Cabe destacar que esta búsqueda se vio fuertemente influenciada por religiones como el islam y el judaísmo, así como también por la aparición de las dietas vegetarianas, entre otros.

Además, Liburdi et al. (2019, p. 1), menciona que en cuanto a las propiedades bioquímicas de los cuajos alternativos estos deberían poseer características similares comparadas al cuajo de ternera, mencionando principalmente la alta especificidad en la k-caseína, elevada capacidad coagulante de la leche, adecuada actividad proteolítica a la temperatura y pH de fabricación de quesos, y

finalmente una termolabilidad adecuada con la finalidad de evitar actividad enzimática residual en el suero extraído. Los coagulantes sustitutos más empleados son las proteasas recombinantes metabolizadas genéticamente y enzimas provenientes de microorganismos.

De acuerdo a Liburdi et al. (2019, p. 2), desde la antigüedad los países del sur de Europa, África occidental y el Mediterráneo han empleado coagulantes vegetales en la fabricación de quesos. En España y Portugal varias de las Denominaciones de Origen Protegidas corresponden a quesos elaborados de manera artesanal lo mismos que emplean como coagulante extractos del cardo. No obstante, los coagulantes vegetales debido a su elevada actividad proteolítica se usan en raras ocasiones en la producción de quesos. Ya que produce sabores amargos, deficiencia en la textura y baja el rendimiento. Sin embargo, se obtuvieron resultados muy prometedores empleando extractos de cardo en la coagulación de la leche de ovinos, asimismo produce quesos de muy mala calidad al coagularse leche de bovinos.

1.3. Marco teórico

1.3.1. Cuajo vegetal

1.3.1.1. Definición

Un coagulante vegetal es cualquier extracto proveniente de plantas, el cual contiene en su composición uno o más componentes capaces de producir la desestabilización en las micelas de caseína formando así la denominada cuajada usada en la industria quesera (García, 2015, p. 23).

1.3.1.2. Función del cuajo vegetal

Un cuajo vegetal tiene la característica de separar la fase sólida de la leche (caseína) de su fase líquida (suero). La acción de las enzimas contenidas en el cuajo provoca la precipitación de las sales de calcio que se vuelven insolubles luego de que la caseína pierda una de sus moléculas por consecuencia de la actividad enzimática. Las partículas de caseína precipitadas se unen formando el parcaseinato de calcio o llamado más comúnmente como cuajada que se aprecia como un gel sólido (Robinson y Wilbey, 2002; citado en Mallma, 2017, p. 11).

1.3.1.3. Tipos de cuajos vegetales

El látex de higuera (*Ficus carica* Linnaeus) ha sido empleado como coagulante vegetal de leche desde tiempos ancestrales (Herrera, 2009; citado en Mallma, 2017, p. 11).

Existen grandes variedades de especies vegetales de las cuales se puede obtener extractos coagulantes no obstante algunos como la bromelina de la piña y la papaína de la papaya presentan un excesivo poder proteolítico por lo cual no se recomienda su uso en la coagulación de leche, en la tabla 1-1 se enlistan las plantas que producen extractos que pueden ser empleados como agentes coagulantes (Robinson y Wilbey, 2002; citado en Mallma, 2017, p. 11).

Tabla 1-1: Plantas con extractos coagulantes

Plantas con extractos coagulantes	Nombre científico
Cardo	<i>Cynara cardunculus</i>
Bardana	<i>Articum minus</i>
Dulcamara	<i>Solanum dalcamara</i>
Malva	<i>Malva sylvestris</i>
Cardo borriquero	<i>Cirsium y Carlina spp</i>
Higuera	<i>Ficus carica</i>
Lampaza	<i>Herculeum spondylum</i>
Garbanzón	<i>Centurea spp.</i>
Hierba cuajadera	<i>Galum verum</i>
Ortiga	<i>Urtica dioica</i>
Hierba de Santiago	<i>Senecio jacobea</i>
Hierba de flámula	<i>Ranunculus spp.</i>
Euforbio	<i>Euphorbia lathyris</i>
Dipsacáceas	<i>Dipsacus sylvestris</i>
Alcanfor	<i>Achillea millefolium</i>
Baya “withiana”	<i>Withiana coagulans</i>

Fuente: Robinson y Wilbey, 2002; citado en Mallma, 2017, p. 12

Realizado por: Changoluisa Maycol, 2022

1.3.1.4. Obtención del cuajo vegetal a partir de las flores de cardo

Las enzimas responsables de la coagulación con frecuencia se encuentran en mayor concentración en las flores o el látex de algunas plantas. Para extraer las enzimas coagulantes de las flores del cardo se debe recolectar las flores cuando estas presentan un color azul intenso en sus pistilos, luego se requiere secar las flores en la sombra para posteriormente extraer los pistilos de las flores ya secas ayudando así a su conservación. Para la preparación del cuajo es necesario mezclar 250 ml de agua destilada con 3 gramos de pistilos secos y se deja reposar por un tiempo mínimo de 12 horas, el agua de remojo se reserva y se coloca los pistilos en el mortero donde se le añadirá agua destilada y se maja hasta que el agua se torne de un color oscuro, se filtra esta agua y se

repite el procedimiento hasta que los pistilos dejen de liberar color. El extracto obtenido según los registros tiene la capacidad de coagular a una temperatura de 35 °C aproximadamente 10 litros de leche (Herrera, 2009; citado en Mallma, 2017, p. 13).

1.3.1.5. Aislamiento de cardosinas

Veríssimo et al. (1996; citado en Ordiales, 2012, p. 65), manifiestan que el proceso de purificación empieza con una extracción a pH ácido seguido de exclusión molecular y cromatografía de intercambio iónico en MonoQ por HPLC. La purificación se puede realizar en dos pasos cuando se realiza una extracción a pH ácido.

- Generación de un solo pico de actividad proteolítica a causa de la eliminación de fenoles y pigmentos por fijación en gel (superosa 6 o superdex 200).
- Partiendo del pico anterior se realiza el HPLC de intercambio iónico, dando como resultado dos picos proteolíticos activos (cardosinas A y B).

En cuanto a la actividad enzimática entre el 75 y 90% corresponde a la cardosina A, por el contrario, entre el 10 y 25% corresponde a la cardosina B, dichas enzimas actúan a pH ácido y a su vez pueden ser inhibidas por la pepstatina A (Barros et al., 2004; citado en Ordiales, 2012, p. 43). En términos de especificidad cinética la cardosina A se asemeja a la quimosina que es la principal responsable de la coagulación, por el contrario, la cardosina B se asemeja la pepsina siendo esta responsable de la posterior actividad proteolítica (Alavi y Momen, 2020, pp. 1-11). Por su parte Amira et al. (2017a, pp. 76-93), determino que del total de la actividad enzimática registrada el 75 al 90 % corresponde a la cardosina A que presenta una especificidad semejante a la quimosina, por el contrario del 10 al 25 % de la actividad enzimática corresponde a la cardosina B la cual se asemeja a la pepsina.

1.3.1.6. Ventajas de uso del cuajo vegetal

Según Robinson y Wilbey (2002; citados en Mallma, 2017, p. 14), el cuajo vegetal es una fuente en donde se encuentran enzimas proteolíticas las cuales son las responsables de la formación de la cuajada, cabe destacar la notable delicadeza del coagulo que se forma a partir de enzimas vegetales y a su vez la cuajada presenta una textura más cremosa y suave. Por dicha razón los cuajos de origen vegetal son mayormente empleados en la elaboración de quesos frescos y tiernos. Asimismo, se puede utilizar el cuajo de origen vegetal para elaborar quesos duros dando buenos resultados.

1.3.2. El cardo

1.3.2.1. Origen y distribución

El cardo (*Cynara cardunculus*) se origina en el norte de África y el sur de Europa, no obstante, con el paso del tiempo esta planta se ha extendido hacia otros países como México, Nueva Zelanda, Australia y los Estados Unidos de América (Barbosa et al., 2020, p. 2).

1.3.2.2. Generalidades del cardo

Barbosa et al. (2020, p. 2), consideran a esta planta como un organismo extremófilo ya que se desarrolla sin mayores problemas en condiciones ambientales adversas como, por ejemplo, periodos largos de sequía, altas temperaturas y suelos no aptos para cultivos agrícolas (pedregosos, improductivos, etc.). Cabe destacar el beneficio que presenta cardo en su estado natural hacia los polinizadores (abejas, colibríes, etc.) ayudando así a la biodiversidad en todos sus aspectos.

El cardo es una planta perenne, en la figura 1-1 podemos observar su ciclo de desarrollo siendo este anual, cuyo ciclo reproductivo se completa durante el verano, gracias a sus tallos gruesos y rígidos puede llegar a alcanzar una altura de hasta dos metros, Durante el verano las partes aéreas de la planta se secan sin embargo las partes subterráneas (brotes y raíces) persisten hasta que las condiciones ambientales sean las adecuadas es entonces cuando se desarrollan los brotes que se encuentran alojados en la base de los tallos dando inicio a un nuevo ciclo de desarrollo (Barbosa et al., 2020, p. 2).

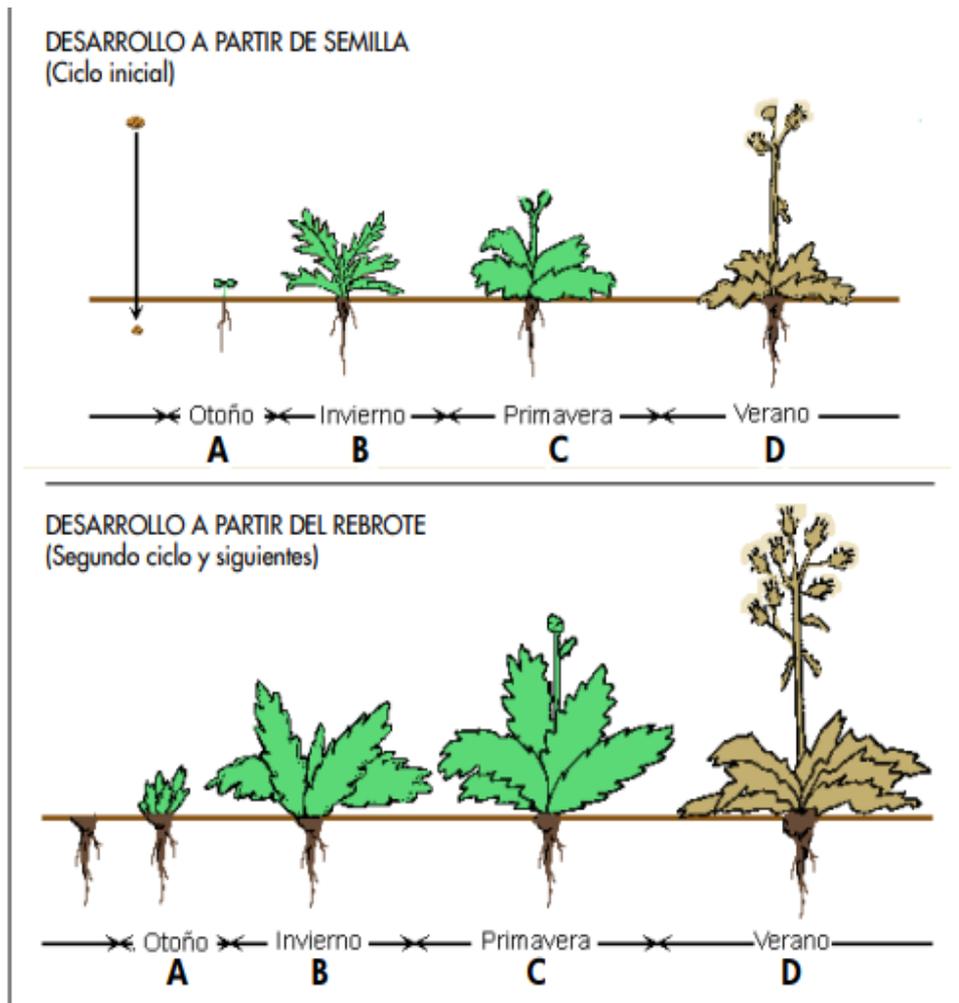


Figura 1-1. Ciclo de desarrollo del cardo

Fuente: Lag, 2005, p. 70

1.3.2.3. Taxonomía

Taxonómicamente la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO, 2016, párr. 1), clasifica al cardo como:

Reino: Plantae

Filo o división: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Asterales

Familia: Asteraceaceae

Género: *Cynara*

Especie: *Cynara cardunculus* L.

1.3.2.4. Características morfológicas

Lag (2005, p. 68), menciona que las raíces principales del cardo pueden llegar a poseer una longitud de hasta dos metros que se prolonga desde el tronco hundiéndose verticalmente en la tierra. El sistema radicular del cardo alcanza mayor volumen de suelo gracias a que de las raíces principales se derivan las raíces secundarias (raicillas) con una tendencia de crecimiento horizontal (figura 2-1 A). Las hojas poseen una nerviación principal evidente con un color blanquecino en su envés, no obstante, su haz es de color verde. Las hojas de la roseta basal además de ser pecioladas presentan una distribución homogénea y muy diferenciadas, estas son largas (más de 35 x 50 cm). La estructura reproductiva del cardo consta de tallo e inflorescencias (figura 2-1 B) los tallos florales pueden alcanzar los dos metros de altura, aunque su altura más usual esta entre 0,75 a 1,50 metros, estos son cilíndricos, erectos y pilosos. Las hojas de tallos carecen de peciolo es decir son sésiles y en comparación con las de la roseta basal estas son más pequeñas asimismo estas están de forma alternada a lo largo del tallo. La cantidad de flores que se puede obtener de una planta de cardo varía entre las 16 y 50 flores, estas se encuentran ubicadas al final de las ramificaciones en capítulos globulares de hasta 4 cm de radio. (figura 2-1 C, D, E). Las flores pueden tener una corola liliácea, azulada e incluso blanquecina, las brácteas del involucreo son de color púrpura y de forma oval con una terminación gradual en púa y finalmente con respecto a las dimensiones de las semillas estas varían entre 3-4 mm x 6-8 mm, además, presentan manchas marrones y son brillantes (figura 2-1 F). Además, en la tabla 2-1 se presentan los valores en base seca de las partes de la planta del cardo.

Tabla 2-1: Proporciones en base seca de las partes de la planta del cardo

Partes de la planta	Proporciones en base seca (valor medio)
Tallos y ramas	33 %
Hojas del tallo	13 %
Hojas basales	20 %
Pelos y vilanos	7 %
Capítulos	
Aquenios	10 %
Involucreo y receptáculo	16 %

Fuente: Lag, 2005, p. 68

Realizado por: Changoluisa Maycol, 2022

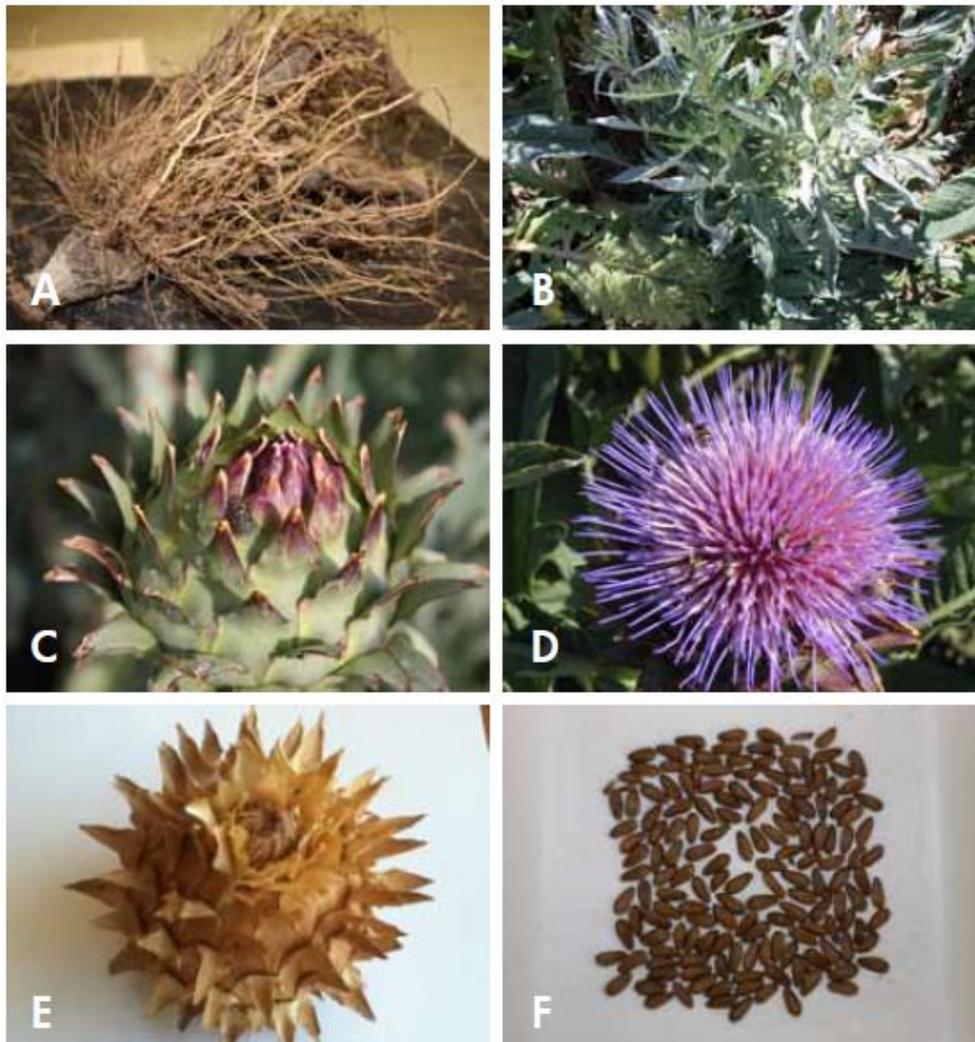


Figura 2-1. Partes del cardo

Fuente: Lag, 2005, p. 69

1.3.2.5. *La flor de cardo en la elaboración de queso*

Desde la antigüedad los extractos de las flores de cardo han sido empleados como agente coagulante de leche obteniéndose un tipo de queso con características específicas: textura cremosa y suave con un aroma característico y ligeramente picante. En las flores de cardo específicamente en el estigma (figura 3-1) se han identificado dos proteasas con un elevado potencial agroindustrial siendo estas las cardosinas A y B. dichas enzimas están relacionadas con la coagulación de leche (cardosina A) y su posterior actividad proteolítica (cardosina B), la actividad enzimática de la cardosina B se asemeja a la actividad de la pepsina presente en el cuajo de origen animal (Barbosa et al., 2020, pp. 2-3).

Sanjuán et al. (2002; citado en Ordiales, 2012, pp. 26-27), afirman que los quesos elaborados con cuajos de origen vegetal *Cynara cardunculus* L. presentan mayor untuosidad asimismo una textura más

fina, dichas características están relacionadas con la cantidad de materia grasa presente en los quesos ya que el cuajo proveniente del *Cynara cardunculus* L. al parecer atrapa mayor cantidad de materia grasa al interior de la cuajada.

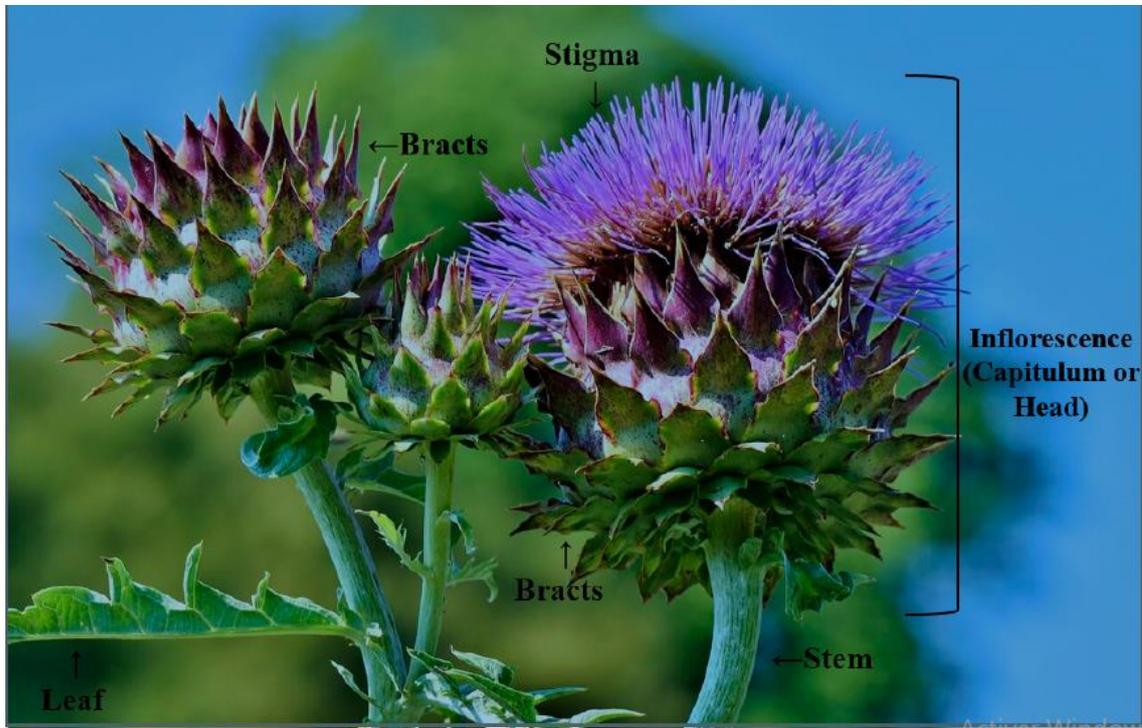


Figura 3-1. Partes de la flor del cardo

Fuente: Barbosa et al., 2020, p. 3

1.3.2.6. Peptidasas aspárticas en las flores del cardo

Un estudio realizado por Simões y Faro (2004, p. 2068), reveló que las proteínas aspárticas se encuentran localizadas en tejidos específicos dependiendo de la especie. Por ejemplo, el cardo (*Cynara cardunculus* L.) produce en sus flores dos grupos de peptidasas las cardosinas y cyprosinas:

La expresión de cardosina A ocurre esencialmente en los pistilos, específicamente en las vacuolas de almacenamiento de proteínas de las papilas estigmáticas, así como también en la gran vacuola central de las células del estilo desde el inicio del desarrollo floral (Ramalho et al., 1998, p. 137).

“La cardosina B se acumula en los pistilos hasta las últimas etapas del desarrollo floral localizándose en las paredes de las células y en la matriz extracelular del tejido de transmisión floral” (Vieira et al., 2001, p. 530).

1.3.2.7. Actividad proteolítica del cuajo obtenido de las flores del cardo

El extracto vegetal proveniente de las flores del cardo presenta dos enzimas principales, la cardosina A cuya actividad enzimática es similar a la quimosina y la cardosina B la cual presenta una actividad enzimática similar a la pepsina. Dichas enzimas son capaces de hidrolizar el enlace Phe105-Met106 de k-caseína (Veríssimo et al., 1995, p. 621). Conjuntamente los polipéptidos derivados de las k-caseínas y las demás proteínas presentes en la leche, durante la etapa de maduración de los quesos la para- κ -caseína insoluble y el glicomacropéptido soluble que se separa de la estructura micelar y pasa al suero son degradados en condiciones especiales (en ausencia de NaCl un pH de 5,5-6,5 y con 5% de NaCl un pH de 5,2) (Macedo y Malcata, 1996, p. 1094). En lo que respecta a la β -caseína ovina según (Sousa y Malcata, 1998, p. 305), las proteinasas del *Cynara Cardunculus* L. hidrolizan principalmente los enlaces Leu190-Tyr191 y Leu127-Thr128, a pH 6.5 o 5.5 en ausencia de NaCl, y a pH 5.2 con 5 % NaCl.

Las principales degradaciones que afectan a las caseínas presentes en los quesos elaborados con los extractos de *Cynara Cardunculus* L. son causados por la actividad residual del cuajo, lo cual provoca que a partir de las primeras caseínas se formen péptidos de tamaño medio las cuales seguirán degradándose hasta finalmente convertirse en aminoácidos a este procedimiento se lo conoce como segunda proteólisis. La textura del queso está ligada a la primera proteólisis, por el contrario, la segunda proteólisis es la responsable del flavor, de este modo se evidencia la importancia de asegurar un equilibrio en la rotura de las caseínas con la finalidad de evitar los defectos más comunes como son un elevado amargor y baja viscosidad (Roa et al., 1999, p. 413).

La actividad enzimática se encuentra principalmente en la flor del cardo, además la actividad de las mismas se mantiene en condiciones normales hasta los 70 °C. Roa et al. (1999, p. 413), afirman que las α -caseína son más susceptibles a la proteólisis generada por las enzimas del *Cynara Cardunculus* L. a comparación de las β -caseínas. Lamas et al. (2001, p. 643), afirman que las proteinasas de las flores del cardo presentan actividad en la α -lactoalbumina y la β -lactoglobulina presentes en el suero de leche, dichas proteínas del suero forman péptidos de mayor funcionalidad y digestibilidad que tienen una importante influencia sobre el sabor y la textura de los quesos.

El proceso de coagulación de la leche y la actividad proteolítica de las enzimas de la flor del cardo pueden aumentar en presencia de iones de sal (Sales y Lima, 2008, p. 273). Campos et al. (1990, p. 92), afirman que la temperatura es un factor clave en la actividad proteolítica concluyendo que dicha actividad tiene una relación directamente proporcional con la temperatura siendo el límite de aumento los 37 °C.

1.3.3. Tecnología de elaboración de quesos

Nolivos (2011, pp. 22-26), detalla los siguientes aspectos tecnológicos implicados en la elaboración de queso fresco pasteurizado con cuajo vegetal a partir de leche pasteurizada (gráfico 2-1). Además, Sánchez (2015, p.6), en gráfico 1-1 presentan un esquema para la elaboración de queso fresco pasteurizado.

1.3.3.1. Recepción

Es la etapa inicial de la industrialización, donde se realiza los análisis de acidez, pH, grasa y densidad comprobando el cumplimiento de los requisitos generales que se mencionan en la norma NTE-INEN 0009:09 (2008, pp. 3-4), con la finalidad de garantizar la calidad del producto terminado.

1.3.3.2. Filtración

Etapa en donde se elimina o remueve las impurezas existentes en la leche, que pudieron haber llegado de manera involuntaria, se la puede realizar a través de filtros o a su vez con telas lienzo.

1.3.3.3. Pasteurización

Proceso térmico en el cual se inactivan las enzimas y eliminan los microorganismos patógenos presentes en la materia prima. La eficacia del proceso depende de la temperatura empleada y el tiempo de exposición, en la industria quesera no se recomienda el uso de temperaturas elevadas, ya que esto afecta en la capacidad de coagulación de la leche. Comúnmente en la elaboración de quesos frescos la pasteurización se realiza a una temperatura de 65 °C durante 30 minutos.

1.3.3.4. Adición de cloruro de calcio

Para la elaboración de queso fresco con cuajo vegetal se puede agregar 20 gramos de cloruro de calcio por cada 100 litros de leche pasteurizada (NTE- INEN 1528:87, 2012, p. 118).

1.3.3.5. Enfriado

Etapa posterior a la pasteurización en donde la leche debe reducir su temperatura hasta los 38 °C, siendo esta la temperatura óptima para que actúe el cuajo vegetal.

1.3.3.6. Adición de cuajo

En el caso del cuajo obtenido a partir de las flores del cardo, añadir el extracto resultante de 3 gramos de pistilos secos por cada 10 litros de leche (Herrera, 2009; citado en Mallma, 2017, p. 13).

1.3.3.7. Coagulación

El tiempo requerido para la formación de la cuajada depende de varios factores como la temperatura, pH, concentración de cuajo y calcio. Por lo general la cuajada se forma al transcurrir de 30 a 40 minutos una vez vertido el cuajo vegetal.

1.3.3.8. Corte de la cuajada

Dependiendo del tipo de queso a elaborarse variará el diámetro de la lira, para quesos blandos se realiza cortes que den como resultado granos grandes, asimismo en el caso de quesos duros se realiza cortes que formen granos pequeños de cuajada, para obtener pequeños cubitos los cortes deben ser de forma cuadriculada.

1.3.3.9. Reposo

Para facilitar la separación del suero de la cuajada que ha sido cortada se requiere de un tiempo de reposo mínimo de 10 minutos.

1.3.3.10. Batido

Para estimular el desuerado interior se agitan los granos de cuajada dentro del suero caliente (47 °C) de 5 a 10 minutos mientras se lleva a cabo el batido debido a la pérdida de suero aumenta la densidad de la cuajada.

1.3.3.11. Desuerado

Proceso en el cual se separa los granos de cuajada del suero, comúnmente se lo realiza con telas lienzo.

1.3.3.12. Moldeado

La cuajada se coloca en moldes los cuales proporcionan la forma y el tamaño requeridos de acuerdo al tipo de queso.

1.3.3.13. Prensado

Consiste en la eliminación del suero restante presente en los granos de cuajo, es durante el prensado que se forma la cascara de los quesos la presión y el tiempo depende de la firmeza y tamaño de queso requerido.

1.3.3.14. Salado

Proporciona al queso un sabor característico además limita el desarrollo microbiano y regula la actividad enzimática. Para obtener de 19 a 22 °Boume se debe añadir aproximadamente 2,7 kilos de sal en 10 litros de agua.

1.3.3.15. Envasado

El material más común usado en la industria quesera son fundas plásticas, estas aparte de proporcionar una apariencia agradable tienen como función principal proteger al queso de posibles ataques de microorganismos.

1.3.3.16. Almacenado

Una vez que los quesos hayan sido envasados es posible consumirlos de inmediato o a su vez se puede almacenar bajo temperaturas de refrigeración (8 a 10 °C).

ELABORACIÓN DE QUESO FRESCO PASTEURIZADO EMPLEANDO ENZIMAS VEGETALES

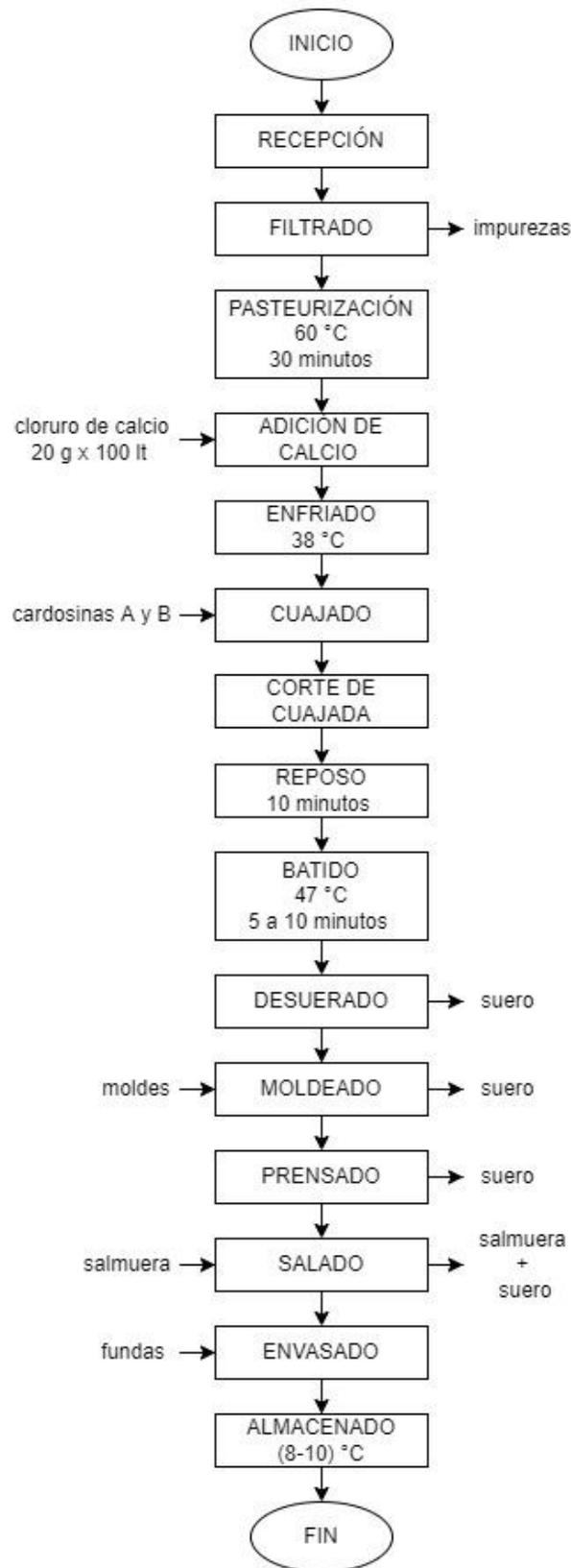


Figura 4-1. Diagrama de flujo de la elaboración de queso fresco pasteurizado

Fuente: Nolivos, 2011, p. 28

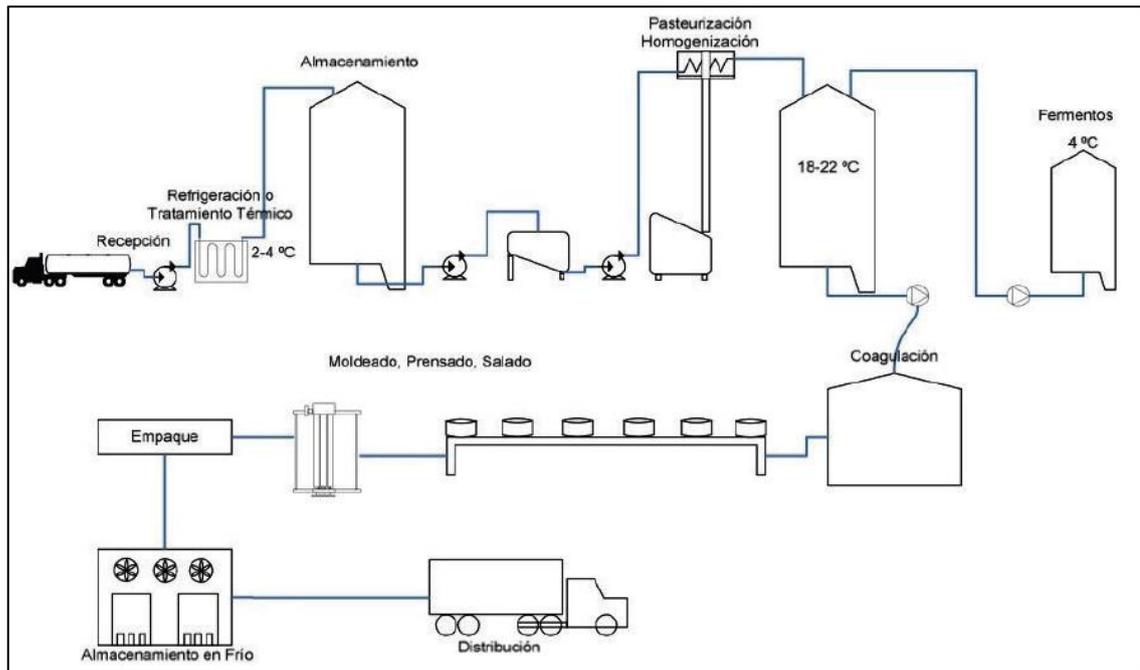


Figura 5-1. Esquema de elaboración de queso fresco pasteurizado

Fuente: Sánchez, 2015, p. 6

1.3.4. Clasificación de los quesos

Según la norma NTE-INEN 62 (1973, pp. 1-2), los quesos se pueden clasificar de la siguiente manera:

1.3.4.1. Según el contenido de humedad

- Duros: aquellos cuyo contenido de humedad es menor o igual al 55 %.
- Semiduros: aquellos cuyo contenido de humedad esta entre el 55 y 64 %.
- Blandos: aquellos cuyo contenido de humedad es igual o mayor a 65 %.

1.3.4.2. Según el contenido graso

- **Ricos en grasa:** poseen un porcentaje mayor o igual al 60 % en su contenido de grasa en el extracto seco.
- **Extragrasos:** poseen un porcentaje menor al 60 % y mayor o igual al 45 % en su contenido de grasa en el extracto seco.
- **Semigrasos:** poseen un porcentaje menor al 45 % y mayor o igual al 25 % en su contenido de grasa en el extracto seco.
- **Pobres en grasa:** poseen un porcentaje menor al 25 % y mayor al 10 % en su contenido de grasa en el extracto seco.

- **Desnatados:** poseen un porcentaje menor o igual al 10 % en su contenido de grasa en el extracto seco.

1.3.4.3. Según la maduración

- **Maduros:** son aquellos que una vez culminado su fabricación deben pasar por un proceso de maduración en donde cambian las características físicas y químicas tanto internas como externas del queso.
- **Sin madurar:** aquellos quesos que luego de su fabricación pueden ser consumidos al instante.

1.3.5. Defectos de los quesos

1.3.5.1. Putrefacción

Cuando los quesos son expuestos a elevadas temperaturas se producen olores desagradables debido a la descomposición proteica anormal que se produce (Bylund, 2003, p. 76).

1.3.5.2. Fermentación anormal

Según Bylund (2003, pp. 76-77), las fermentaciones pueden causar hinchazones en los quesos debido a las grandes cantidades de gas producidas durante la fermentación, es así que se presentan las hinchazones por fermentaciones no deseadas.

1.3.5.3. Hinchazón

Causada por contaminación microbiana o por el mal uso de fermentos. Como, por ejemplo:

- Producción de gases por coliformes
- Producción de gases por levaduras (Bylund, 2003, pp. 77-78).

1.3.6. Defectos en la corteza

Según Bylund (2003, pp. 78-82), dentro de los defectos más comunes en la corteza de los quesos tenemos:

1.3.6.1. Corteza débil

La proteólisis de la cascara está condicionada por la concentración y el tiempo de contacto del queso en la salmuera.

1.3.6.2. Grietas y rajaduras

- Al no resistir la presión interna la corteza se abre.
- Provocadas por forros y telas inadecuadas o en mal estado.
- Cuajada quemada provocado por un mal batido final.
- Instrumentos de medición de temperatura defectuosos ocasionan cuajadas resacas.

1.3.6.3. Corteza arrugada

Se presenta cuando la salida del suero a través de la cascara del queso antes de introducir el mismo en la salmuera no se da en condiciones normales, es decir presenta excedentes de humedad en la masa lo cual además provoca acumulación de acidez en la misma.

1.3.6.4. Separación de la corteza

Al usar salmueras demasiado concentradas estas dan lugar a la acumulación de sal en la corteza lo cual produce que esta se separe y se encoja.

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Búsqueda de la información bibliográfica

La presente investigación es de tipo teórico-descriptiva ya que para establecer si el extracto vegetal proveniente de las flores del cardo actúa como agente coagulante en la elaboración de quesos se investigó en fuentes confiables diversos documentos dentro de estos libros, informes, revistas, entre otros.

Para la recolección correcta de datos inicialmente se procedió a realizar una búsqueda en Google académico de artículos científicos, ensayos e incluso algunas tesis tanto a nivel nacional como internacional sobre el uso de las enzimas presentes en las flores del cardo como agente coagulante de leche, esta búsqueda se realizó sin restricción de idioma.

Posteriormente se realizó una búsqueda de artículos científicos en plataformas con contenido bibliográfico como son: Springer Link, Sciencedirect, Dialnet, entre otras en donde se obtenga información relacionada al estudio de las enzimas de las flores del cardo sin restricción de idioma siendo estos en su mayoría inglés. También se analizaron además referencias bibliográficas de los documentos seleccionados con el fin de considerar otros estudios que podrán ser incluidos en la revisión.

2.2. Criterios de selección

Se tomaron en cuenta documentos que cumplen con lo siguiente:

- Documentos en cualquier idioma.
- Publicaciones a partir del año 2016.
- Acceso libre de pago.
- Estudien las enzimas presentes en la flor de cardo.
- Que usen extractos vegetales provenientes del cardo como agente coagulante.
- Estudios en dónde se analice la actividad coagulante y proteolítica de las enzimas extraídas a partir de las flores del cardo.

Se excluyeron documentos que:

- Estén publicados en fechas anteriores al año 2015.
- Artículos que no presenten resumen.

Para la selección se considerará variables como: año, título de la investigación, fuente, sin restricciones de idioma. Se empleó como palabras claves para la búsqueda: cardo, extracto vegetal, cuajo vegetal, *Cynara cardunculus* L, queso de flor, flor de cardo, cardosinas A y B, enzimas vegetales, proteolisis.

Con el fin de responder los objetivos propuestos para el marco teórico, discusión y resultados se clasificó la investigación mediante los siguientes ítems:

Antecedentes de la investigación

(Liburdi et al., 2019, p. 1) An Evaluation of the Clotting Properties of Three Plant Rennets in the Milks of Different Animal Species.

Cuajo vegetal (Definición, función, tipos, obtención y ventajas)

(García, 2015, p. 23) Correlación de glicomacropéptido de lacto suero dulce con proteasas de bacterias psicrótrofas e identificación de leche adulterada; (Mallma, 2017, p. 11) Efecto del cuajo vegetal látex de higuera (*Ficus carica* Linnaeus) en la elaboración del queso fresco; (Ordiales, 2012, p. 65) Caracterización del Cardo (*Cynara cardunculus* L.) para su uso como cuajo vegetal en el proceso de elaboración de la torta del casar.

Cardo (Origen, generalidades, taxonomía, características y la actividad proteolítica)

(Barbosa et al., 2020, p. 2) A New Insight on Cardoon: Exploring New Uses besides Cheese Making with a View to Zero Waste; (Lag, 2005, p. 68) Utilización de compost de lodo de depuradora para la producción de cardo (*Cynara cardunculus* L.); (Ordiales, 2012, pp. 26-27) Caracterización del Cardo (*Cynara cardunculus* L.) para su uso como cuajo vegetal en el proceso de elaboración de la torta del casar; (Simões y Faro, 2004, p. 2068) Structure and function of plant aspartic proteinases; (Ramalho et al., 1998, p. 137) Identification and proteolytic processing of procardosin A; (Vieira et al., 2001, p. 530) Molecular cloning and characterization of cDNA encoding cardosin B, an aspartic proteinase accumulating extracellularly in the transmitting tissue of *Cynara cardunculus* L.; (Veríssimo et al., 1995, p. 621) The vegetable rennet of *Cynara Cardunculus* L. contains two proteinases with

chymosin and pepsin-like specificities; (Macedo y Malcata, 1996, p. 1094) Changes in the Major Free Fatty Acids in Serra Cheese Throughout Ripening; (Sousa y Malcata, 1998, p. 305) Proteolysis of ovine and caprine caseins in solution by enzymatic extracts from flowers of *Cynara cardunculus*; (Roa et al., 1999, p. 413) Residual clotting activity and ripening properties of vegetable rennet from *Cynara cardunculus* in La Serena cheese; (Lamas et al., 2001, p. 643) Hydrolysis of whey proteins by proteases extracted from *Cynara cardunculus* and immobilized onto highly activated supports; (Sales y Lima, 2008, p. 273) Immobilization of Endoproteases from Crude Extract of *Cynara cardunculus* L. Flowers; (Campos et al., 1990, p. 92) Chemical Characterization of Proteases Extracted from Wild Thistle (*Cynara cardunculus*); (Nolivos, 2011, pp. 22-26) Uso de cuajo vegetal (Leche de Higo Verde - *Ficus Carica Linnaeus*) para la elaboración de queso fresco.

Queso (Proceso de elaboración, clasificación, defectos)

(Sánchez, 2015, p. 6) Elaboración de un manual de operaciones para el proceso de fabricación de queso fresco de calidad en la empresa AYCHAPICHO AGRO'S S.A.; (NTE-INEN 0009:09, 2008, pp. 3-4) Leche cruda. Requisitos; (NTE-INEN 62, 1973, pp. 1-2) Quesos clasificación y designaciones; (Bylund, 2003, p. 76) Manual de Industrias Lácteas.

Enzimas del cardo (Métodos de extracción, propiedades físicoquímicas, rendimiento en quesos, usos)

(Alavi y Momen, 2020, pp. 1-11) Aspartic proteases from thistle flowers: Traditional coagulants used in the modern cheese industry; (Amira et al., 2017a, pp. 76-93) Milk-clotting properties of plant rennets and their enzymatic, rheological, and sensory role in cheese making: A review; (Guevara y Dalaleo, 2018, pp. 21-41) Biotechnological Applications of Plant Proteolytic Enzymes; (Amira et al., 2017b, pp. 150-158) Technological properties of milk gels produced by chymosin and wild cardoon rennet optimized by response surface methodology; (Barracosa et al., 2018, pp. 1-20) Selected Cardoon (*Cynara cardunculus* L.) Genotypes Suitable for PDO cheeses in Mediterranean Regions; (Almeida y Simões, 2018, pp. 4675-4686) Cardoon-based rennets for cheese production; (Estrada et al., 2019, pp. 621-623) Opiniones y experiencias; (Benheddi y Hellal, 2019, pp. 3431-3438) Technological characterization and sensory evaluation of a traditional Algerian fresh cheese clotted with *Cynara cardunculus* L. flowers and lactic acid bacteria.

2.3. Método para la sistematización de la información

Para la sistematización de la información obtenida se procedió a describir cada uno de los aspectos más relevantes obtenidos en los documentos seleccionados con la ayuda de tablas para posteriormente en base a los objetivos propuestos de la investigación colocarlos dentro del marco de resultado.

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Propiedades fisicoquímicas de las enzimas coagulantes presentes en la flor del cardo (*Cynara Cardunculus L.*)

Tabla 1-3: Propiedades fisicoquímicas de las enzimas coagulantes presentes en la flor del cardo (*Cynara Cardunculus L.*)

Autor	Enzima	Temperatura	pH	Porcentaje de la actividad enzimática total obtenida
(Alavi y Momen, 2020, pp. 1-11)	Cardosina A	37 °C- 65 °C	2-7	75%
	Cardosina B	37 °C- 65 °C	2-7	25%
(Amira et al., 2017a, pp. 76-93)	Cardosina A	30 °C- 37°C	3-7	75-90%
	Cardosina B	30 °C- 37 °C	3-7	10- 25%
(Guevara y Dalaleo, 2018, pp. 21-41)	Cardosina A	32–37 °C	6,3-6,8	80%
	Cardosina B	32–37 °C	6,3-6,8	20%
(Amira et al., 2017b, pp. 150-158)	Cardosina A	30 °C	3-6	75-90%
	Cardosina B	30 °C	3-6	25-10%
(Barracosa et al., 2018, pp. 1-20)	Cardosina A	30 °C	4,5	75-90%
	Cardosina B	30 °C	4,5	10- 25%

Realizado por: Changoluisa Maycol, 2022

La tabla 1-3 detalla las características fisicoquímicas de las enzimas coagulantes obtenidas a partir de las flores del cardo, Alavi y Momen (2020, pp. 1-11), empleando el extracto crudo de las flores de cardo determinaron que dichas enzimas pueden actuar en un rango amplio de temperaturas 37-65 °C y pH de 2-7 registrándose el pico de actividad a los 60 °C con un pH de 5,5. Del total de la actividad enzimática registrada el 75 % corresponde a la cardosina A y el 25 % restante corresponde a la cardosina B. Por su parte Amira et al. (2017a, pp. 76-93), determino que dichas enzimas presentan su pico de actividad a los 30 °C con un pH de 6,5 y del total de la actividad enzimática registrada del 75 al 90 %, por el contrario del 10 al 25 % de la actividad enzimática corresponde a la cardosina B. Guevara y Dalaleo (2018, pp. 21-41) determinaron el pico de actividad de las enzimas de las flores de cardo a una temperatura de 32 °C con un pH de 6,3, además el porcentaje de actividad enzimática que posee la cardosina A es igual al 80%, por el contrario, el 20% le corresponde a la cardosina B. Amira et al. (2017b, pp. 150-158), determinaron el pico de actividad de las enzimas a una temperatura de 30 °C con un pH de 4,5, además en términos de especificidad la cardosina A se asemeja a la quimosina responsable de la actividad coagulante con un total del 75 al 90 % de la actividad enzimática, por su parte la cardosina B se asemeja a la

pepsina responsable de la actividad proteolítica con un total del 10 al 25 % de la actividad enzimática. Finalmente, Barracosa et al. (2018, pp. 1-20), determinaron que el extracto de flor de cardo presenta un pico de actividad a una temperatura de 30 °C con un pH de 4,5 y del total de la actividad enzimática registrada del 75 al 90 % corresponde a la cardosina A, por lo tanto, del 10 al 25 % corresponde a la cardosina B.

Con base a los resultados registrados por los autores podemos afirmar que las enzimas presentes en las flores del cardo se dividen en dos principales siendo estas las cardosinas A y las cardosinas B, por parte de la cardosina A le corresponde entre el 75 y 90 % del total de la actividad enzimática, dicha enzima presenta una especificidad y términos cinéticos similares a la quimosina por lo cual se la vincula con la actividad coagulante, con respecto a la cardosina B esta presenta una especificidad y términos cinéticos semejantes a la pepsina por lo cual se vincula a esta enzima con la actividad proteolítica, además del 100 % de la actividad enzimática a la cardosina B le corresponde del 10 al 25 %. Cabe destacar que ambas enzimas se ven beneficiadas en medios ácidos determinándose un rango de pH óptimo entre 3 y 6,5, asimismo con base a los resultados se determinó que dichas enzimas extraídas a partir de flores secas o liofilizadas presentan un pico de actividad a temperaturas dentro del rango de 30 y 32 °C.

En el estudio realizado por Alavi y Momen (2020, pp. 1-11) se determinó que el pico de actividad enzimática se registra a los 60 °C manteniéndose un medio ácido como en los demás casos estudiados. Esta variación tan evidenciada podría deberse a la fuente de enzimas coagulantes ya que el autor empleo un extracto crudo de las flores del cardo, por el contrario, en los demás estudios se partió de las flores secas o liofilizadas del cardo para la obtención del cuajo.

3.2. Usos de las enzimas coagulantes presentes en la flor de cardo (*Cynara Cardunculus L.*)

En Ecuador la producción de queso se realiza empleando cuajo comercial de origen animal, por el contrario, los coagulantes vegetales no son empleados en la elaboración de los mismos la principal causa es el desconocimiento de otros tipos de coagulantes.

En su investigación Liburdi et al. (2019, pp. 1-13), empleo los pistilos secos de *Cynara cardunculus L.* como agente coagulante resultando ser la enzima más adecuada para la elaboración de quesos a partir de leche de oveja esto se debe a que presenta propiedades coagulantes similares al cuajo convencional. Alavi y Momen (2020, pp. 1-11), al usar flores del cardo registraron una elevada actividad proteolítica la misma que puede mejorar el proceso de maduración de quesos y a su vez evitar defectos relacionadas con la hidrólisis inadecuada de las proteínas de la leche, este coagulante es capaz de liberar péptidos bioactivos dentro de las moléculas de caseína lo cual

provoca mayor contenido de antioxidante, asimismo mayor actividad antirradical y quelante en los quesos comparados a los elaborados con cuajo de ternera. Amira et al. (2020, pp. 1331–1340), obtuvieron en sus resultados que el optimizado de *Cynara cardunculus* L. produjo una cuajada con propiedades de rendimiento, color, textura y viscoelasticidad similares a la cuajada obtenida usando quimosina convencional por lo cual el cuajo de flor de cardo podría reemplazar con éxito al cuajo de ternera. Además, se demostró que una salmuera con una concentración del 15 % reduce exitosamente la actividad proteolítica en los quesos, a este nivel de sal también se registró mayor dureza, gomosidad, viscoelasticidad y rendimiento. Almeida y Simões (2018, pp. 4675–4686), demostraron que la actividad coagulante del cardo se restringe a la flor específicamente al estigma y el estilo, el principal cambio bioquímico que se produce durante la maduración es la proteólisis de la caseína la cual afecta la textura, aroma y sabor de los quesos maduros. Los extractos de cardo hidrolizan con mayor eficiencia la caseína de la leche de cabra y oveja por lo cual los quesos elaborados a partir de estas materias primas resultan con mayor cremosidad, texturas más suaves y a su vez les otorga características especiales como por ejemplo un ligero picor. Estrada et al. (2019, pp. 621-623), indicaron que durante 150 días de maduración el tipo de coagulante no influyó en la dureza de los quesos tanto en la pasta como en la corteza, por lo cual se concluye que bajo las condiciones expuestas en la investigación titulada “Elaboración de queso pasta dura con coagulante vegetal (*Cynara cardunculus* L.): efecto en la textura instrumental durante la maduración” los extractos de flores de cardo podrían ser empleados como agente coagulante en la elaboración de quesos de oveja de pasta dura.

Con base a la información recopilada podemos afirmar que los cuajos obtenidos a partir de las flores de cardo fueron empleados de manera exitosa en la elaboración de quesos de cabra y de oveja. Ya que las cuajadas registradas presentan características similares a las cuajadas elaboradas con quimosina. Además, que el cuajo de cardo otorga características especiales en los quesos como por ejemplo un ligero picor.

La tabla 2-3 hace referencia a las características organolépticas que presenta el queso al emplear coagulante vegetal a partir de las flores del cardo.

Tabla 2-3: Características organolépticas del queso empleando cuajo extraído del cardo

Origen de la leche	Método	Características	Referencia
Ovino	Flores de cardo en polvo	Olor ácido Textura firme y cremosa Sabor ácido y picante	(Galán et al., 2012, p. 94)
Ovino	Extracto de <i>Cynara cardunculus</i> L.	Coloración amarilla Alta iluminosidad Sabor salado, ácido, picante y amargo Textura dura y gomosa	(Escolar, 2016, pp. 155-166)
Ovino	Extracto de <i>Cynara cardunculus</i> L.	Corteza uniforme Aroma intenso Textura firme Sabor amargo, salado picante y ácido Olor ácido	(Leal, 2020, pp. 28-47)

Realizado por: Changoluisa Maycol, 2022

Al emplear como coagulante las enzimas de la flor de cardo se puede apreciar que sus características resultan ser aceptadas principalmente aquellos procedentes de la leche de oveja como se describe anteriormente este cuajo mejora las características de este tipo de queso haciéndolo llamativo para el consumidor gracias a su olor ácido, sabor picante, ácido, amargo y salado y a su textura cremosa como fueron las investigaciones de (Galán et al., 2012, p. 94; Escolar, 2016, pp. 155-166; Leal, 2020, pp. 28-47).

3.3. Rendimiento de quesos elaborados con enzimas coagulantes extraídas de la flor del cardo (*Cynara Cardunculus* L.)

Tabla 3-3: Rendimiento del cuajo ternera

Autor	Origen de leche	Agente coagulante	Temperaturas	Índice de coagulación de leche
(Liburdi et al., 2019, pp. 1-13)	Bovinos	Cuajo de ternera	50 °C	447,75±2,54
			60 °C	2311,78±7,60
			70 °C	2532,74±16,06
	Ovinos	Cuajo de ternera	50°C	540,93±40,03
			60 °C	1839,26±40,02
			70 °C	1528,77±30,08

Realizado por: Changoluisa Maycol, 2022

En la tabla 3-3, Liburdi et al. (2019, pp. 1-13), detallan el rendimiento del cuajo de ternera en leche de bovinos y ovinos en el caso de los bovinos el índice de rendimiento y la temperatura presentan una relación directamente proporcional de este modo mientras mayor sea la temperatura a la que se añade el cuajo mayor será el rendimiento registrándose el mejor valor a una temperatura de 70 °C con un rendimiento de $2532,74 \pm 16,06$. Para el caso de los ovinos no existe una relación directamente proporcional ya que se evidencia un menor rendimiento a 70 °C con un valor de $2532,74 \pm 16,06$, a diferencia de los 60 °C con un valor de $1839,26 \pm 40,02$ siendo este el mejor valor.

Tabla 4-3: Rendimiento del cuajo extraído del cardo

Autor	Tipo de leche	Agente coagulante	Temperaturas	Índice de coagulación de leche
(Liburdi et al., 2019, pp. 1-13)	Bovinos	Extracto de <i>Cynara cardunculus</i> L.	50 °C	$17,51 \pm 0,27$
			60 °C	$21,17 \pm 0,14$
			70 °C	$11,21 \pm 0,252$
(Liburdi et al., 2019, pp. 1-13)	Ovinos	Extracto de <i>Cynara cardunculus</i> L.	50 °C	$41,40 \pm 3,50$
			60 °C	$87,72 \pm 3,04$
			70 °C	$82,31 \pm 3,05$
(Liburdi et al., 2019, pp. 1-13)	Búfalo	Extracto de <i>Cynara cardunculus</i> L.	50 °C	$24,11 \pm 2,01$
			60 °C	$73,28 \pm 3,04$
			70 °C	$36,21 \pm 2,03$
(Liburdi et al., 2019, pp. 1-13)	Caprino	Extracto de <i>Cynara cardunculus</i> L.	50 °C	$18,41 \pm 3,08$
			60 °C	$110,33 \pm 10,02$
			70 °C	$37,39 \pm 5,05$

Realizado por: Changoluisa Maycol, 2022

Liburdi et al. (2019, pp. 1-13) detallan en la tabla 4-3 el rendimiento del cuajo vegetal extraído del cardo en leche de diferentes especies. Para el caso de los bovinos se registró el mayor índice de rendimiento a 60 °C con un valor de $21,17 \pm 0,14$, y el menor índice de rendimiento a 70 °C con un valor de $11,21 \pm 0,252$. En el caso de los ovinos se registró el mayor índice de rendimiento a 60 °C con un valor de $87,72 \pm 3,04$ por el contrario el menor índice se registró a 50 °C con un valor de $41,40 \pm 3,50$. Para la leche de búfalo se registró un valor de $73,28 \pm 3,04$ como índice de rendimiento a 60 °C siendo este el más alto, asimismo se determinó el menor índice de rendimiento a 50 °C con un valor de $24,11 \pm 2,01$. Y finalmente para los caprinos se registró el mayor índice de rendimiento a 60 °C con un valor de $110,33 \pm 10,02$ por el contrario el menor índice fue registrado a 50 °C con un valor de $18,41 \pm 3,08$.

Según los datos analizados podemos afirmar que el extracto de *Cynara cardunculus* L. tiene una mejor actividad coagulante a una temperatura de 60 °C como se evidencio en todos los casos

analizados, no obstante al comparar el rendimiento entre especies se determinó que la leche de bovino no debe ser considerada como una opción para utilizar este coagulante ya que el índice de rendimiento que presenta es extremadamente bajo por el contrario en especies ovinas, caprinas y búfalo se obtuvieron índices de rendimientos elevados.

Tabla 5-3: Rendimiento de cuajo de origen vegetal y cuajo convencional

Autor	Tipo de leche	Agente coagulante	pH	Temperatura de coagulación	rendimiento de cuajada	% de rendimiento
(Amira et al., 2020, pp. 1331–1340)	Bovino	Cuajo de cardo salvaje optimizado	3	35 °C	18.16±0,33 (g / 100 g)	18,16±0,33
	Bovino	Quimosina comercial	3	35 °C	18,62±0,53 (g / 100 g)	18,62±0,53
(Benheddi y Hellal, 2019, pp. 3431–3438)	Bovino	Flores de cardo secadas por el método tradicional	4,42-4,90	30 °C	127,9 a 185,66 g / L	15,68±2,89
	Caprino	Flores de cardo secadas por el método tradicional	4,42-4,90	30 °C	185,1 a 215,4 g / L	20,025±1,515
(Estrada et al., 2019, pp. 618-620)	Ovino	Macerado de pistilos de flores de cardo	5,4-5,55	34 °C	4,54±0,25 litros por kilogramo	22,095±1,215
	Bovino	Cuajo de ternera comercial	5,4-5,55	30 °C	4,43±0,33 litros por kilogramo	22,695±1,695
(Amira et al., 2017b)	Ovino	Flores frescas				17,34±0,26
	Ovino	Flores liofilizadas				15,29±0,05
	Ovino	Flores secadas naturalmente				13,63±0,05
	Ovino	Quimosina				18,16±0,53

Realizado por: Changoluisa Maycol, 2022

Con respecto a los bovinos en la tabla 5-3, Amira et al. (2020, pp. 1331–1340), evaluaron el rendimiento del cuajo de cardo salvaje optimizado y la quimosina comercial a un pH ácido de 3

con una temperatura igual a 35 °C obteniendo un rendimiento igual a $18,16 \pm 0,33\%$, para el caso del cardo y $18,62 \pm 0,53\%$ para la quimosina comercial. Se puede evidenciar valores similares esto podría deberse a que se empleó un cuajo de cardo salvaje optimizado en lugar de un extracto crudo o a su vez una infusión de flores secas.

Benheddi y Hellal (2019, pp. 3431–3438), compararon el rendimiento de un cuajo obtenido a partir de flores de cardo secadas por el método tradicional en dos especies, se consideró un pH ácido dentro del rango de 4,42 hasta 4,90 y una temperatura de 30 °C registrándose un rendimiento de $15,68 \pm 2,89\%$ para los bovinos y $20,025 \pm 1,51\%$ para los caprinos.

Estrada et al. (2019, pp. 618-620) compararon el rendimiento del cuajo de ternera con el macerado de los pistilos de las flores de cardo, en ambos casos se empleó un pH ácido y una temperatura que no exceda de los 34 °C. En la leche proveniente de ovinos se registró un rendimiento de $22,095 \pm 1,215\%$, por el contrario, se determinó un rendimiento igual a $22,695 \pm 1,695\%$ en la leche de bovino. En ambos casos se puede evidenciar valores similares llegando así a la conclusión que las enzimas coagulantes presentes en las flores del cardo coagulan de manera exitosa la leche de oveja.

En leche de ovejas, Amira et al. (2017b, pp. 155-158) llevaron a cabo una comparación de la quimosina con las enzimas coagulantes de las flores del cardo en diferentes estados siendo estas flores frescas, flores liofilizadas y flores secadas naturalmente, los hallazgos demostraron que las flores frescas presentan el mejor rendimiento con un valor de $17,34 \pm 0,26\%$ no obstante esta fuente de enzimas fue descartada ya que la cuajada presentaba pobres características en cuanto a la dureza y elasticidad. Por el contrario, las flores liofilizadas presentaron un rendimiento de $15,29 \pm 0,05\%$ dicha fuente de enzimas dio como resultado una cuajada con características apropiadas en cuanto a la dureza y elasticidad, además el rendimiento se encuentra cercano al de la quimosina $18,61 \pm 0,53\%$.

De acuerdo a los porcentajes de rendimiento se demostró que la leche de origen bovino presenta menor rendimiento en comparación con otras especies en este caso caprinos y ovinos al ser coagulados con las enzimas del cardo, además nuevamente presenciamos el uso de un pH ácido y una temperatura que no excede de los 35 °C como se detalló en la tabla 1-1, dichas condiciones son las ideales cuando la fuente de enzimas coagulantes son flores secas o liofilizadas del cardo.

CONCLUSIONES

- Las flores del cardo presentan dos grupos principales de enzimas siendo estas las cardosinas A y B, en términos cinéticos se asemejan a la quimosina y pepsina respectivamente. Además, dichas enzimas se ven beneficiadas en pH ácidos determinándose un rango de actuación óptima entre 3 y 6,5, asimismo su pico de actividad se registró a temperaturas dentro del rango de 30 y 32 °C.
- Las enzimas obtenidas a partir de las flores de cardo fueron empleadas de manera exitosa en la elaboración de quesos de cabra y de oveja. Ya que las cuajadas registradas presentan características similares a las cuajadas elaboradas con quimosina. Además, que el cuajo de cardo otorga características especiales en los quesos como por ejemplo un ligero picor.
- Al comparar el rendimiento de los quesos elaborados con enzimas coagulantes extraídas de las flores de cardo a partir de leche de diferentes especies se determinó que la leche de bovino no debe ser considerada como una opción para utilizar este coagulante ya que el índice de rendimiento que presenta es extremadamente bajo por el contrario en especies ovinas, caprinas y búfalo se obtuvieron índices de rendimientos elevados.

RECOMENDACIONES

- Emplear las enzimas coagulantes de las flores del cardo en la elaboración de quesos a partir de la leche de caprinos u ovinos debido a que presentan un buen rendimiento y mejor características organolépticas que la leche de bovinos.
- Continuar con la investigación empleándose las cardosinas en la elaboración de otros tipos de quesos para evaluar el efecto coagulante y proteolítico
- Socializar las distintas características que otorgan las enzimas de las flores del cardo en la elaboración de quesos ya que estas podrían representar una importante innovación en la industria quesera ecuatoriana.

GLOSARIO

Cardo: planta con hojas espinosas y tallos altos que se adapta fácilmente a cualquier tipo de clima es robusta y no domesticada (Ordiales, 2012, p. 35).

Cardosina: enzima obtenida de los estigmas de las flores de cardo (Llorente, 2002, p.65).

Caseína: proteína que se encuentra presente en la leche y posee un valor biológico elevado (González, 2018, párr. 2).

Coagulación: etapa mediante la cual se inicia la transformación para la obtención de queso mediante la coagulación de las caseínas de la leche (González, 2017, pp. 14-16).

Coagulante: sustancia obtenida de manera natural o artificial que da origen a la formación de masas en un medio líquido (Bravo, 2017, p. 15-16).

Cromatografía de intercambio aniónico: método en donde una fase estacionaria desplaza a grupos funcionales cargados con aniones mediante el cual se mide la concentración de aniones como el flúor, nitratos, sulfatos, etc. (Mayolo et al., 2012, p. 419).

Cuajada: producto semisólido obtenido por la acción de las enzimas del cuajo en la leche (NTE INEN 2586, 2013, p. 2).

Cuajo: enzima que interviene en la formación del coágulo para la elaboración del queso (Tonche, 2005, p. 6).

Enzimas: proteínas compuestas por aminoácidos encargadas de un sin número de reacciones químicas (Ramírez et al., 2014, p. 2).

Glicomacropéptido: proteína presente en la leche que se produce por la degradación de la caseína por la acción del cuajo a lo largo del proceso de fabricación de queso (García y Mayorga, 2015, p. 267).

Hidrolisis: reacción química que consiste en la ruptura de los enlaces de la molécula de agua para incorporar en uno o ambos iones de agua amidas, ésteres, haluros de alquilo, etc. (Flores et al., 2008, pp. 136-137).

Peptidasa: enzima encargada de romper los enlaces peptídicos de las proteínas (Alburqueque y Zapata, 2018, p. 277).

Pistilo: órgano femenino de la flor formado por tres partes funcionales que son estigma, estilo y ovario (Amador et al., 2016, p. 3).

Proteólisis: proceso que ocurre en la maduración de los quesos provocando la textura característica de los quesos y su flavor (Ordiales, 2012, p. 23).

Suero: subproducto obtenido mediante la separación del coágulo de la leche en la fabricación del queso por la acción del cuajo (Poveda, 2013, p. 397).

BIBLIOGRAFÍA

ALAVI, F.; & MOMEN, S. “Aspartic proteases from thistle flowers: Traditional coagulants used in the modern cheese industry”. *International Dairy Journal* [en línea], 2020, (Canadá) 107(1), pp. 1-11. [Consulta: 07 octubre 2021]. ISSN: 0958-6946. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104709>.

ALBURQUEQUE, D.; & ZAPATA, M. “Determinación de la actividad inhibidora de proteasas del extracto acuoso de los órganos vegetativos y reproductivos de *Ismene amancaes* (Ker Gawl.) Herb. (Amaryllidaceae) “amancaes” endémica del Perú”. *Arnaldoa* [en línea], 2018, (Perú) 25(1), pp. 273-286. [Consulta: 02 febrero 2022]. ISSN: 2413-3299. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/arnal/v25n1/a15v25n1.pdf>.

ALMEIDA, C.; & SIMÕES, I. “Cardoon-based rennets for cheese production”. *Applied Microbiology and Biotechnology* [en línea], 2018, (Alemania) 102(11), pp. 4675-4686. [Consulta: 09 noviembre 2021]. ISSN: 1432-0614. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9032-3>.

AMADOR, A.; et al. *Botánica III* [en línea]. Hidalgo-México: Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, 2016, p. 3. [Consulta: 08 febrero 2022]. Disponible en: http://bios.biologia.umich.mx/obligatorias/botanica/manu_botan_3_23agos2016.pdf.

AMIRA, A; et al. “Effect of brine concentration on physico-chemical characteristics, texture, rheological properties and proteolysis level of cheeses produced by an optimized wild cardoon rennet”. *Journal of Food Science and Technology* [en línea], 2020, (India) 58(4), pp. 1331-1340. [Consulta: 07 octubre 2021]. ISSN: 0975-8402. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04643-8>.

AMIRA, A; et al. “Milk-clotting properties of plant rennets and their enzymatic, rheological, and sensory role in cheese making: A review”. *International Journal of Food Properties* [en línea], 2017a, (Túnez) 20(1), pp. 76-93. [Consulta: 03 septiembre 2021]. ISSN: 1532-2386. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1289959>.

AMIRA, A; et al. “Technological properties of milk gels produced by chymosin and wild cardoon rennet optimized by response surface methodology”. *Food Chemistry* [en línea], 2017b, (Túnez) 237, pp. 150-158. [Consulta: 08 septiembre 2021]. ISSN: 0308-8146. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.105>.

BARBOSA, C.; et al. “A New Insight on Cardoon: Exploring New Uses besides Cheese Making with a View to Zero Waste”. *Foods* [en línea], 2020, (Portugal) 9(5), pp. 2-3. [Consulta: 03 septiembre 2021]. ISSN: 2304-8158. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/foods9050564>.

BARRACOSA, P.; et al. “Selected Cardoon (*Cynara cardunculus* L.) Genotypes Suitable for PDO cheeses in Mediterranean Regions”. *Chemistry & Biodiversity* [en línea], 2018, (Portugal) 15(7), pp. 1-21. [Consulta: 10 octubre 2021]. ISSN: 1612-1880. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cbdv.201800110>.

BENHEDDI, W.; & HELLAL, A. “Technological characterization and sensory evaluation of a traditional Algerian fresh cheese clotted with *Cynara cardunculus* L. flowers and lactic acid bacteria”. *Journal of Food Science and Technology* [en línea], 2019, (India) 56(7), pp. 3431-3438. [Consulta: 21 diciembre 2021]. ISSN: 0975-8402. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03828-0>.

BRAVO, M. Coagulantes y floculantes naturales usados en la reducción de turbidez, sólidos suspendidos, colorantes y metales pesados en aguas residuales (Trabajo de titulación) (Doctorado) [en línea]. Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Facultad de Ciencias y Educación. Bogotá-Colombia. 2017, pp. 15-16. [Consulta: 29 enero 2022]. Disponible en: <https://repository.udistrital.edu.co/bitstream/handle/11349/5609/BravoGallardoMonicaAlejandra2017.pdf;jsessionid=CAB7B28D03FDD3784D86C9EEAFB55C14?sequence=1>.

BYLUND, G. *Manual de Industrias Lácteas* [en línea]. Madrid-España: Editorial Mundi-Prensa, 2003. [Consulta: 05 noviembre 2021]. ISBN: 9788489922815. Disponible en: <https://www.casadellibro.com/libro-manual-de-industrias-lacteas/9788489922815/875434>.

CAMPOS, R.; et al. “Chemical Characterization of Proteases Extracted from Wild Thistle (*Cynara cardunculus*)”. *Food Chemistry* [en línea], 1990, (Chile) 35(2), pp. 89–97. [Consulta: 21 diciembre 2021]. ISSN: 0308-8146. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(90\)90023-W](https://doi.org/10.1016/0308-8146(90)90023-W).

CONABIO. *Cynara cardunculus* L. [en línea]. México D.F.-México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, 2016. [Consulta: 11 noviembre 2021]. <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/cynara-cardunculus/fichas/ficha.htm>.

ESCOLAR, E. Producción, composición y características de la leche y del queso en la oveja Guirra (Trabajo de titulación) (Doctorado) [en línea]. Universitat Politècnica de València,

Departamento de Ciencia Animal. Valencia -España. 2016. pp.155-166. [Consulta: 29 enero 2022]. Disponible en: <https://riunet.upv.es/handle/10251/63451>.

ESTRADA, O. *Opiniones y experiencias* [en línea]. Aragón-España: Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón, 2019, p. 1. [Consulta: 01 agosto 2021]. Disponible en: https://citarea.cita-aragon.es/citarea/bitstream/10532/4685/1/2019_205.pdf.

ESTRADA, O.; et al. *Jornadas sobre producción animal* [en línea]. Zaragoza-España: Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario, 2019, pp. 618-623. [Consulta: 18 diciembre 2021]. Disponible en: https://www.aida-itea.org/aida-itea/files/jornadas/2019/Libro_Jornadas_AIDA_2019.pdf.

FLORES, J.; et al. “Una interpretación aproximativa del concepto de hidrólisis en estructuras peptídicas en un curso de bioquímica del IPC en el contexto de la teoría de los campos conceptuales de Vergnaud”. *Revista de Investigación* [en línea], 2008, (Venezuela) 32(64), pp. 135-160. [Consulta: 08 febrero 2022]. ISSN: 1010-2914. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S1010-29142008000200007&script=sci_abstract.

GALÁN, E.; et al. “Proteolysis, microbiology and sensory properties of ewes’ milk cheese produced with plant coagulant from cardoon *Cynara cardunculus*, calf rennet or a mixture thereof”. *International Dairy Journal* [en línea], 2012, (Netherlands) 25(2), pp. 92-96. [Consulta: 23 enero 2022]. ISSN: 0958-6946. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S095869461200043X>.

GARCÍA, A.; & MAYORGA, E. “Correlación de glicomacropéptido de lacto suero dulce con proteasas de bacterias psicrótrofas e identificación de leche adulterada”. *Revista Congreso de Ciencia y Tecnología ESPE* [en línea], 2015, (Ecuador) 10(1), pp. 267-270. [Consulta: 08 febrero 2022]. ISSN: 1390-4671. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/281099640_Correlacion_de_glicomacropéptido_de_lacto_suero_dulce_con_proteasas_de_bacterias_psicrótrofas_e_identificación_de_leche_adulterada.

GARCÍA, V. Estudio del empleo de coagulantes vegetales en la elaboración de quesos de cabra (Trabajo de titulación) (Doctoral) [en línea]. Universidad de Murcia, Facultad de Veterinaria, Departamento de Tecnología de los Alimentos. Murcia-España. 2015, p. 23. [Consulta: 31 julio 2021]. Disponible en: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/310411/TVGA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

GONZÁLEZ, I.; et al. Uso de optigraph para estimar capacidad coagulativa de leche de vaca en un rodeo comercial (Trabajo de titulación) (Doctorado) [en línea]. Universidad de la República, Facultad de Veterinaria. Montevideo-Uruguay. 2017, pp. 14-16. [Consulta: 02 febrero 2022]. Disponible en: <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/24969/1/FV-33038.pdf>.

GONZÁLEZ, P. *Qué es la caseína y para qué sirve. Proteínas de absorción lenta* [blog]. 2018. [Consulta: 03 febrero 2022]. Disponible en: <https://www.axahealthkeeper.com/blog/que-es-caseina-y-para-que-sirve-proteinas-absorcion-lenta/>.

GUEVARA, M.; & DALALEO, G. *Biotechnological Applications of Plant Proteolytic Enzymes* [en línea]. Suiza: Springer Cham, 2018. [Consulta: 09 de diciembre 2021]. ISBN: 978-3-319-97132-2. Disponible en: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-319-97132-2>.

LAG, A. Utilización de compost de lodo de depuradora para la producción de cardo (*Cynara cardunculus* L.), como cultivo energético (Trabajo de titulación) (Doctoral) [en línea]. Universidad Miguel Hernández de Elche, Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente, Elche-España. 2014, pp. 68-70. [Consulta: 10 noviembre 2021]. Disponible en: <http://dspace.umh.es/bitstream/11000/5173/6/Tesis%20Lag%20Brotons%2c%20Alfonso%20Jos%C3%A9.pdf>.

LAMAS, E.; et al. “Hydrolysis of whey proteins by proteases extracted from *Cynara cardunculus* and immobilized onto highly activated supports”. *Enzyme Microbiology and Technology* [en línea], 2001, (Portugal) 28(7-8), pp. 642-652. [Consulta: 17 diciembre 2021]. ISSN: 1879-0909. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141022901003088>.

LEAL, M. Avaliação sensorial do queijo de Évora: efeito dos ecótipos de *Cynara cardunculus* L. (Trabajo de titulación) (Masterado) [en línea]. Universidade de Évora, Escola de Ciência e Tecnologia. Évora-Portugal. 2020, pp. 28-47. [Consulta: 10 enero 2022]. Disponible en: http://dspace.uevora.pt/rdpc/bitstream/10174/27988/1/Mestrado-Engenharia_Zootecnica-Maria_Francisca_Leal_Machado.pdf.

LIBURDI, K.; et al. “An Evaluation of the Clotting Properties of Three Plant Rennets in the Milks of Different Animal Species”. *Foods* [en línea], 2019, (Italia) 8(12), pp. 1-13. [Consulta: 09 agosto 2021]. ISSN: 2304-8158. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/foods8120600>.

LLORENTE, B. Aislamiento, purificación, caracterización y producción in vitro de peptidasas de alcaucil coagulantes de la leche (Trabajo de titulación) (Doctorado) [en línea]. Universidad Nacional de la Plata, Facultad de Ciencias Exactas. Buenos Aires-Argentina. 2002, p. 65. [Consulta: 01 febrero 2022]. Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/2211>.

MACEDO, A.; & MALCATA, F. “Changes in the Major Free Fatty Acids in Serra Cheese Throughout Ripening”. *International Dairy Journal* [en línea], 1996, (Portugal) 6(11-12), pp. 1087-1097. [Consulta: 17 diciembre 2021]. ISSN: 0958-6946. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958694696000325?via%3Dihub>.

MALLMA, A. Efecto del cuajo vegetal látex de higuera (*Ficus carica* Linnaeus) en la elaboración del queso fresco (Trabajo de titulación) (Ingeniería) [en línea]. Universidad Nacional José María Arguedas, Facultad de Ingeniería, Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial. Andahuaylas-Perú. 2017, pp. 11-14. [Consulta: 08 noviembre 2021]. Disponible en: <https://docplayer.es/58786704-Universidad-nacional-jose-maria-arguedas-efecto-del-cuajo-vegetal-latex-de-higuera-ficus-carica-linnaeus-en-la-elaboracion-del-queso-fresco.html>.

MAYOLO, K.; et al. “Técnicas cromatográficas y su aplicación a estudios de cambios conformacionales, estabilidad y replegamiento de proteínas”. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* [en línea], 2012, (México) 11(3), pp. 415-429. [Consulta: 08 febrero 2022]. ISSN: 1665-2738. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v11n3/v11n3a6.pdf>.

NOLIVOS, M. Uso de cuajo vegetal (Leche de Higo Verde - *Ficus Carica Linnaeus*) para la elaboración de queso fresco (Trabajo de titulación) (Ingeniería) [en línea]. Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Carrera Ingeniería en Alimentos. Ambato-Ecuador. 2011, pp. 13-41. [Consulta: 05 noviembre 2021]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3258/1/PAL262.pdf>.

NTE- INEN 1528:87. *Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano. Listas positivas. Requisitos.*

NTE INEN 2586. *Cuajada Natural. Requisitos.*

NTE-INEN 0009:09. *Leche cruda. Requisitos.*

NTE-INEN 62. *Quesos clasificación y designaciones.*

ORDIALES, E. Caracterización del Cardo (*Cynara cardunculus* L.) para su uso como cuajo vegetal en el proceso de elaboración de la torta del casar (Trabajo de titulación) (Doctorado) [en línea]. Universidad de Extremadura, Escuela de Ingenierías Agrarias Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Badajoz-España. 2012, pp. 23-65. [Consulta: 17 diciembre 2021]. Disponible en: https://dehesa.unex.es/bitstream/10662/486/1/TDUEX_2013_Ordiales_Rey.pdf.

POVEDA, E. “Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad”. Revista Chilena de Nutrición [en línea], 2013, (Chile) 40(4), pp. 397-403. [Consulta: 08 febrero 2022]. ISSN: 0716-1549. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/469/46929416011.pdf>.

RAMALHO, M.; et al. “Identification and proteolytic processing of procardosin A”. European journal of biochemistry [en línea], 1998, (Portugal) 255(1), pp. 133-138. [Consulta: 17 de diciembre 2021]. ISSN: 1432-1033. Disponible en: <https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1432-1327.1998.2550133.x>.

RAMÍREZ, J.; et al. “Enzimas: ¿Qué son y cómo funcionan?”. Revista Digital Universitaria [en línea], 2014, (México) 15(12), pp. 1-13. [Consulta: 01 febrero 2022]. ISSN: 1607-6079. Disponible en: <http://www.revista.unam.mx/vol.15/num12/art91/art91.pdf>.

ROA, I.; et al. “Residual clotting activity and ripening properties of vegetable rennet from *Cynara cardunculus* in La Serena cheese”. Food Research International [en línea], 1999, (España) 32(6), pp. 413-419. [Consulta: 17 diciembre 2021]. ISSN: 0963-9969. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996999000988>.

SALES, M.; & LIMA, E. “Immobilization of Endoproteases from Crude Extract of *Cynara cardunculus* L. Flowers”. Food Science and Technology International [en línea], 2008, (Portugal) 14(3), pp. 271-276. [Consulta: 18 diciembre 2021]. ISSN: 1532-1738. Disponible en: <https://doi.org/10.1177%2F1082013208095688>.

SÁNCHEZ, A. Elaboración de un manual de operaciones para el proceso de fabricación de queso fresco de calidad en la empresa AYCHAPICHO AGRO´S S.A. (Trabajo de titulación) (Ingeniería) [en línea]. Escuela Politécnica Nacional, Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria, Ingeniería Agroindustrial. Quito-Ecuador. 2015, p. 6. [Consulta: 14 noviembre 2021]. Disponible en: <https://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/10471>.

SIMÕES, I.; & FARO, C. "Structure and function of plant aspartic proteinases". European journal of biochemistry [en línea], 2004, (Portugal) 271(11), pp. 2067–2075. [Consulta: 18 diciembre 2021]. ISSN: 1432-1033 Disponible en: <https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1432-1033.2004.04136.x>.

SOUSA, M.; & MALCATA, F. "Proteolysis of ovine and caprine caseins in solution by enzymatic extracts from flowers of *Cynara cardunculus*". Enzyme Microbiology and Technology [en línea], 1998, (Portugal) 22(5), pp. 305-314. [Consulta: 19 diciembre 2021]. ISSN: 1879-0909. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141022997001737>.

TONCHE, L. Determinación del pH óptimo para la proteasa obtenida del cardo (*Cynara cardunculus* L.) aplicable en la tecnología quesera (Trabajo de titulación) (Ingeniería) [en línea]. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro", División de Ciencia Animal. Coahuila-México. 2005, p. 6. [Consulta: 01 enero 2022]. Disponible en: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/341/T15014%20TONCHE%20LUNA%2c%20LUIS%20ARMANDO%20%20TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

ULLOA, J. "Estudio y análisis del sector quesero de la región sierra del ecuador, para la elaboración de un plan de mejora industrial enfocado en el desarrollo socioeconómico de las queseras". Observatorio de la Economía Latinoamericana [en línea], 2018, (Ecuador) 1(1), pp. 1-11. [Consulta: 05 noviembre 2021]. ISSN: 1696-8352. Disponible en: <https://www.eumed.net/rev/oel/2018/03/desarrollo-queseras-ecuador.zip>.

VERÍSSIMO, P.; et al. "The vegetable rennet of *Cynara Cardunculus* L. contains two proteinases with chymosin and pepsin-like specificities". Biotechnology letters [en línea], 1995, (Portugal) 17(6), pp. 621-626. [Consulta: 17 diciembre 2021]. ISSN: 0141-5492. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00129389>.

VIEIRA, M.; et al. "Molecular cloning and characterization of cDNA encoding cardosin B, an aspartic proteinase accumulating extracellularly in the transmitting tissue of *Cynara cardunculus* L.". Plant molecular biology [en línea], 2001, (Portugal) 45(5), pp. 529-539. [Consulta: 17 diciembre 2021]. ISSN: 1573-5028. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1010675015318>.


DIPLOMA
Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
Castillo





epoch

Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje

UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y
DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 19 / 09 / 2022

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: Maycol Alexander Changoluisa Maigua
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias Pecuarias
Carrera: Agroindustria
Título a optar: Ingeniero Agroindustrial
f. responsable: Ing. Cristhian Fernando Castillo Ruiz


Ing. Cristhian Castillo



1790-DBRA-UTP-2022