(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 166 719**

(21) Número de solicitud: 200001593

(51) Int. Cl.[7]: A23C 19/04

(12) PATENTE DE INVENCION B1

(22) Fecha de presentación: **27.06.2000**

(43) Fecha de publicación de la solicitud: **16.04.2002**

Fecha de concesión: **03.07.2003**

(45) Fecha de anuncio de la concesión: **16.08.2003**

(45) Fecha de publicación del folleto de patente: **16.08.2003**

(73) Titular/es: **UNIVERSIDAD DE CORDOBA**
Rectorado Universidad de Córdoba,
Alfonso XIII, n° 13
14001 Córdoba, ES

(72) Inventor/es: **Fernández-Salguero Carretero, José;**
Gómez Díaz, Rafael;
Tejada Portero, Luis y
Vioque Amor, Montserrat

(74) Agente: **Ungría López, Javier**

(54) Título: **Un coagulante vegetal en polvo, procedimiento para su preparación y sus aplicaciones en la fabricación de quesos.**

(57) Resumen:
Un coagulante vegetal en polvo, procedimiento para su preparación y sus aplicaciones en la fabricación de quesos.
El coagulante es un concentrado en polvo a base de enzimas coagulantes de las flores del cardo *C. cardunculus* (variedad silvestre), sustancialmente aséptico, con un contenido proteínico del 15-18 %, un pH de 4,8-5,2, una actividad de agua de 0,200-0,340, y una actividad coagulante de 0,031-0,042 RU.
Dicho coagulante se obtiene por extracción acuosa de dichas flores, congelación del extracto acuoso así obtenido y finalmente liofilización del mismo.
El coagulante se emplea en la obtención de quesos, en especial de quesos tradicionales elaborados a partir de leche de oveja, de cabra o de sus mezclas.

ES 2 166 719 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

Venta de fascículos: Oficina Española de Patentes y Marcas. C/Panamá, 1 – 28036 Madrid

DESCRIPCION

Un coagulante vegetal en polvo, procedimiento para su preparación y sus aplicaciones en la fabricación de quesos.

Campo técnico de la invención

La presente invención se encuadra dentro del sector lácteo y, en particular, del sector quesero, al cual proporciona un nuevo coagulante liofilizado que permite mejorar sensiblemente la fabricación de quesos, en especial, quesos de oveja tradicionales.

Estado de la técnica anterior a la invención

En muchas variedades de quesos pertenecientes a los países ribereños del Mar Mediterráneo se utilizan, desde la antigüedad, extractos acuosos crudos de las flores secas de cardos del género *Cynara* L. como coagulantes vegetales de la leche en sus procesos de fabricación. Los extractos acuosos de las flores de la especie *Cynara cardunculus* L. se utilizan en la fabricación de algunos quesos tradicionales españoles, tales como el queso de "Flor de Santa María de Guía" (Gran Canaria) elaborado con leche de oveja y vaca, en el "Queso de oveja del Andévalo" (Huelva) y en el de Los Pedroches (Córdoba), igualmente de leche de oveja.

En la fabricación de los quesos anteriormente mencionados, la utilización del coagulante vegetal coexiste con el uso de cuajo animal ya que éste es más fácil de utilizar y está absolutamente estandarizado. Sin embargo, la mayor apreciación de la calidad organoléptica de los quesos elaborados con coagulante o cuajo vegetal, que se traduce en una textura más fina y untuosa con mayor cremosidad en la degustación, así como en la fortificación del aroma y el sabor, hace que se esté volviendo hacia el uso de dicho coagulante vegetal. Prueba de ello es la obligatoriedad que imponen los Reglamentos de Denominación de Origen en el caso de los quesos de "La Serena" (Badajoz) y el de "Torta del Casar" (Cáceres) ambos de leche de oveja. El Reglamento definitivo del "Queso de la Serena" obliga, en su artículo 10°, a la utilización, como coagulante de la leche, del "cuajo vegetal natural proveniente de las flores desecadas del *Cynara cardunculus* (yerbacuajo)". Igualmente, en el caso del queso "Torta del Casar" que tiene Denominación de Origen provisional y actualmente se está redactando su Reglamento, obliga, en su artículo 11°, a la utilización del mismo cuajo vegetal.

En algunos quesos portugueses la situación es muy similar a la anteriormente descrita. Así, el principal queso de Portugal, el "Serra da Estrela" acogido al Reglamento de Denominación de Origen Controlada, solamente puede elaborarse con leche cruda producida en la misma región de Serra da Estrela y utilizando un extracto de las flores del cardo *C. cardunculus* L. como coagulante.

Las enzimas vegetales presentes en las flores, denominadas "ciprosinas" o "cardosinas" ejercen un efecto proteolítico específico sobre la *k-caseina, una proteína que actúa como coloide protector de la micela de caseína de la leche, que conlleva por efecto de su hidrólisis, la formación de la cuajada. Estas enzimas vegetales, además del efecto coagulante, tienen un eficaz efecto proteolítico inespecífico que es muy importante para el desarrollo de la maduración del queso y para la obtención de las características genuinas de los quesos fabricados con coagulante vegetal.

Este coagulante vegetal natural se recolecta directamente de los cardos silvestres que crecen espontáneamente en el campo, aunque también pueden ser cultivados. Con sus flores ya secas se preparan extractos acuosos crudos a base de dejar en maceración, durante unas 24 horas, cantidades variables de flores, según los distintos fabricantes en agua. A continuación el líquido resultante, que contiene las enzimas solubles extraídas, se adiciona directamente a la leche para su coagulación.

Por su parte, la utilización de los cuajos y otras enzimas coagulantes de la leche se regula por la Orden de 14 de enero de 1988 del Ministerio de Relaciones con las Cortes y de la Secretaria del Gobierno, por la que se aprueba la norma general de identidad y pureza para el cuajo y otras enzimas coagulantes de leche destinadas al mercado interior (BOE núm. 17, de 20 de enero de 1988). En dicha orden se indica la norma microbiológica que deben cumplir los cuajos o coagulantes vegetales, que es la siguiente:

- Recuento de colonias aerobias mesófilas: máximo 100.000 unidades formadoras de colonias o ufc/g o ml.
- *Enterobacteriaceae totales*: máximo 10 ufc/g o ml.
- *Escherichia coli*: máximo 1 ufc/g o ml.

- Mohos y levaduras: máximo 10 ufc/g o ml, además de ausencia de *Salmonella/Shigella*, *Staphylococcus aureus y Clostridium* sulfito-reductores en cantidades variables de cuajo.

A su vez, en el Código Alimentario [Colección de Textos Legales del Boletín Oficial del Estado, Quinta Edición, pg. 103, ISBN: 84-340-0303-1 (1988)] se indica que el cuajo no debe contener más de 25 coliformes por gramo o ml.

Otra normativa más reciente de orden de 20 de febrero de 1996 (BOE núm. 49 de 26 de febrero de 1.996, pags. 2738-2739), modifica la normativa correspondiente a la Orden de 14 de enero de 1988 antedicha relativa a identidad y pureza para el cuajo y otras enzimas coagulantes, si bien dicha modificación no afecta a la norma microbiológica exigida para estos productos indicada anteriormente.

Sin embargo, por lo general, el coagulante vegetal natural obtenido a partir de los extractos acuosos crudos de las flores del *C. cardunculus*, no suele cumplir las normas de higiene y sanidad que se le exige según las normativas anteriormente citadas ni se comercializa con registro sanitario. De hecho, los inventores han podido comprobar [Fernández-Salguero, J., Sánchez, E., Gómez, R., Vioque, M., Mata, C. y Tejada, L. Evaluación de la calidad microbiológica de cardos del género *Cynara*, empleados en la fabricación de quesos tradicionales. Pamplona, Septiembre -1998, XI Congreso Nacional de Microbiología de los Alimentos; y Fernández-Salguero, J., Sánchez, E., Gómez, R., Vioque, M., Mata, C. and Tejada, L. A preliminary study of microbiological quality of cardoons *Cynara* L. used in the manufacture of traditional cheeses. Michwissenchaft 54 (12), 688-690 (1999)] que dichos extractos acuosos contienen altos recuentos de colonias aerobias mesófilas (más de 150.000 ufc/ml), así como elevadas tasas de enterobacteriaceas (más de 150.000 ufc/ml) y coliformes (más de 3.000 ufc/ml); en el caso de los mohos se encontraron recuentos de 5 ufc/ml y para las levaduras, más de 3.000 ufc/ml.

Además de la falta de higiene, garantía y seguridad alimentaria que conllevan estos coagulantes a base de extractos acuosos crudos de las flores de *C. cardunculus*, tienen el inconveniente de su dificultad de estandarización, por los siguientes motivos:

- En la recolección de las flores de los cardos silvestres de *C. cardunculus* se corre el riesgo de incluir flores de otras especies de cardo tales como *Centaura calcitrapa*, *Silybum marianum*, *Cynara humilis*, especies del género *Onopordum*, etc, que o bien no tienen actividad coagulante o es muy diferente a la que exhibe la especie *C. cardunculus* [Sanjuán, E. y Fernández-Salguero, J. Influencia de algunos factores sobre el tiempo de coagulación por cuajo vegetal (*Cynara* sp.). Alimentación, Equipos y Tecnología 13 (6), 69-73 (1994)].

- Las flores secas recolectadas se comercializan con numerosas impurezas tales, como brácteas, restos de hojas, etc, que no permiten adicionar siempre la misma cantidad de enzima coagulante a la leche.

- La manipulación de las flores durante la recolección, almacenamiento y comercialización, hace que se rompan fácilmente los "estilos" que es la parte de la flor en donde se encuentra la actividad coagulante. Los estilos rotos se deslizan hacia el fondo del recipiente o saco, donde se almacena la popularmente conocida como "yerbacuajo" con lo cual la actividad coagulante varía grandemente según la parte del recipiente del cual se tomen las flores.

- Las flores se recolectan habitualmente en distintos estadios de floración y maduración, en diferentes regiones y en temporadas variables, lo que da lugar a diferencias en la actividad coagulante de las mismas [Barbosa, M. Serra de Estrela cheese. Page 133 in Proc. Int. Dairy Fed. Semin. Prod. Utilization of Ewe's and Goat's Milk, Athens, Grece. Int. Dairy Fed. Brussels, Belgium (1986); Cordeiro, R., Pais, M.S. and Brodelius, P. Cinarases (proteases) de *Cynara cardunculus* L.: Estudo da actividade enzimática em varios ecotipos de Portugal. Page 1 in Proc. 1^{st} Int. Symp. NOPROT 91, Faro Portugal. Assoc. New Proteins Inexploited Food Resources; Natl. Lab. Eng. Ind. Technol., Lisbon, Portugal (1991); y Vioque, M., Gómez, R., Sánchez, E., Mata, C y Fernández-Salguero, J. Actividad coagulante de extractos acuosos obtenidos de especies del género *Cynara* L., Comunicación al VII Meeting on Industrial Applications of Enzymes. Barcelona, Noviembre -1997].

- Las heterogéneas condiciones de almacenamiento (distintas temperaturas y humedades relativas a lo largo del año, contaminación por mohos, etc) de las diferentes recolecciones de flores, da lugar también, a diferentes actividades coagulantes, difícilmente estandarizables.

Los inconvenientes de incumplimiento de la normativa legal vigente en materia de higiene y sanidad de los ingredientes alimentarios, así como la imposibilidad del uso estandarizado del coagulante vegetal natural tal como lo emplean los queseros (extractos acuosos crudos) se resuelven en parte con la patente

española P-9700123/6.

En efecto, dicha Patente proporciona un concentrado líquido coagulante procedente de flores de la variedad de cardo *C. cardunculus* cultivada, obtenido concentrando por liofilización los extractos acuosos de dichas flores. Dicho concentrado líquido coagulante precisa de la adición de un conservante para controlar su deterioro y contaminación durante su almacenamiento y su utilización.

El solicitante ha encaminado sus esfuerzos investigadores en conseguir un coagulante vegetal que supera y aventaja claramente a los empleados en la actualidad ya que se obtiene de la variedad de cardo *C. cardunculus* L. silvestre, dado que su actividad coagulante es sensiblemente más alta que la de la variedad cultivada u hortícola como puede apreciarse en la publicación de Vioque y col. cuya reseña bibliográfica se ha dado anteriormente. Además, el coagulante vegetal objeto de la presente invención es un producto aséptico (libre de microorganismos), de fácil estandarización y dosificación y estable al almacenamiento y al uso sin precisar conservantes.

Descripción detallada de la invención

La presente invención, tal y como se indica en su enunciado, se refiere a un nuevo coagulante vegetal en polvo, a un procedimiento para su preparación y a sus aplicaciones en la fabricación de quesos, especialmente de quesos tradicionales elaborados con leche de oveja, de cabra o sus mezclas.

El nuevo coagulante objeto de la presente invención se caracteriza por un ser un polvo secado por liofilización, procedente de un extracto acuoso de flores secas del cardo *C. cardunculus* L., que presenta en algunos de sus componentes los siguientes valores: humedad 2-6 %, proteínas 15-18 %, pH 4,8-5,2 y actividad de agua (Aw) 0,200-0,340.

Por su parte, el coagulante de la presente invención es un producto que puede calificarse como "aséptico" sin precisar de la adición de conservantes para mantener su condición aséptica. Dentro del contexto de la presente invención, se considera que un producto es aséptico cuando no contiene gérmenes capaces de crecer en los medios de cultivos normalmente utilizados en la detección de microflora indicativa. En cualquier caso, si se produjera contaminación ambiental en las fases de manipulación desde la etapa de liofilización hasta la del envasado, dichos gérmenes morirían ya que a las actividades de agua del producto (0,200-0,340) no crece microorganismo alguno.

Por lo tanto, de acuerdo con lo anteriormente expuesto, el coagulante vegetal de la presente invención se caracteriza por ser un concentrado en polvo a base de enzimas coagulantes de las flores del cardo *C. cardunculus* L. (variedad silvestre), sustancialmente aséptico, que se comercializa como tal polvo exento de conservantes, perfectamente estandarizable, soluble en agua o incluso en la propia leche, estable a temperatura ambiente, de elevada actividad coagulante, y que puede ser adicionado directamente a la leche para su coagulación.

Para la determinación de la actividad coagulante (definida como la capacidad de coagular volúmenes de leche por unidades de peso de cuajo en un período de tiempo determinado) se emplea normalmente el método de Berridge, definido por la norma IDF o FIL 110 [International Dairy Federation. Determination milk clotting time of milk to which milk clotting enzyme has been added. Document 110 A: Appendix A (1987)] obteniéndose valores medios de actividad del orden de 0,031-0,042 RU (Rennet unit o unidad cuajo definido como la cantidad de coagulante en gramos necesarios para coagular 10 mililitros de leche en 100 segundos de tiempo).

Para la obtención del producto de la presente invención, tal y como se ha definido en los párrafos anteriores, se parte de flores enteras secas recolectadas del cardo silvestre *C. cardunculus* L. Seguidamente, se someten a un proceso de extracción acuosa, para lo cual se dejan macerar las mismas en agua potable durante 24-36 h aproximadamente, a temperatura ambiente en una relación peso/volumen de aproximadamente 1-2/10.

A continuación, se cuela o filtra la mezcla sobre un paño o gasas para separar el líquido de maceración (extracto líquido) de la parte sólida residual de las flores extraídas. Los extractos acuosos se distribuyen en bandejas o placas de Petri de gran superficie y se someten a congelación a una temperatura comprendida entre -25°C y -35°C aproximadamente.

Una vez congelados los extractos, se introducen las bandejas o placas en la cámara de liofilización, para que tenga lugar el proceso de desecación al vacío mediante sublimación. Las condiciones en que se

lleva a cabo este proceso de liofilización son: temperatura del condensador de -30°C a -40°C aproximadamente, presión de la cámara 4-13 Pa y tiempo de liofilización de 24-36 horas aproximadamente.

El polvo liofilizado así obtenido, rico en enzimas coagulantes como ya se indicó anteriormente con referencia a su composición, constituye el producto objeto de la presente invención. Dado que se trata de un producto higroscópico conviene envasarlo cuanto antes para su adecuada conservación.

Puede envasarse en botes de plástico opaco, o en frascos de cristal de color topacio, dotados de cierres herméticos. También es posible envasarlos en bolsas de aluminio plastificadas de diferentes tamaños, de modo que contengan cantidades prefijadas suficientes para coagular una determinada cantidad de leche (por ej. cantidad suficiente para coagular 100, 200, 500, etc litros), con el fin de emplear todo el contenido de la bolsa de una vez. En el caso de emplear los botes o tarros para consumir solo una parte de los mismos se procurará emplear espátulas o cucharillas limpias y secas para sacar el polvo y cerrarlo inmediatamente para evitar la indeseable rehidratación del producto.

La principal aplicación del coagulante liofilizado de la presente invención, obtenido por el proceso expuesto anteriormente, en su empleo como coagulante o cuajo en los procesos de fabricación de quesos, en especial de quesos de oveja tradicionales.

Dicha fabricación se lleva a cabo por el método tradicional en el que se sustituye el cuajo animal o el coagulante vegetal tradicional (extractos acuosos crudos), por el coagulante en polvo de la presente invención. La proporción de coagulante de la invención que se precisa para la coagulación de la leche es del orden de 14 -18 g de coagulante por 100 litros de leche.

Las etapas de dicha fabricación son esencialmente las siguientes:

- Calentar la leche a coagular hasta una temperatura de aproximadamente 28-32°C;
- Tomar la cantidad necesaria de coagulante de la invención para el volumen de leche a coagular, y disolverlo en agua potable, en una proporción aproximada de peso de coagulante/volumen de agua de 1-2/50.
- Verter sobre la leche el coagulante así disuelto y removerlo durante 2-3 minutos, tras lo cual se deja estar para su completa coagulación.
- Una vez coagulada la leche se somete a las condiciones de maduración propias del queso que se desee obtener.

Tras la exposición de la invención con todo detalle, resultarán evidentes para cualquier experto en el sector, las mejoras y ventajas que aporta al estado actual de la técnica en el que se emplean los coagulantes o cuajos vegetales tradicionales, o incluso los coagulantes líquidos procedentes de especies cultivadas de cardos *C. cardunculus*. Entre dichas ventajas y mejoras se resumen a continuación las más destacadas:

- El producto de la presente invención se obtiene a partir de la especie silvestre de cardo *C. cardunculus* (aún cuando pudiera obtenerse un producto análogo partiendo de la variedad cultivada) que, además de ser la especie comúnmente utilizada en el sector quesero, tiene una actividad coagulante sensiblemente superior a la variedad hortense.
- La etapa de liofilización de la presente invención está encaminada a la obtención y comercialización de un producto en forma de polvo deshidratado. A diferencia de ello, la etapa de liofilización descrita en la Patente P-9700123, está encaminada a la obtención y comercialización de un concentrado líquido.
- La utilización de las enzimas liofilizadas en forma de polvo produce en los quesos unas características físico-químicas, bioquímicas y organolépticas similares o mejores que las obtenidas con extractos acuosos crudos.
- Los procesos combinados de congelación de los extractos acuosos y de su posterior desecación al vacío, que implica la liofilización, permiten obtener las enzimas en polvo asépticas y por tanto su adición, disuelta en agua, no añade germen alguno a la leche de partida.
- Permite la utilización estandarizada del coagulante vegetal natural de forma que un mismo peso del producto coagula la misma cantidad de leche en las mismas condiciones de trabajo.
- El producto de la invención es perfectamente soluble en agua o en leche y es estable a temperatura ambiente en lugar fresco y seco o bien en refrigeración por debajo de 10°C.

- El polvo liofilizado de la presente invención, a diferencia de otros concentrados líquidos como el de la Patente P-9700123, no precisa de la adición de conservantes para su conservación en perfecto estado.

- Permite la comercialización del coagulante vegetal en bolsas termoselladas o incluso en botes de plástico con una cucharilla dosificadora. En la propia bolsa se puede serigrafiar la cantidad de coagulante en polvo que contiene y la cantidad de leche que puede coagular. Si se mete en tarros también se puede indicar en la etiqueta la cantidad de polvo que hay que adicionar por volumen de leche.

- Es compatible con a legislación española en materia de aditivos alimentarios y por tanto puede comercializarse con el correspondiente Registro Sanitario.

Modos de realización de la invención

La presente invención se ilustra adicionalmente mediante el siguiente Ejemplo, el cual no debe considerarse restrictivo de su alcance.

Ejemplo

Como prueba de la calidad de los quesos elaborados con las proteinasas liofilizadas de las flores del cardo silvestre *C. cardunculus* se han elaborado lotes de quesos con extractos acuosos crudos (EA) y el coagulante liofilizado (CL) de las flores de dicho cardo.

En la preparación de los extractos acuosos crudos (EA) se colocaron en un recipiente 200 gramos de flores secas de cardo con unos 3 litros de agua. Se dejaron en maceración durante 36 horas a temperatura ambiente (unos 20°C), al término de los cuales el extracto se filtró sobre gasas. Para la coagulación de la leche en la fabricación de los lotes de queso se utilizaron 8 ml del filtrado por litro de leche, teniendo una actividad coagulante de 1,9 RU (ml del extracto necesario para coagular 10 ml de leche en 100 segundos).

En la preparación del coagulante liofilizado (CL) se tomaron 300 g de flores secas de cardo y se adicionaron 3 litros de agua. Se dejó en maceración durante 36 horas a temperatura ambiente (unos 20°C) y a continuación se filtró sobre gasas. El filtrado se colocó en placas de Petri de vidrio de 15 cm de diámetro y se congelaron a -34°C. Los extractos congelados se liofilizaron a una temperatura del condensador de -40°C y una presión de 5 Pa durante 48 horas. El polvo así obtenido tuvo una actividad coagulante de 0,038 RU, se guardó en frascos de plástico opaco dotado de cierre hermético. Otros datos composicionales del coagulante liofilizado fueron los siguientes: humedad 3,0 %, proteínas 16,6 %, pH 5,1 y Aw 0,308. Igualmente el coagulante liofilizado no contenía germen viable alguno.

Los quesos se elaboraron en una quesería tradicional utilizando leche entera cruda de ovejas Merinas sin adición de cultivos iniciadores. La cantidad de leche obtenida en un día se dividió en dos mitades, una de ellas se coaguló con extractos acuosos crudos (adicionando 8 ml del extracto filtrado/litro de leche) y la otra mitad con el coagulante liofilizado (adicionando 0,16 gramos de polvo/litro de leche). La leche obtenida en otros dos días se dividió igualmente en mitades y se coagularon de la forma anteriormente descrita. En consecuencia, se obtuvieron tres lotes experimentales de queso coagulados con extractos acuosos crudos (EA) y otros tres lotes coagulados con el coagulante liofilizado (CL). Cada uno de los seis lotes de quesos constó de 5 quesos. La coagulación de la leche en cada uno de los lotes tuvo lugar en unos 80-90 minutos a 29° ± 1°C. Después del prensado, los quesos se salaron mediante frotación con sal gruesa y se metieron en una cámara de maduración controlada a 11°C de temperatura y 85 % de humedad relativa. A los intervalos de 2, 15, 30, 60 y 90 días de maduración se sacó un queso de cada lote para su análisis.

En la Tabla 1 se muestran los datos medios y las desviaciones típicas de humedad, ácido láctico, pH, actividad de agua (Aw), nitrógeno total (NT), nitrógeno soluble (NS), nitrógeno no protéico (NNP) y nitrógeno aminoacídico (NAA) de los quesos a lo largo de la maduración. El análisis estadístico de estos resultados muestra que no existen diferencias significativas en ninguno de los parámetros estudiados entre los quesos elaborados con ambos tipos de coagulantes.

En la Tabla 2 se muestran los recuentos medios y las desviaciones típicas de diferentes grupos microbianos en los dos lotes de quesos anteriormente mencionados a lo largo de la maduración. El hecho de que el coagulante liofilizado (CL) sea aséptico en comparación con los altamente contaminados extractos acuosos crudos (EA) hace que se observen diferencias significativas en los quesos elaborados con los dos tipos de cuajo a lo largo de la maduración. Así se han encontrado recuentos significativos más bajos

($p<0,001$) en los quesos elaborados con los coagulantes liofilizados (CL) respecto a los producidos con extractos acuosos crudos (EA) en coliformes, mohos y levaduras. Igualmente se encontraron que los recuentos de viables ($p<0,01$) y de enterobacteriaceas y lactobacilos ($p<0,05$) fueron significativamente inferiores en los quesos elaborados con las proteinasas liofilizadas respecto a los producidos con los extractos acuosos crudos.

Finalmente en la Tabla 3 se muestran los datos medios y las desviaciones típicas de las dos características sensoriales, sabor y olor, en los lotes de quesos elaborados con los dos tipos de coagulantes ensayados. Tanto el análisis estadístico de estos dos parámetros como de otros analizados (dureza, cremosidad, color y sabor amargo), por panel de catadores, indica que no se han apreciado diferencias significativas entre los quesos estudiados. A pesar de que entre los datos señalados en la Tabla 3 no hay diferencias significativas se aprecia que los quesos elaborados con el coagulante liofilizado (CL) obtuvieron a los 60 y 90 días de maduración mejores puntuaciones que los obtenidos con extractos acuosos crudos (EA).

TABLA 1

Valores medios y desviaciones estándar de algunos parámetros químicos, físico-químicos y nitrogenados de lotes de quesos elaborados con extractos acuosos crudos (EA) y con coagulante liofilizado (CL) del cardo Cynara cardunculus.

		Días de maduración				
	Lote	2	15	30	60	90
Humedad[1]	EA	47,60 ± 0,40	42,81 ± 0,63	42,27 ± 2,06	37,43 ± 0,05	34,60 ± 0,87
Acido láctico[1]		0,83 ± 0,02	1,10 ± 0,08	1,14 ± 0,06	1,13 ± 0,17	1,26 ± 0,36
pH		5,12 ± 0,04	5,00 ± 0,02	5,07 ± 0,05	5,12 ± 0,02	5,15 ± 0,08
A_w		0,991 ± 0,005	0,979 ± 0,001	0,969 ± 0,001	0,957 ± 0,003	0,943 ± 0,003
NT[1]		3,13 ± 0,15	3,14 ± 0,11	3,24 ± 0,03	3,54 ± 0,13	3,82 ± 0,10
NS[2]		11,21 ± 0,48	19,76 ± 1,24	23,83 ± 3,39	28,37 ± 1,56	37,97 ± 1,24
NNP[2]		6,18 ± 0,70	10,21 ± 0,80	13,61 ± 0,81	16,05 ± 0,61	22,55 ± 1,26
NAA[2]		0,38 ± 0,07	0,84 ± 0,15	1,22 ± 0,48	2,26 ± 0,34	3,36 ± 0,68
Humedad[1]	CL	47,09 ± 0,17	44,53 ± 0,67	42,00 ± 0,97	36,84 ± 1,18	34,17 ± 0,76
Acido láctico[1]		0,84 ± 0,01	1,08 ± 0,11	1,18 ± 0,12	1,37 ± 0,15	1,52 ± 0,11
pH		5,12 ± 0,01	5,07 ± 0,03	5,04 ± 0,13	5,14 ± 0,04	5,10 ± 0,06
A_w		0,989 ± 0,003	0,977 ± 0,002	0,970 ± 0,002	0,959 ± 0,005	0,946 ± 0,002
NT[1]		3,05 ± 0,08	3,17 ± 0,12	3,24 ± 0,06	3,68 ± 0,02	3,82 ± 0,11
NS[2]		11,85 ± 1,54	20,21 ± 2,50	22,74 ± 3,20	27,16 ± 0,14	36,35 ± 0,69
NNP[2]		5,82 ± 0,39	9,49 ± 0,20	13,96 ± 1,89	15,09 ± 0,70	21,20 ± 1,57
NAA[2]		0,39 ± 0,06	0,83 ± 0,04	1,10 ± 0,15	2,30 ± 0,28	3,41 ± 0,47

[1] gramos/100 gramos de queso.
[2] gramos/100 gramos de nitrógeno total (NT)

TABLA 2

Recuentos (log ufc/ml) de diferentes grupos microbianos en la leche de partida y en los lotes de quesos elaborados con extractos acuosos crudos (EA) y con coagulante liofilizado (CL) de flores del cardo C. cardunculus.

	Leche	Días de maduración				
		2	15	30	60	90
Viables totales						
EA	5,89 ± 0,10	9,36 ± 0,17	9,42 ± 0,04	8,63 ± 0,15	9,16 ± 0,07	8,78 ± 0,12
CL	5,89 ± 0,10	8,96 ± 0,09	8,86 ± 0,07	8,65 ± 0,41	9,12 ± 0,07	8,78 ± 0,19
Enterobacteria						
EA	4,67 ± 0,19	7,55 ± 0,18	6,97 ± 0,43	6,11 ± 0,33	4,16 ± 0,31	3,08 ± 0,82
CL	4,67 ± 0,19	7,16 ± 0,08	6,65 ± 0,44	5,83 ± 0,34	3,73 ± 0,30	2,83 ± 0,40
Coliformes						
EA	4,56 ± 0,14	7,38 ± 0,05	6,65 ± 0,49	6,26 ± 0,40	4,18 ± 0,17	3,31 ± 0,21
CL	4,56 ± 0,14	7,16 ± 0,04	6,30 ± 0,17	5,81 ± 0,32	3,63 ± 0,27	2,67 ± 0,25
Lactobacilos						
EA	5,03 ± 0,11	9,17 ± 0,06	9,44 ± 0,12	8,38 ± 0,15	8,92 ± 0,10	8,89 ± 0,03
CL	5,03 ± 0,11	8,86 ± 0,21	9,23 ± 0,08	8,15 ± 0,07	8,97 ± 0,11	8,96 ± 0,34
Mohos						
EA	1,77 ± 22	1,71 ± 0,21	1,97 ± 0,07	1,21 ± 0,03	0,36 ± 0,02	0,00 ± 0,00
CL	1,77 ± 22	1,48 ± 0,21	1,58 ± 0,19	1,07 ± 0,05	0,31 ± 0,03	0,00 ± 0,00
Levaduras						
EA	5,11 ± 0,19	4,74 ± 0,20	5,30 ± 0,22	3,16 ± 0,16	1,63 ± 0,06	0,00 ± 0,00
CL	5,11 ± 0,19	4,32 ± 0,17	4,78 ± 0,31	2,97 ± 0,28	1,60 ± 0,18	0,00 ± 0,00

TABLA 3

Características sensoriales de los lotes de quesos elaborados con extractos acuosos crudos (EA) y con coagulante liofilizado (CL) del cardo C. cardunculus.

Características	Días de maduración	Tipo de coagulante	
		EA	CL
Flavor	60	5,00 ± 0,20	5,15 ± 0,15
	90	6,59 ± 0,28	6,65 ± 0,39
Olor	60	4,66 ± 0,16	4,75 ± 0,42
	90	5,65 ± 0,13	5,91 ± 1,07

Valores medios de 12 panelistas.

REIVINDICACIONES

1. Un coagulante vegetal en polvo para la fabricación de quesos, **caracterizado** por ser un concentrado en polvo a base de enzimas coagulantes de las flores del cardo *C. cardunculus* (variedad silvestre), sustancialmente aséptico, que se comercializa como tal polvo exento de conservantes, fácilmente estandarizable, soluble en agua o incluso en la propia leche, estable a temperatura ambiente, de alta actividad coagulante, y que puede ser adicionado directamente a la leche para su coagulación.

2. Un coagulante vegetal, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque tiene un valor de humedad de 2-6 %.

3. Un coagulante vegetal, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque tiene un contenido en proteínas de 15-18 %.

4. Un coagulante vegetal, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque tiene un pH de 4,8-5,2.

5. Un coagulante vegetal, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque tiene una actividad de agua de 0,200-0,340.

6. Un coagulante vegetal, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque tiene una actividad coagulante de 0,031-0,042 RU.

7. Un procedimiento para la obtención de un coagulante vegetal en polvo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 anteriores, **caracterizado** porque se parte de flores enteras secas recolectadas del cardo silvestre *C. cardunculus* L. las cuales se someten a un proceso de extracción acuosa, recuperándose el extracto acuoso por filtración, el cual se distribuye en bandejas o placas para someterlo a congelación y finalmente a liofilización.

8. Procedimiento según la reivindicación 7, **caracterizado** porque dicho proceso de extracción se lleva a cabo macerando dichas flores secas en agua potable, a temperatura ambiente aproximadamente, durante 24-36 horas, en una relación de aproximadamente 1-2/10 (P/V).

9. Procedimiento según la reivindicación 7, **caracterizado** porque dicho extracto acuoso se obtiene filtrando el producto de maceración a través de un paño o unas gasas.

10. Procedimiento según la reivindicación 7, **caracterizado** porque dicha congelación se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre -25°C y -35°C aproximadamente.

11. Procedimiento según la reivindicación 7, **caracterizado** porque dicha liofilización se lleva a cabo en una cámara de liofilización, en la cual la temperatura del condensador es de -30°C a -40°C, la presión de la cámara es de 4-13 Pa y el tiempo de liofilización es de 24-36 horas aproximadamente.

12. Uso del coagulante vegetal definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 anteriores para la fabricación de quesos,

13. Uso según la reivindicación 12, **caracterizado** porque dichos quesos, son quesos tradicionales elaborados con leche de oveja, de cabra o sus mezclas.

14. Uso según la reivindicación 12, **caracterizado** porque para la fabricación de dichos quesos se sustituye el cuajo animal o el coagulante vegetal tradicional, por dicho coagulante en polvo de las reivindicaciones 1 a 7 anteriores.

15. Uso según la reivindicación 14, **caracterizado** porque dicho coagulante se emplea en una cantidad de 14-18 g/100 l de leche.

16. Uso según la reivindicación 15, **caracterizado** porque dicho coagulante se emplea previamente disuelto en agua potable en una proporción de 1-2/50 (p/v).

OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) ES 2 166 719

(21) N.° solicitud: 200001593

(22) Fecha de presentación de la solicitud: **27.06.2000**

(32) Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

(51) **Int. Cl.**[7]**:** A23C 19/04

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	ES 2117958 A1 (JUNTA DE EXTREMADURA) 16.08.1998, página 3, líneas 34-44.	7
X	ES 2139550 A1 (UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA) 01.02.2000, columna 1, líneas 6-16; columna 2, líneas 48-57; columna 3, líneas 15-31.	1,12-14

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

[×] para todas las reivindicaciones

[ ] para las reivindicaciones n°:

Fecha de realización del informe	Examinador	Página
14.03.2002	J. López Nieto	1/1