

## 7. CONTROL DE CALIDAD DEL CARDO SILVESTRE EN LA ELABORACIÓN DE LA TORTA DEL CASAR

---

*Elena Ordiales Rey  
M<sup>a</sup> de Guía Córdoba Ramos  
Margarita Fernández García  
M<sup>a</sup> José Benito Bernáldez*

### 1. INTRODUCCIÓN

En los restaurantes más selectos y galardonados, tanto a nivel nacional como internacional, hoy es fácil encontrar recetas que incluyen entre sus ingredientes la *Torta del Casar*. Sin embargo, este original queso era el que tradicionalmente se estropeaba entre los quesos elaborados artesanalmente por los pastores. El queso perdía su forma, para tomar apariencia de torta, y su crema casi líquida rebosaba por las grietas, dando un aspecto no aceptado por el consumidor.

La *Torta del Casar* es un queso madurado, de pasta blanda, elaborado a partir de leche de oveja, cruda y entera de las razas merina y entrefina. Se obtiene por coagulación enzimática gracias al coagulante vegetal procedente del cardo de la especie *Cynara cardunculus*, L. Su corteza es semidura, de color natural entre amarillo y ocre, pudiendo presentar grietas en su superficie, y la pasta es de textura cremosa, de olor intenso y sabor característico ligeramente amargo, debido al uso del cuajo vegetal.

El término *Torta del Casar* se refiere a su origen. El primero de los nombres se debe a su forma original, aplastada, por la falta de firmeza de la pasta interior, que no se endurecía, y recordaba más a las tortas de harina que a los quesos tradicionales. El segundo nombre hace mención a la población de Casar de Cáceres.

Esta zona de influencia de la *Torta del Casar* ha estado históricamente relacionada con las prácticas de pastoreo y trashumancia. La calzada romana Vía de la Plata recorre Extremadura de norte a sur, atravesando Casar de Cáceres, siendo durante siglos paso obligatorio de los rebaños, tal como se recoge en el Fuero Juzgo y en las normas que regían al Honrado Concejo de La Mesta. Existe constancia de la presencia de rebaños asen-

tados en la zona desde 1291, cuando el Rey Sancho IV otorga a la aldea del Casar el Privilegio Real por el que los ganaderos pueden llevar a pastar a sus ganados a las tierras adhesadas de media legua de extensión alrededor de dicha aldea. Así mismo, se conoce que ya en esta época la *Torta del Casar* era utilizada como moneda de pago, aunque no fue hasta 1791 cuando Gregorio Sánchez de Dios deja constancia escrita de la existencia tanto del queso, como de las cabezas de ganado lanar que lo producían.

Las ovejas de las razas merina y entrefina se caracterizan por su rusticidad, su capacidad de adaptación a entornos naturales extremos, y su baja producción lechera, en torno a 75 l/oveja y año. Este ganado ha estado vinculado al sistema de explotación tradicional de la zona, extensivo o semiextensivo, alimentándose de los pastos del ecosistema típico de esta Región. Así mismo, el coagulante vegetal empleado en el procesado de la *Torta del Casar* procede de las flores del cardo de la especie *Cynara cardunculus*, L., recolectados en Extremadura, tradicionalmente llamado “yerbacuaajo”. La formación de la pasta característica y de las cualidades sensoriales en este queso se asocia a una intensa proteólisis, generada por este tipo de cuajo durante su proceso de elaboración.

Para la obtención de una buena *Torta del Casar* existen cuatro aspectos importantes: leche cruda de oveja merina recién ordeñada; cuajo de origen vegetal elaborado con el cardo silvestre *C. cardunculus*; una elaboración lenta, suave y a temperaturas frescas como las de invierno; y una curación durante 60 días en ambientes fríos y húmedos que favorecen la maduración y las características sensoriales del queso. Sin embargo, para llevar a cabo este procesado tan exhaustivo y obtener productos de elevada calidad se hace necesario un adecuado control durante el proceso de elaboración de la torta y un conocimiento de todos los aspectos científicos relacionados con la producción y el procesado.

Con el objetivo principal de garantizar la calidad, el origen y la seguridad de este tipo de quesos se creó la *DO Torta del Casar*, cuyo Reglamento se aprobó mediante el Orden de 9 de octubre de 2001. Posteriormente, esta DO se convirtió en DOP al ser inscrita en el Registro de las Denominaciones de Origen Protegidas y de las Indicaciones Geográficas Protegidas, por el Reglamento (CE) 1.491/2003 del 25 de agosto.

La *DOP Torta del Casar* se encarga de controlar las ganaderías e industrias inscritas, desde la producción y el proceso de elaboración, hasta la obtención de un producto final de calidad. En la actualidad se encuentran inscritas en la *DOP Torta del Casar* 12 queserías y unas 20.000 cabezas de ganado, englobando cerca de 400.000 ha de superficie y 36 municipios de la provincia de Cáceres.

La especie *Cynara cardunculus*, L. es un cardo que pertenece a la familia de las Asteráceas o Compuestas. Aunque crece de forma espontánea en lindes de fincas y zonas marginales de tierras agrícolas, es exigente en cuanto al tipo de suelo. Prefiere suelos profundos, ricos en materia orgánica, arcillosos y sin tendencia al encharcamiento. Al igual que otros cardos de su misma familia, se caracteriza por ser una planta perenne, vivaz, arbustiva, cuyas inflorescencias aparecen en capítulos, rodeadas por un involucre. Una vez recolectadas y secas las flores de este cardo pueden confundirse con las de otros cardos, no reconocidos por la DOP como coagulante vegetal para la elaboración de *Torta del Casar*. En este sentido, se hace necesario establecer un método de control de calidad que permita diferenciar de forma rápida las flores secas procedente de la planta de *Cynara cardunculus*, L., frente a otras especies de cardos.

## 2. IMPORTANCIA DEL CUAJO VEGETAL EN LAS CARACTERÍSTICAS DE CALIDAD DE LA TORTA DEL CASAR

Un coagulante vegetal es aquel producto de origen vegetal cuyo componente activo presenta actividad coagulante. En las condiciones habituales de elaboración del queso, las preparaciones de estos coagulantes provocan la desestabilización de las micelas de caseína de la leche, y forman un gel láctico que madura y da lugar al queso final. Los quesos elaborados con coagulantes de origen vegetal presentan aromas, sabores y texturas novedosas, totalmente diferentes a los elaborados en las mismas condiciones con coagulantes de origen animal o microbiano.

Muchas especies vegetales han sido descritas como fuente de coagulantes vegetales: *Cynara humilis*, *Cynara cardunculus*, *Cynara scolymus*, *Ficus carica*, *Ananas comosus*, *Lactuca sativa* o *Helianthus agnus*, entre otras. La mayor parte de los quesos artesanales de Portugal son producidos con coagulantes extraídos de los estilos y estigmas de las flores de *C. cardunculus* L. y ocasionalmente con los de *C. humilis*, L. Asimismo, las proteasas extraídas de las flores secas de *C. cardunculus* han sido empleadas desde siempre para fabricar quesos tradicionales como el Serra da Estrela, La Serena, Guía o Los Pedroches. Numerosos estudios han demostrado la elevada actividad de las proteinasas del extracto de las flores secas de *C. cardunculus*. El extracto de este cardo contiene dos proteinasas aspárticas, cardosina A y cardosina B, denominadas también cyprosinas o cynarasas, formadas por dos subunidades cada una, con pesos moleculares de 31 y 15 kD, y 34 y 14 kD, respectivamente (White *et al.*, 1999). La especificidad de las proteinasas de *C. cardunculus* sobre las caseínas bovinas, ovinas y caprinas está ampliamente documentada. Estas proteinasas escinden el enlace Phe105-Met106 de la k-caseína, primera fase de la coagulación enzimática (Silva y Malcata, 2005) generando dos fragmentos polipeptídicos; la para-k-caseína insoluble y el glicomacropéptido soluble que se separa de la estructura micelar y pasa al suero. Estos péptidos de elevado tamaño procedentes de las k-caseínas, junto con las demás proteínas de la leche, son degradados posteriormente durante la etapa de maduración del queso.

En la elaboración de la *Torta del Casar*, la etapa de maduración se realiza en cámaras durante un periodo mínimo de 60 días a baja temperatura (10-12° C) y elevadas humedades relativas HR (85-90%). En este tiempo es cuando la *Torta del Casar* adquiere esa forma característica caída. Durante esta etapa se produce esa intensa actividad proteolítica que da lugar a la formación de la torta, generándose las características de textura, sabor y aroma tan peculiares de este producto. En la degradación de la matriz proteica de la cuajada participan principalmente las enzimas proteolíticas de *C. cardunculus* L. Ha sido ampliamente descrita la actividad proteolítica de las enzimas del cuajo vegetal tanto sobre las distintas caseínas de la matriz de la cuajada como sobre las proteínas del suero. Roa *et al.* (1999) observaron cómo las enzimas de *C. cardunculus* generaban mayor proteolisis sobre las  $\alpha$ -caseína que sobre las  $\beta$ -caseínas en el queso de La Serena. Por otra parte, las proteinasas de la flor del cardo también han manifestado actividad sobre las proteínas del lactosuero como la  $\beta$ -lactoalbumina y la  $\beta$ -lactoglobulina, formando péptidos de mayor digestibilidad y funcionalidad, que influyen además sobre la textura y el sabor de los quesos (Lamas *et al.*, 2001).

Numerosos trabajos de investigación hacen referencia a diferentes aspectos de las cynarasas de la especie *C. cardunculus*, L., y en su relación con el proceso de elaboración del queso (Macedo *et al.*, 1997; Silva y Malcata, 2005). Sin embargo, poco se conoce acerca de los aspectos de calidad de los cardos de esta especie que se encuentran en Extremadura y ninguno los vincula a la obtención de la mejor *Torta del Casar*. Así, en colaboración con la *DOP Torta del Casar*, se está estudiando en profundidad este cardo en Extremadura, con el objetivo de establecer un método rápido de caracterización, relacionándolo con las mejores aptitudes tecnológicas para obtener una *Torta del Casar* de elevada calidad.

### 3. CARACTERIZACIÓN DEL CUAJO VEGETAL

Para realizar el presente estudio se tomaron muestras de *C. cardunculus*, L., de las zonas representativas donde crece este cardo y es recolectado por la DOP para la elaboración de la Torta del Casar. Las muestras se recolectaron durante la primavera y el verano de 2006. Además, con objeto de conocer diferencias entre especies, se recogieron muestras de otros cardos que crecen en Extremadura y que por las características de sus flores podrían ser confundidos en las queserías con *C. cardunculus*. En total se tomaron 52 muestras, recolectadas en estado de maduración de la flor en la que el involucro está completamente abierto y aparecen todas las flores, con el color característico de cada especie en su mayor intensidad.

Todas las muestras fueron caracterizadas mediante:

- Estudio de las características morfológicas
- Técnicas de biología molecular
- Análisis de perfiles de proteínas.

#### 3.1. Caracterización morfológica

La descripción de las características morfológicas más relevantes de las diferentes especies de cardos recolectados en este trabajo se realizó *in situ* en el momento de la toma de muestras, en base a la clasificación de Valdés *et al.* (1987). Según esta caracterización, de la especie *Cynara cardunculus* se tomaron 33 muestras de la variedad silvestre. De la especie *Cynara humilis* se recogieron 10 muestras y 8 de la especie *Onopordon corymbosum*. Por último, una de las muestras recolectadas fue clasificada como *Sylibum marianum* (cuadro 1).

Las especies *Cynara cardunculus* y *Cynara humilis*, son plantas de raíz tuberosa, tallos estriados longitudinalmente, con hojas pinnadas o pinnatisectas, con margen espinoso.

**CUADRO 1: Número y especies de cardo recogidas en la campaña de 2006**

Especie de cardo	Nº muestras
<i>Cynara cardunculus</i> , L.	33
<i>Cynara humilis</i> , L.	10
<i>Onopordon corymbosum</i> , L.	8
<i>Sylibum marianum</i> (L) Goertner.	1
Nº total de muestras	52

Presentan involucrio con varias filas de brácteas coriáceas, con una espina apical las externas y medias. Los capítulos son discoideos de color azulado o blanco (gráfico 1 A y B).

La especie *C. cardunculus*, L., se diferencia de otras en que sus tallos pueden alcanzar una altura de 150 cm, estando ramificado en la parte superior, sus hojas son lisas en el haz y tomentosas en el envés, con nervaduras muy pronunciadas (gráfico 1 A). Los tallos están rematados por un ramillete de flores compuestas o inflorescencias, con flores tubulares, plumosas y sésiles, que florecen y fructifican durante los meses de junio y julio. No es una especie frecuente, pudiendo encontrarla en las regiones mediterráneas, macaronésicas y el sur de Portugal.

Por su parte, los cardos pertenecientes a la especie *Cynara humilis*, L. son de menor porte, presentan hojas profundamente pinnadas, de envés tomentoso (gráfico 1 B). Las flores aparecen solitarias en la parte superior de los tallos, y se distinguen por ser de menor tamaño y por sus brácteas de color púrpura. Florecen y fructifican de mayo a junio. La variedad albina se diferencia de la silvestre en que sus flores son de color blanco. Esta especie es más abundante que *C. cardunculus*, L. y se distribuye por todo el territorio de la mitad sur de la península ibérica, el noroeste de África, Madeira y Canarias.

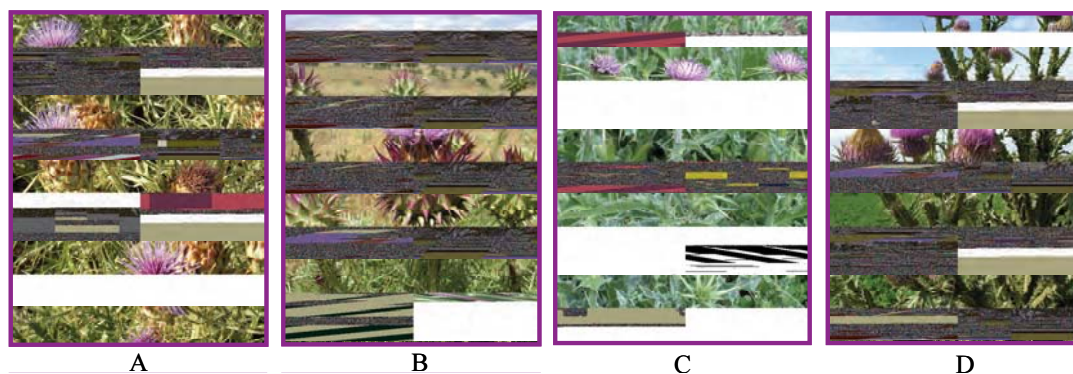
El cardo mariano, *Sylibum marianum*, (L) Goertner, es una planta anual, con tallos grandes y erguidos, recubiertos por hojas alternas, espinosas con manchas blancas (gráfico 1 C). Estos tallos terminan en inflorescencias solitarias, de forma redondeada y de color violeta. Las brácteas del involucrio terminan en espinas fuertes y alargadas.

*Onopordon corymbosum*, L. es una especie de cardo, popularmente llamado Toba, que se caracteriza por ser perenne, con tallos que pueden alcanzar los 2 m de altura, de sección cuadrada, con hojas alternas, lobuladas y espinosas (gráfico 1 D). Los tallos acaban en capítulos de 4 o 5 cabezas con flores de color violeta.

El estudio de las características morfológicas de los cardos resulta insuficiente, puesto que las industrias queseras sólo reciben las flores secas, pudiendo ser confundidas con las de otros cardos. Es necesaria una caracterización en base a otros aspectos que permita diferenciar de forma rápida los cardos a partir de las flores secas que constituyen la materia prima para obtener el extracto coagulante de la leche.



**GRÁFICO 1: Especies de cardo recogidas en la campaña de 2006: A) *Cynara cardunculus*, L.; B) *Cynara humilis*, L.; C) *Sylibum marianum*, (L) Goertner.; D) *Onopordom corymbosum*, L.**



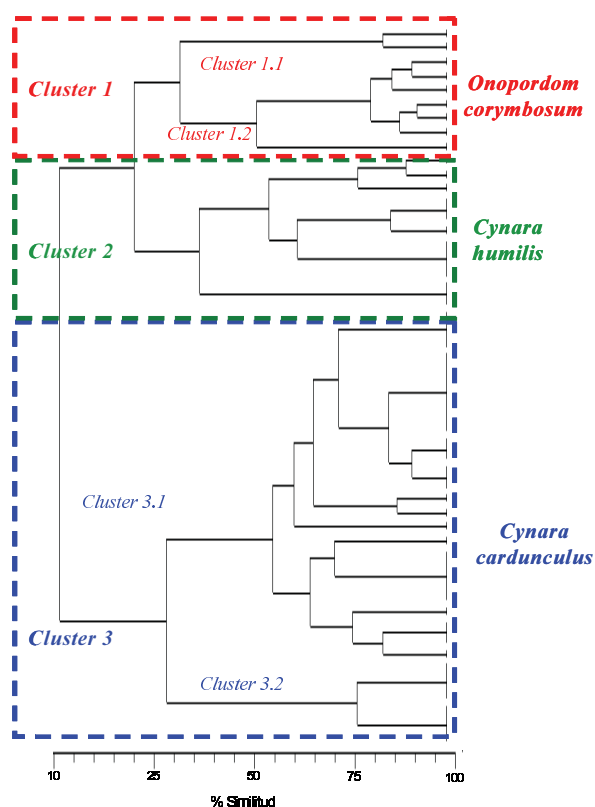
### 3.2. Técnicas de biología molecular

Poco se conoce en relación a las características genéticas de las poblaciones naturales del cardo *C. cardunculus*, L., de crecimiento espontáneo en Extremadura. Los avances en las últimas décadas en biología molecular han abierto las posibilidades de caracterizar especies vegetales a nivel genómico. Los marcadores de ADN son usados para evaluar la diversidad genética en variedades de plantas. Los sistemas de marcadores basados en la PCR (Polimerasa Chain Reaction) resultan ser la mejor herramienta para el análisis genético. Estos sistemas de marcadores incluyen la “PCR aleatoria”, determinada por la técnica del ADN polimórfico amplificado al azar (Random Amplified Polymorphic DNA o RAPD). Otras técnicas desarrolladas son el empleo de microsatélites, conocida también como repeticiones de secuencia simple o SSRs, y el análisis de polimorfismo de los fragmentos de ADN amplificado o AFLP (Amplified Length Polymorphisms). Las técnicas basadas en los métodos de PCR tienen la ventaja de ser rápidas y sensibles para identificar entre especies vegetales e incluso entre variedades. Gracias a la técnica RAPD, Hernández *et al.* (2007) diferenciaron variedades de pimientos para pimentón. Sonnante *et al.* (2002) también pudieron agrupar diferentes cultivares de alcafofa, fenotípicamente semejantes, utilizando esta técnica. Lanteri *et al.* (2004), evaluaron la población de *C. Cardunculus* en Sicilia y en Cerdeña mediante la técnica AFLP, clasificándolos en grupos con características genéticas similares.

En el presente estudio se han empleado las técnicas de PCR, RAPD-PCR y SSRs, para la caracterización genética de las especies de cardo recolectadas. Se han investigado las variaciones genéticas mediante el uso de 10 cebadores con la técnica RAPD y 11 cebadores con la SSR. Con ambas técnicas se obtuvieron buenos resultados, pudiendo diferenciar las especies de cardos ensayadas. De los cebadores utilizados con la técnica RAPD, OP10 fue el que presentó mejores resultados, mientras que de los microsatélites (SSr) fue con el cebador CM24 con el que se obtuvo mayor variabilidad genética, encontrando diferencias incluso dentro de la misma especie. Además, con estos dos cebadores se obtuvieron un mayor número de bandas polimórficas en la especie *C. Cardunculus*, lo que

permite mostrar diferencias entre individuos de una misma población. En el agrupamiento por cluster se aprecian tres grupos bien diferenciados con un porcentaje de similitud inferior al 30% (gráfico 2). Asimismo, en el cluster 3 de *C. cardunculus*, L., se encontraron diferentes agrupaciones formadas por muestras de cardos con perfiles iguales, (clusters 3.1.a y 3.1.b), y diferentes entre sí (cluster 3.2), lo que denota gran variabilidad genética para esta especie, sin encontrar una adecuada correlación entre perfiles genéticos y localización geográfica de la muestra estudiada. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Portis *et al.* (2005), que observaron poblaciones diferentes en Sicilia y Cerdeña, aunque dentro de cada población se encontró una gran variabilidad genética.

**GRÁFICO 2: Agrupamiento por cluster de los perfiles genéticos obtenidos**



### 3.3. Análisis del perfil proteico

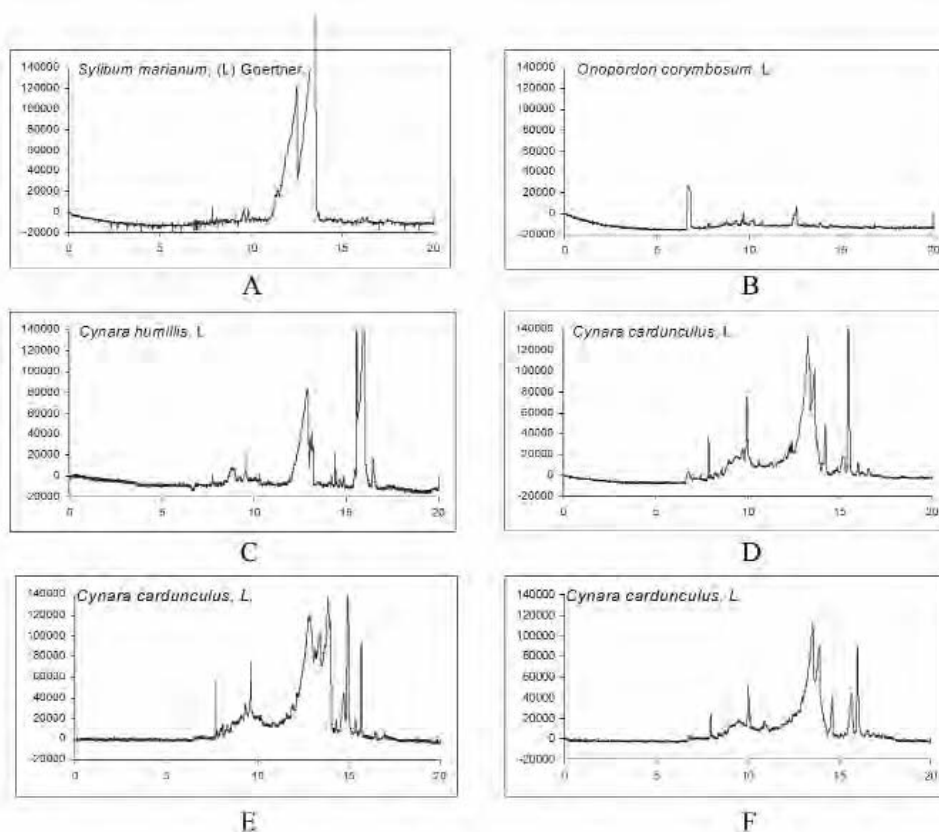
Varios estudios han descrito la caracterización de especies vegetales mediante perfil de proteínas empleando técnicas como la Electroforesis Capilar en Zona (ECZ) o la electroforesis SDS-PAGE (gel de Poliacrilamida con Dodecil Sulfato Sódico). La Electroforesis Capilar en Zona (ECZ) permite separar especies iónicas, inyectándolas en un capilar relleno de un tampón, en base a la diferencia en la movilidad electroforética o a la

densidad de la carga. Esta técnica ha sido aplicada con éxito para la diferenciación específica del género *Vicia*, variedades de pimiento usadas para la elaboración de pimentón y cereza del Valle del Jerte (Piergiovanni y Taranto, 2005; Hernández *et al.*, 2006, 2007; Serradilla *et al.*, 2008).

En el análisis de proteínas solubles en metanol mediante la técnica de ECZ de las muestras de cardo, se encontraron 16 picos bien resueltos cuando se monitorizó a 214 nm de absorbancia. Se apreciaron perfiles proteicos diferentes entre las distintas especies de cardo estudiadas, mostrando diferencias tanto cuantitativas como cualitativas (gráfico 3). Asimismo, también se obtuvieron diferentes perfiles proteicos entre los cardos pertenecientes a la especie *Cynara cardunculus*, L., lo que permitió agruparlos, aunque no se observó una adecuada correlación entre perfil de proteínas característico y zona de recolección.

La SDS-PAGE es una de las técnicas de electroforesis en geles desnaturalizantes, siendo la más empleada para el estudio de perfiles proteicos. Con esta técnica se pueden separar proteínas y péptidos de peso molecular alto. Desarrollada por Laemmli, 1970, ha sido empleada por varios autores para identificar y cuantificar las proteinasas aspárticas que contienen las flores de los cardos del género *Cynara* (Barros y Malcata, 2004).

**GRÁFICO 3: Electroferogramas con los perfiles proteicos de las distintas especies de cardo obtenidos a 214 nm; A) *S. marianum* (SM1); B) *O. corymbosum* (OC18), C) *C. humilis* (CH11); D) *C. cardunculus* (CC16); E) *C. cardunculus* (CC33); F) *C. cardunculus* (CC47)**





Analizando todas las muestras de las distintas especies de cardo recogidas en 2006, se observó que cada una de estas especies mostró un perfil proteico característico. La especie *Onopordon corymbosum*, L. mostró un perfil de una sola proteína con 34 kD de peso molecular y de poca intensidad. El perfil que presentaban las muestras de la especie *Cynara humilis*, L. queda definido por dos proteínas de pesos 29 y 61 kD, mientras que el perfil proteico de *Cynara cardunculus*, L. estaba formado por cuatro proteínas de 14, 29, 32 y 61 kD, que se corresponderían con las cynarasas A, B y C que han aislado e identificadas por Sidrach *et al.* (2005), de plantas de esta misma especie. Los perfiles de las especies *C. humilis*, L. y *C. cardunculus*, L. son coincidentes en dos proteínas (29 y 61 kD), debido a que pertenecen al género *Cynara*.

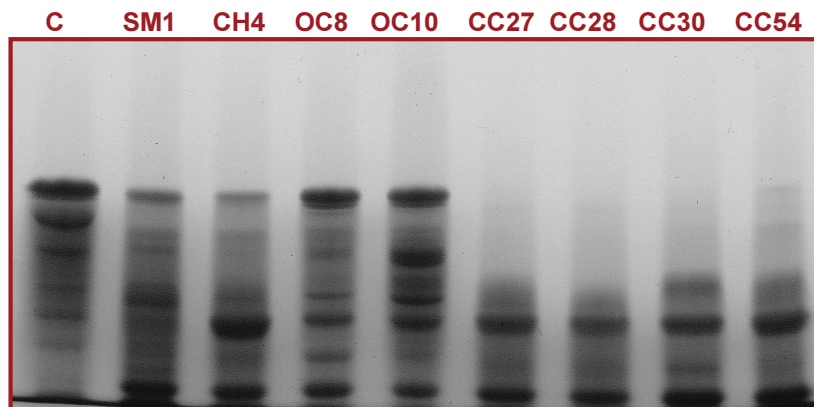
#### 4. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA

La importancia de determinar la capacidad de degradación de las caseínas de la leche o actividad proteolítica de los cardos radica en que las cardosinas actúan sobre las caseínas de la leche provocando su coagulación, y mediante proteólisis participan en la formación de la pasta blanda que caracteriza a los tipos de queso como la *Torta del Casar*.

El estudio de la actividad proteolítica de los cardos, *in vitro*, antes de su uso en la elaboración de la Torta del Casar es fundamental para conocer la aptitud tecnológica de los mismos. Tras someter a un sustrato de caseínas (a, b y k) a la acción de los extractos acuosos de la flores de las distintas especies de cardo, se cuantificó la actividad proteolítica de cada una de las muestras mediante la técnica SDS-PAGE.

En términos generales, y en concordancia con lo que se observa en el gráfico 5, las muestras de cardo de la especie *C. cardunculus* resultaron ser las más proteolíticas, seguidas por las de *C. humilis*, mientras que las muestras de *O. corymbosum* fueron las que menos degradaron la mezcla de caseínas y por tanto las menos proteolíticas. Así mismo, se encontró variabilidad en cuanto a la capacidad de degradación de las caseínas entre las muestras de cardos de *C. cardunculus*, siendo unas muestras más proteolíticas que otras (gráfico 4). Estos resultados de actividad proteolítica manifestaron una marcada correlación con la intensidad de las bandas obtenidas en el estudio de caracterización mediante la técnica SDS-PAGE, observando a mayor intensidad de banda también mayor actividad proteolítica. Asimismo también se observó similitud en la actividad proteolítica desarrollada por los cardos agrupados con características similares mediante las técnicas de biología molecular y la ECZ.

**GRÁFICO 4: Gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) con la actividad proteolítica desarrollada por las distintas especies de cardo, *S. marianum* (SM), *O. corymbosum*, L. (OC), *C. humilis*, L. (CH) y *C. cardunculus*, L. (CC), frente a una mezcla de caseínas, comparada con una mezcla control de caseínas sin degradar (C). Línea 1: marcador molecular (M)**



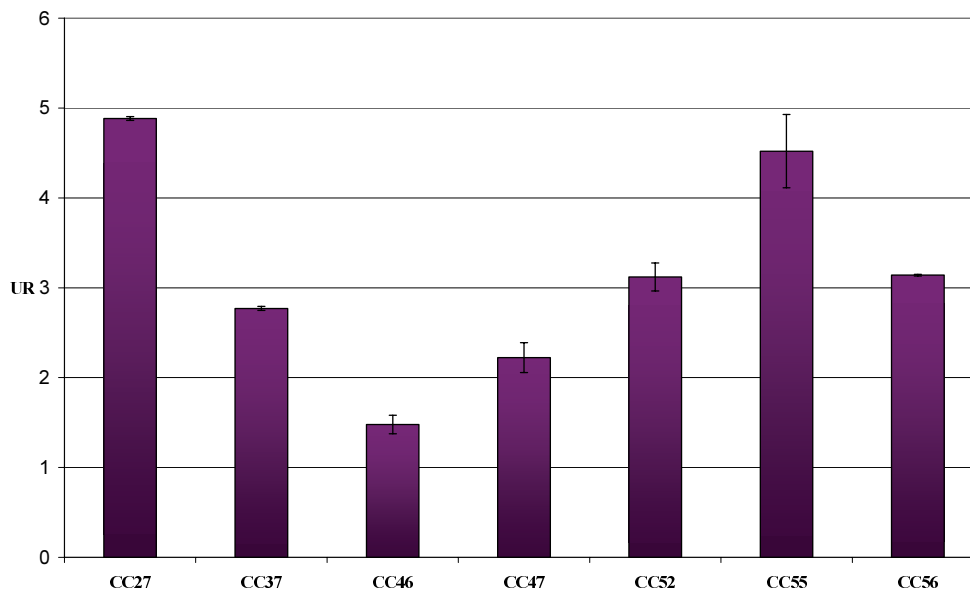
## 5. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD COAGULANTE

La actividad coagulante de las cynarasas presentes en las flores de *C. cardunculus* sobre la leche las convierte en enzimas adecuadas para elaborar quesos de pasta blanda y se asocian con sabores amargos. Varias metodologías han sido empleadas para caracterizar la actividad coagulante sobre la leche, estando la mayoría de ellas basadas en la observación de la formación de la cuajada sobre un sustrato de leche.

El método empleado para llevar a cabo esta determinación en el presente estudio ha sido el descrito por Sousa y Malcata (1998) modificado. Los extractos de cardo se prepararon a partir de flores secas y picadas, con una proporción de 50 gramos de flores secas por 100 litros de agua y tiempo de maceración de 24 horas. El sustrato se cuajó a 30° C y la actividad coagulante se expresó en unidades coagulantes (UR) (Sousa y Malcata, 1998).

Los resultados obtenidos indican que las distintas muestras de cardo de *C. cardunculus* ensayadas presentan diferente actividad coagulante (gráfico 5). Aproximadamente el 20% de las muestras ensayadas mostraron niveles de UR superiores a 4. Estos valores de actividad coagulante mostraron una elevada correlación con la actividad proteolítica, de forma que las muestras que presentaron mayor capacidad de degradación de las caseínas, fueron también las que mostraron mayor actividad coagulante (mayor valor de UR).

**GRÁFICO 5: Resultados de la actividad coagulante expresada en UR de varias de las muestras de *C. cardunculus*, L. (CC) recogidas en la campaña 2006**



## 6. ELABORACIÓN DE TORTAS DEL CASAR

El proceso de elaboración de las Tortas del Casar se llevó a cabo en la planta piloto de productos lácteos de la Escuela de Ingenierías Agrarias, en Badajoz, siguiendo las directrices y consejos de varias queserías de la *DOP Torta del Casar*. Se elaboraron 3 lotes de quesos con tres cardos de la especie *C. cardunculus* L., agrupados por su caracterización preliminar como diferentes, en base a su perfil genético y proteico, actividad proteolítica y coagulante. Así mismo se consideró que los cardos utilizados para la elaboración de estos lotes procediesen de distinta zona de recolección.

En los diferentes quesos obtenidos, al final del proceso de elaboración, se estudió el tiempo de coagulación, la cantidad de queso obtenida y el rendimiento quesero, en kg/l leche, conseguido con cada uno de los cardos empleados. Se observó que con el cuajo del cardo más proteolítico el tiempo de coagulación fue inferior, y la cantidad de queso obtenido y el rendimiento quesero superior a los conseguidos con los otros dos cardos.

Del análisis de los parámetros físico – químicos de pH, actividad de agua, humedad y mermas se pudo apreciar cómo las tres primeras determinaciones ensayadas fueron descendiendo a lo largo del proceso de maduración de manera similar, para llegar a los 60 días a valores entorno a 5,2, 0,96 y al 30%, respectivamente. Sin embargo, la evolución del parámetro de las mermas presentó ligeras diferencias en los lotes ensayados, siendo inferior para el lote de cardo más proteolítico, con 51 % de pérdida de peso a los 60 días de maduración. Este efecto sobre las tortas elaboradas con el cardo más proteolítico también se manifestó en el análisis de la textura. Tras medir la firmeza de la pasta central a los 30 y a los 60 días de maduración, se comprobó que, bajo las mismas condiciones de elaboración, las tortas elaboradas con el cardo más proteolítico fueron las que presentaron una firmeza menor, es decir, una textura más blanda que las elaboradas con los otros dos cardos.

## 7. CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos se puede concluir que tanto las técnicas de caracterización mediante PCR, RAPD y SSr, como las de análisis de perfiles de proteínas, ECZ y SDS-PAGE, resultaron ser adecuadas para diferenciar y caracterizar de forma rápida y precisa especies y poblaciones de cardos silvestres recogidas en Extremadura, por lo que podrían ser utilizadas como técnicas rutinarias en el control de calidad del proceso de elaboración de la *Torta del Casar*, pudiendo constituir una herramienta fundamental, sobre todo teniendo en cuenta que el cardo empleado como coagulante tiene una gran influencia en las características de calidad del queso obtenido, por lo que es necesario establecer métodos rápidos que permitan conocer las características de los cardos antes de utilizarlos en la elaboración de la *Torta del Casar*.

## BIBLIOGRAFÍA

Barros, M.R. y Malcata, F.X. (2004): "A kinetic model for hydrolysis of whey proteins by cardosin A extracted from *Cynara cardunculus*". *Food chemistry* n° 88; pp. 351-359:

Hernández, A., Martín, A., Aranda, E., Bartolomé, T., Córdoba, M.G. (2006): "Detection of smoked paprika "Pimentón de la Vera" adulteration by Free Zone Capillary Electrophoresis (FZCE)". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, n° 54; pp. 4141-4147.

Hernández, A., Martín, A., Aranda, E., Bartolomé, T., Córdoba, M.G. (2007): "Application of temperature-induced phase partition of proteins for the detection of smoked paprika adulteration by free zone capillary electrophoresis (FZCE)". *Food Chemistry*, n° 105; pp.1219-1227.

Córdoba, M.G., Hernández, A., Bartolomé, T., (2007): "Avances en la autenticación del *Pimentón de la Vera*". En: *La agricultura y la ganadería extremeñas. Informe 2006*. Facultad de Ciencias Económicas y Empresariales y Escuela de Ingenierías Agrarias (Universidad de Extremadura)/ Caja de Badajoz. Badajoz.

Laemmli, U.K. (1970): "Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4". *Nature*, n° 227; pp. 680 – 685.

Lamas, E.M., Barros, R.M., Balcao, V.M. y Macalta, F.X. (2001): "Hydrolysis of whey proteins by proteases extracted from *Cynara cardunculus* and immobilized onto highly activated supports". *Enzyme Microbiology and Technology*, n° 28; pp. 642-652.

Lanteri, S., Acquadro, A., Comino, C., Mauro, R., Mauromicale, G. y Portis, E. (2004): "A first linkage map of globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* L.) based on AFLP, S-SAP, M-AFLP and microsatellite markers". *Theoretical and Applied Genetics*, n° 112; pp. 1532-1542.

Macedo, A. C. y Macalta, F.X. (1997): "Hydrolysis of  $\kappa$ - and  $\beta$ -caseins during ripening of Serra cheese". *Food Chemistry* 58; pp. 43-48.

Piergiovanni, A.R., y Taranto, G. (2005): "Specific differentiation in *Vicia* genus by means of capillary electrophoresis". *Journal of Chromatography A.*, nº 1069; pp. 253-260.

Portis, E., Acquadro, A., Comino, C., Mauromicale, G., Saba, E. y Lanteri, S. (2005): "Genetic structure of island population of wild cardoon [*Cynara cardunculus* L. var. *sylvestris* (Lamk) Fiori] detected by AFLPs and SSRs". *Plant Science.* nº 169; pp.199-210.

Roa, I., López, M.B. y Mendiola, F.J. (1999): "Residual clotting activity and ripening properties of vegetable rennet from *Cynara cardunculus* in La Serena cheese". *Food Research International*, nº 32; pp. 413-419.

Serradilla, M.J., Martín, A., Aranda, E., Hernández, A., Benito, M.J., López-Corrales, M., Córdoba, M.G. (2008): "Authentication of "Cereza del Jerte" sweet cherry varieties by free zone capillary electrophoresis (FZCE)". *Food Chemistry*, nº 111; pp. 457-461.

Sidrach, L., García – Canovás, F., Tudela, J., Rodríguez – López, J.N. (2005): "Purification of cynarases from artichoke (*Cynara scolymus*, L.): enzymatic properties of cynarase A". *Phytochemistry*, nº 66; pp. 41 – 49.

Silva, S. V., y Malcata, F. X. (2005): "Studies pertaining to coagulant and proteolytic activities of plant proteases from *Cynara cardunculus*". *Food Chemistry*, nº 89; pp. 19 – 26.

Sonante, G., De Paolis, A., Lattanzio, V. y Perrino, P. (2002): "Genetic variation in wild and cultivated artichoke revealed by RAPD markers". *Genetic Resources and Crop Evolution.* nº 49; pp. 247-252.

Sousa, M.J., Malcata, F.X. (1998): "Proteolysis of ovine and caprine caseins in solution by enzymatic extracts from flowers of *Cynara cardunculus*". *Enzyme and Microbial Technology*, nº 22; pp. 305-314.

Valdés, B., Talavera, S. y Fernández Galiano, E. (1987): *Flora vascular de Andalucía Occidental*. Ketres Editora, S.A. Barcelona. España.

White, P.C., Cordeiro, M.C., Arnold, D., Brodelius, P.E., Kay, J. (1999): "Processing, activity, and inhibition of recombinant cyprosin, as aspartic proteinase from cardoon (*Cynara cardunculus*)". *J. Biol. Chemistry*, nº 274; pp. 16685 – 16693.