



ADRIANO ALVARENGA GAJO

**UTILIZAÇÃO DE ENZIMA
TRANSGLUTAMINASE E SORO
CONCENTRADO POR NANOFILTRAÇÃO NA
ELABORAÇÃO DE QUEIJO *PETIT SUISSE***

LAVRAS - MG

2015

ADRIANO ALVARENGA GAJO

**UTILIZAÇÃO DE ENZIMA TRANSGLUTAMINASE E SORO
CONCENTRADO POR NANOFILTRAÇÃO NA ELABORAÇÃO DE
QUEIJO *PETIT SUISSE***

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador

Ph.D. Luiz Ronaldo de Abreu

LAVRAS - MG

2015

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha
Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados
informados pelo (a) próprio(a) autor(a).**

Gajo, Adriano Alvarenga.

Utilização de enzima transglutaminase e soro concentrado por nanofiltração na elaboração de queijo *petit suisse* / Adriano Alvarenga Gajo. – Lavras : UFLA, 2015.

91 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2015.

Orientador (a): Luiz Ronaldo de Abreu.

Bibliografia.

1. Transglutaminase. 2. Queijo. 3. Petit suisse. 4. Delineamento composto central rotacional. 5. Soro concentrado. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

ADRIANO ALVARENGA GAJO

**UTILIZAÇÃO DE ENZIMA TRANSGLUTAMINASE E SORO
CONCENTRADO POR NANOFILTRAÇÃO NA ELABORAÇÃO DE
QUEIJO *PETIT SUISSE***

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 4 de agosto de 2015.

Dr. José Guilherme Lembi Ferreira Alves UFLA

Dra. Sandra Maria Pinto UFLA

Dr. Paulo Henrique Fonseca da Silva UFJF

Dr. Marco Antônio Moreira Furtado UFJF

Ph.D. Luiz Ronaldo de Abreu

Orientador

Coorientador

Dr. José Guilherme Lembi Ferreira Alves

LAVRAS - MG

2015

*Ao meu pai, Geraldo Gajo (in
memoriam); minha mãe,
Eloisa; meus irmãos, Cristiane
e Giovanni, e sobrinhos, Igor e
Davi*

OFEREÇO

A minha amada esposa, Fabúla

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), em especial ao Departamento de Ciência dos Alimentos, berço de grandes profissionais que imensamente contribuíram para minha capacitação e formação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À minha querida e amada esposa, Fabíula, sempre me dando forças em todo momento de dificuldade, companheira em todas as idas a Lavras para a realização do experimento e paciência incondicional. Sem sua presença tudo seria mais difícil e sem brilho.

Aos meus pais, Geraldo Gajo (*in memoriam*) e Eloísa, exemplos de pessoas, maiores incentivadores no cumprimento desta meta e que tanto me apoiaram, auxiliaram e me deram condição para trilhar este caminho. Eternamente serei grato por tudo que fizeram.

Aos meus irmãos, Cristiane, Giovanni e Letícia, por serem presentes e companheiros nesta caminhada e pela constante união, trazendo alegria em momentos de aflição.

Aos sobrinhos Igor e Davi, que trouxeram brilho em nossas vidas, por meio de uma alegria imensurável que contribuiu imensamente nesta caminhada.

Ao tio Antônio Gajo e tia Lourdes, por todo apoio, incentivo e presença constante em minha vida, dando-me suporte, carinho e atenção durante este curso.

Ao meu orientador, Dr. Luiz Ronaldo de Abreu, pessoa de um conhecimento admirável, a quem agradeço pela oportunidade, ensinamentos, paciência, além da grande amizade e convivência amiga.

Ao professor Dr. José Guilherme Lembi Ferreira Alves, coorientador deste trabalho, profissional de uma paciência e humildade proporcional ao seu conhecimento estatístico. Obrigado – também – pelas orientações via e-mail.

À professora Dra. Sandra Maria Pinto de quem, desde a graduação, tenho colaboração e amizade, e que me proporcionou oportunidades de palestras que contribuíram grandemente para a minha capacitação e por outros feitos que permitiram meu crescimento. Muito obrigado!

Ao primo Tiago Henrique de Paula Alvarenga, pela valiosa amizade, mesmo que a distância, constantemente presente.

Ao grande amigo e professor Ederson Souza, por compartilhar seus conhecimentos com presteza e boa vontade.

Aos membros da banca, pelas correções e sugestões para a finalização deste trabalho.

À funcionária Creuza, do Laboratório de Análises de Leite, pela convivência amigável, pelos momentos alegres, amizade, auxílio, atenção e paciência ao ensinar as análises.

Aos estagiários Amílcar e Rodrigo, sempre dispostos a aprender e a ajudar, com muita responsabilidade e boa vontade.

Ao colega Marcel Gomes Paixão, pelas contribuições e por estar sempre disposto a ajudar.

Aos companheiros de laboratório, Rejjane, Alex Uzêda, Sérgio, Stella Magda e Dieykson.

Aos professores e demais servidores do Instituto Federal Sudeste de Minas Gerais – *campus* de Rio Pomba, em especial aqueles que compõem o Departamento de Alimentos.

Aos meus colegas de trabalho, professores e demais servidores do Instituto Federal Sul de Minas Gerais – *campus* de Machado.

Aos meus familiares, que saibam da sua importância em minha vida,
porque a tornam mais feliz, pois são pessoas especiais e inesquecíveis.

A Deus, o criador de tudo!

Muito Obrigado!

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1

Figura 1	Produção de queijo, no Brasil, por tipo de produto	20
Figura 2	Seletividade de filtração por membranas quanto à sua natureza.....	22
Figura 3	Comparação entre correntes no processo de separação por membranas e sistema comum	23
Figura 4	Formação de novas ligações com atuação da enzima transglutaminase	26

CAPÍTULO 2

Figura 1	Fluxograma de fabricação de queijo <i>petit suisse</i>	38
Figura 2	Modelo da ficha utilizada no teste de aceitação.....	45
Figura 3	Superfície de resposta para o rendimento técnico.....	49

CAPÍTULO 3

Gráfico 1	Transição de percentual de proteínas da mistura inicial (leite + soro concentrado) para o soro.....	85
-----------	---	----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1	Níveis e valores das variáveis independentes do delineamento composto central rotacional para a otimização da quantidade do composto enzimático ACTIVA® YG e soro concentrado	40
Tabela 2	Parâmetros avaliados na composição do soro concentrado e leite desnatado	46
Tabela 3	Ensaio e médias obtidas do rendimento técnico e índice de sinérese	47
Tabela 4	Coefficientes de regressão para rendimento técnico	48
Tabela 5	Análise de variância para o parâmetro de rendimento técnico, a 90% de confiança	48
Tabela 6	Coefficientes de regressão para a sinérese	52
Tabela 7	ANOVA para índice de sinérese	53
Tabela 8	Parâmetros de textura: elasticidade, adesividade, dureza, coesividade, gomosidade e mastigabilidade	56
Tabela 9	Coefficiente de regressão para atributos de textura	57
Tabela 10	Média das notas * atribuídas pelos provadores para sabor, textura, aparência e aspecto global	61

CAPÍTULO 3

Tabela 1	Tratamentos aplicados na elaboração de queijo <i>petit suisse</i> adicionado de soro concentrado	73
Tabela 2	Médias do rendimento técnico e índice de sinérese	79
Tabela 3	Perfil de textura: elasticidade, adesividade, dureza, coesividade, gomosidade e mastigabilidade	83
Tabela 4	Composição química das massas de <i>petit suisse</i>	84
Tabela 5	Média das notas * atribuídas pelos provadores para aparência, sabor, textura e aspecto global	86

RESUMO GERAL

Este trabalho foi realizado com o objetivo geral de estudar o uso de soro fluido concentrado por membranas e da enzima transglutaminase na formulação do queijo *petit suisse* e definir parâmetros tecnológicos de fabricação. Os objetivos específicos foram: 1) estabelecer, por meio da ferramenta estatística de delineamento composto central rotacional, concentrações ideais de soro concentrado e enzima transglutaminase (TG) (EC 2.3.2.13), avaliando o rendimento, a textura, o índice de sinérese e a aceitação sensorial e 2) definir a quantidade ideal da enzima transglutaminase na formulação do queijo *petit suisse* com valor fixado de soro fluido concentrado, avaliando o rendimento, o perfil de textura, o índice de sinérese e a aceitação sensorial. O leite desnatado, o creme e o soro concentrado obtido pelo processo de nanofiltração foram adquiridos no Laticínio Verde Campo Ltda., situado no município de Lavras, MG. A preparação dos queijos foi feita na planta piloto de laticínios no Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (DCA/UFLA); as análises de composição química dos queijos, soro concentrado e do leite foram realizadas no Laboratório de Análises de Leite e Produtos Lácteos, e as análises de textura foram realizadas no Laboratório de Engenharia e Microestrutura, ambos também no DCA/UFLA. Pode-se observar que a relação de leite desnatado/soro concentrado apresentou termo linear positivo, ou seja, quanto maior a proporção de leite, maior o teor de sólidos totais presentes na mistura inicial, e maior será o rendimento técnico. O termo linear de concentração de enzima transglutaminase também foi positivo, significando que quanto maior a concentração de enzima, maior o rendimento. Sobre a sinérese, os resultados em relação aos termos linear e quadrático da relação de leite desnatado/soro concentrado, apenas o linear da concentração de transglutaminase apresentou efeitos estatisticamente significativos ($p \leq 0,10$). O parâmetro elasticidade variou de 0,68 (ensaio 8) a 1,01 (ensaio 10), a adesividade variou de -12,64 (ensaio 7) a -2,53 (ensaio 8), a dureza de 10 (ensaio 5) a 352 (ensaio 2), a coesividade de 0,48 (ensaio 8) a 0,78 (ensaios 2 e 9), a gomosidade de 44 (ensaio 7) a 276 (ensaio 2) e a mastigabilidade de 19 (ensaio 8) a 262 (ensaio 2). Pode-se observar, entre os parâmetros avaliados do perfil de textura, que a dureza foi o parâmetro que foi afetado significativamente pelos termos lineares de relação leite desnatado/soro concentrado e da concentração de enzima, além do termo quadrático de concentração de enzima e da interação entre as duas variáveis independentes. É possível observar, estatisticamente, que, para todos os itens avaliados, houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os dois tratamentos, sendo representado por maiores médias o tratamento 4, constituído de maior quantidade de leite e menor proporção de enzima, quando comparado ao tratamento 8. Os tratamentos 4 e 8, com 95% de leite e 5% de soro concentrado e 0,3% de transglutaminase, e 85% de leite, 15%

de soro concentrado e 0,35% de transglutaminase, respectivamente, apresentaram maiores rendimentos, superando o tratamento 6, com 100% de leite e 0,2% de transglutaminase. Sensorialmente, pode-se concluir que o tratamento 4 obteve melhor aceitação com elevadas concentrações de enzimas e, como no tratamento 8 (0,35%), ocorreram maiores alterações de textura com formação de grumos perceptíveis ao paladar. Nos atributos que compõem o perfil de textura do queijo *petit suisse*, somente o aspecto dureza (g) foi afetado pela proporção leite desnatado/soro concentrado e da enzima transglutaminase, não sendo os demais afetados significativamente ($p < 0,10$).

Palavras-chave: Delineamento composto central rotacional. Queijo. Transglutaminase.

GENERAL ABSTRACT

This study was performed with the general aim of studying the use of concentrate fluid whey and the enzyme transglutaminase in the cheese formulation petit suisse and set technological manufacturing parameters. The specific objectives were: 1) to establish, through the delineation of statistical tool central composite, optimal concentrations of serum concentrate and enzyme transglutaminase (TG) (EC 2.3.2.13), evaluating the performance, texture, syneresis index and sensory acceptance and 2) define the optimal amount of the enzyme transglutaminase in the cheese formulation petit suisse with fixed value of serum concentrated fluid, assessing income, texture profile, syneresis index and sensory acceptance. The skim milk, the cream and the concentrated whey obtained by nanofiltration process were acquired in Dairy Campo Verde Ltda., located in Lavras, MG. The preparation of the cheese was made in dairy pilot plant at the Department of Food Science at the Federal University of Lavras (DCA / UFLA); the cheeses chemical composition, whey concentrate and milk analysis were held at Milk Analysis Laboratory and Milk Products, and the texture analyzes were conducted at the Engineering Laboratory and Microstructure, both also in DCA / UFLA. It can be seen that the ratio skimmed milk / whey concentrate showed a positive linear term, in other words, the higher the proportion of milk, the larger the total solids present in the initial mixture and the technical higher yield. The term transglutaminase enzyme concentration threshold was also positive, meaning that the higher the enzyme concentration, the higher the yield. About syneresis, the results on the linear and quadratic terms of the ratio of skim milk / whey concentrate, only the linear transglutaminase concentration showed a statistically significant effect ($p \leq 0.10$). The elasticity parameter varies from 0.68 (test 8) to 1.01 (test 10), the adhesive ranged from -12.64 (test 7) -2.53 (test 8), hardness 10 (test 5) 352 (test 2), the cohesiveness of 0.48 (test 8) 0.78 (tests 2 and 9), waxiness 44 (test 7) to 276 (test 2) and chewiness 19 (test 8) 262 (test 2). It can be observed, between the evaluated parameters of the texture profile, the hardness was the parameter that was significantly affected by linear terms of ratio skimmed milk / whey concentrate and the enzyme concentration beyond the quadratic term enzyme concentration and interaction between the two independent variables. It can be observed statistically that, for all items, a significant difference ($p < 0.05$) between the two treatments, being represented by higher average the treatment 4, consisting of more milk and less proportion of enzyme, compared to treatment 8. Treatments 4 and 8, with 95% and 5% milk whey concentrate and 0.3% transglutaminase, and 85% milk, 15% concentrated serum transglutaminase and 0.35%, respectively, showed higher yields, overcoming the treatment 6, with 100% milk and 0.2% transglutaminase. Sensorially, it can be concluded that treatment 4 obtained better acceptance with high concentrations of enzymes and,

such as the treatment 8 (0.35%), showed higher texture changes with the formation of lumps perceptible to the palate. In the attributes that compose the texture profile of petit suisse cheese, only the appearance hardness (g) was affected by the proportion skim milk / whey concentrate and transglutaminase enzyme, therefore the others, not being too affected significantly ($p < 0.10$).

Keywords: Central composite design. Cheese. Transglutaminase.

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1	16
	INTRODUÇÃO GERAL	16
1	INTRODUÇÃO	16
2	REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1	<i>Petit suisse</i>	18
2.2	Concentração do soro por membranas	21
2.3	Enzima transglutaminase	24
	REFERÊNCIAS	29
	CAPÍTULO 2 Estudo dos diferentes níveis de soro fluido concentrado por nanofiltração e transglutaminase na elaboração de queijo <i>petit suisse</i>	33
1	INTRODUÇÃO	35
2	MATERIAL E MÉTODOS	37
2.1	Fabricação do queijo <i>petit suisse</i>	38
2.2	Delineamento experimental e análise estatística	39
2.3	Análise de textura	41
2.4	Análises físicas e químicas realizadas no leite e soro	41
2.5	Cálculo de rendimento técnico e cifras de transição	42
2.6	Índice de sinérese	43
2.7	Análise sensorial	44
2.8	Teste de aceitação	44
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES	46
3.1	Caracterização das matérias-primas	46
3.2	Rendimento técnico	47
3.3	Índice de sinérese	52
3.4	Análise do perfil de textura	56
3.5	Sensorial	60
4	CONCLUSÃO	63
	REFERÊNCIAS	64
	CAPÍTULO 3 Estudo da concentração ideal de transglutaminase em queijo <i>petit suisse</i> adicionado de 15% de soro concentrado por nanofiltração	68
1	INTRODUÇÃO	71
2	MATERIAL E MÉTODOS	73
2.1	Fabricação dos queijos	73
2.2	Análise de textura do queijo	75
2.3	Análises físicas e químicas do queijo <i>petit suisse</i>	75
2.4	Cálculo de rendimento e cifras de transição	76
2.5	Índice de sinérese	77

2.6	Análise sensorial.....	77
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
3.1	Rendimento econômico e índice de sinérese	79
3.2	Análise do perfil de textura	82
3.3	Composição química	84
3.4	Sensorial.....	86
4	CONCLUSÕES	88
	REFERÊNCIAS	89

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO GERAL

1 INTRODUÇÃO

O leite é tradicionalmente consumido de forma direta, ou de forma indireta, por meio de seus derivados, como diversos tipos de queijos, leites fermentados, leite em pó, leite condensado e sobremesas lácteas. Estes derivados têm sabor agradável e diversificado, contribuindo, de forma positiva, para o aumento e a procura por esses produtos. Entre eles, destaca-se o queijo *petit suisse*, de origem francesa, com aspecto cremoso e fresco, com amplo consumo no Brasil, especialmente pelo público infantil, por tratar-se de um queijo adoçado e adicionado de polpas de frutas.

Atualmente, no mundo, nota-se que diversos institutos de pesquisas vêm dando crescente e especial atenção ao aproveitamento de subprodutos e resíduos da indústria alimentícia por questões ambientais e econômicas, criando novos produtos, incrementando formulações tradicionais, aumentando o rendimento em produtos e contribuindo com seu valor nutricional.

Entre os diversos subprodutos gerados pela indústria de alimentos, o soro de leite é um dos mais significativos em volume de produção. De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (2010), a produção de queijos brasileira, sob regime de inspeção federal, foi de 896 mil toneladas, no ano de 2010. Na manufatura desses produtos, o soro de leite representa, em média, 90% do total de volume de leite inicial.

O soro é um subproduto que pode ser altamente poluente, caso seja descartado de maneira inadequada, como, por exemplo, em cursos d'água. É produzido em grande escala, apresenta riqueza de constituintes químicos, com

ênfase na fração proteica, por possuir alto valor nutricional. Além desta riqueza, essas proteínas têm excelentes propriedades tecnológicas, como excelente solubilidade em água, capacidade emulsificante e auxílio na viscosidade, sendo amplamente exploradas na fabricação de produtos cárneos emulsionados, lácteos e na área de panificação. Realizar sua concentração é uma alternativa interessante, já que este produto apresenta elevadas concentrações de água.

O processo de concentração por nanofiltração é uma tecnologia bastante difundida no mundo, porém, no Brasil ainda é pouco adotado pelos laticínios devido à baixa qualidade dos soros gerados e ao elevado custo de implementação desta etapa.

A utilização de enzima transglutaminase (E.C 2.3.2.13) em produtos lácteos, no intuito de melhorar a textura, aumentar rendimentos e contribuir positivamente para o índice de sinérese em iogurtes, bebidas lácteas e queijos, vem sendo estudada. No entanto, seu uso em queijo *petit suisse*, até o momento, não foi bem investigado.

Este trabalho foi realizado com o objetivo geral de estudar o uso de soro fluido concentrado por membranas e da enzima transglutaminase na formulação do queijo *petit suisse* e definir parâmetros tecnológicos de fabricação. Os objetivos específicos foram: 1) estabelecer, por meio da ferramenta estatística de delineamento composto central rotacional, concentrações ideais de soro concentrado e enzima transglutaminase (TG) (EC 2.3.2.13), avaliando o rendimento, a textura, o índice de sinérese e a aceitação sensorial e 2) definir a quantidade ideal da enzima transglutaminase na formulação do queijo *petit suisse* com valor fixado de soro fluido concentrado, avaliando o rendimento, o perfil de textura, o índice de sinérese e a aceitação sensorial.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Petit suisse*

Entende-se por queijo *petit suisse* o queijo fresco, não maturado, obtido por coagulação do leite com coalho e/ou de enzimas específicas e/ou de bactérias específicas, adicionado ou não de outras substâncias alimentícias, sendo classificado como um queijo de altíssima umidade, a ser consumido fresco, de acordo com a classificação estabelecida no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos (BRASIL, 2000). Em geral, este queijo apresenta características semelhantes às do queijo quark, como elasticidade, viscosidade e viscoelasticidade, as quais determinam sua textura e influenciam a consistência e a estabilidade final (FOX et al., 2000).

Desenvolvido por Charles Chervais, em 1850, é produzido com leite desnatado e adicionado de creme, e sua massa é obtida pelo processo de coagulação mista, podendo ser adicionado de condimentos doces ou salgados (SANDRAZ, 1989). Sua fabricação implica na utilização de centrífuga para efetuar o processo de separação da massa, produzindo o queijo quark, que é a base, juntamente com açúcar, creme e frutas, para produzir o *petit suisse* (VEIGA; VIOTTO, 2001). É obtido por precipitação ácida e enzimática de leite desnatado (adição de cultura *starter* mesofílica e agente coagulante na dose de 10% recomendada pelo fabricante). Quando o pH atinge 4,6, forma-se uma coalhada ácida que é, então, destinada para a fase de separação do soro (KOSIKOWSKI, 1978; KROGER, 1980). Sem o soro, a massa é utilizada para a fabricação de diversos tipos de queijo, dependendo dos ingredientes adicionados, como sal e condimentos para a produção de queijos condimentados ou açúcar e base de frutas para o queijo *petit suisse* (MORGADO; BRANDÃO,

1998). Existe também a possibilidade de incluir o iogurte natural entre os ingredientes da sua formulação (REBOUÇAS; LIMA; COSTA, 2009).

No Brasil, comumente, o produto é consumido como sobremesa e dirigido, principalmente, ao público infantil. Apesar de boa aceitação e produção crescente, os índices de consumo são considerados ainda pequenos, quando comparados aos de outros países (VEIGA et al., 2000).

A produção anual de queijo *petit suisse* no país aumentou de cerca de 14.000 t, em 1991, para cerca de 22.000 t, em 2001 e projetava-se um volume de 23 mil toneladas para o ano de 2002 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO - ABIQ, 2002). No ano de 2003, a produção foi em torno de 50 mil toneladas; já no ano de 2011, foi de, aproximadamente, 90 mil toneladas, com uma estimativa, para 2014, de quase 110 mil toneladas (DATAMARK, 2012). Segundo a ABIQ (2013), foi o queijo que teve maior incremento na produção nos últimos cinco anos, de 2007 a 2011, com um crescimento de 102,1%. Diante destes dados, é notável observar que a fabricação deste queijo cresce, a curto prazo, de forma acelerada, o que o coloca entre os queijos de maior aumento em sua produção. Para que se tenham informações sobre seu impacto econômico, no ano de 2005, movimentou R\$ 404 milhões, com a venda de 46 mil toneladas do produto, contabilizando todas as marcas disponíveis no mercado (MILKNET, 2014).

O *petit suisse* integra o grupo de tipos de queijos mais produzidos no Brasil. Na Figura 1 é possível observar que os mais produzidos são muçarela, prato, requeijão, minas frescal e *petit suisse*. Embora esteja entre os últimos nesta classificação, o *petit suisse* é amplamente consumido como sobremesa, com excelente aceitação.

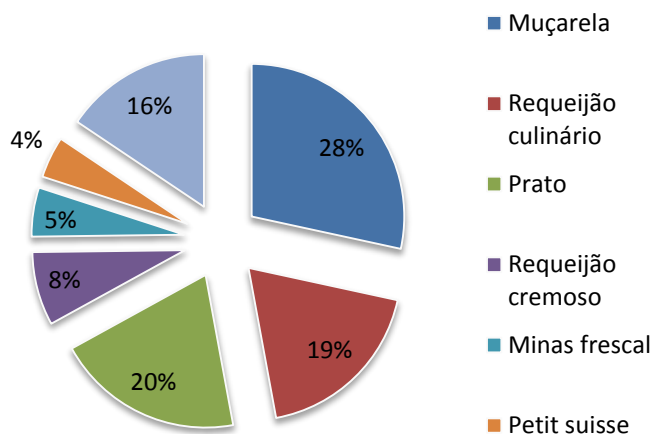


Figura 1 Produção de queijo, no Brasil, por tipo de produto
Fonte: ABIQ (2013)

Por ser amplamente difundido no Brasil, com considerável participação na fatia do mercado, como mencionado anteriormente, este produto tem sido alvo de atenção de diversas pesquisas, nos últimos anos, no país.

Maruyama et al. (2006) estudaram a viabilidade de o queijo *petit suisse* ser um veículo adequado de probióticos para o consumo. Souza et al. (2010) avaliaram o uso de diferentes edulcorantes na elaboração de *petit suisse* sabor morango, com baixo valor calórico. Boatto et al. (2014) propuseram um produto similar ao *petit suisse*, fabricado à base de soja. Santos et al. (2012) desenvolveram *petit suisse* elaborado com kefir, como proposta de desenvolvimento de uma sobremesa contendo microrganismos de ação probiótica. Veiga e Viotto (2001) estudaram a influência do tratamento térmico do leite no fluxo permeado no rendimento proteico em *petit suisse* obtido por ultrafiltração de leite coagulado. Não foi possível encontrar, na literatura,

estudos com propostas de inserção de soro concentrado na formulação do queijo *petit suisse* e utilização da enzima TG.

2.2 Concentração do soro por membranas

O desenvolvimento das operações de separação por membranas e suas aplicações industriais é recente, tendo surgido na década de 1960. Todavia, há estudos de fenômenos envolvendo membranas há mais de um século. A partir dos anos 1970, surgiu uma geração de membranas que atualmente domina o mercado, à base de diversos polímeros sintéticos. A utilização de polímeros de maior resistência química e mecânica resultou em membranas mais eficientes e de vida útil mais longa, consolidando os processos de separação por membranas como uma nova e competitiva classe de operações de separação. Inicialmente, foi utilizado pelas indústrias de alimentos, na área de laticínios, no intuito de concentrar o leite para a fabricação de queijos, por um grupo de pesquisadores franceses, os quais se apoiaram nas técnicas de membranas utilizadas pela indústria nuclear (DAUFIN; RENÉ; AIMAR, 1998).

As membranas têm várias configurações e são selecionadas de acordo com as necessidades específicas de cada aplicação (BOSCHI, 2006). Na Figura 2 podem-se observar diferentes sistemas de separação por meio da utilização de membranas.

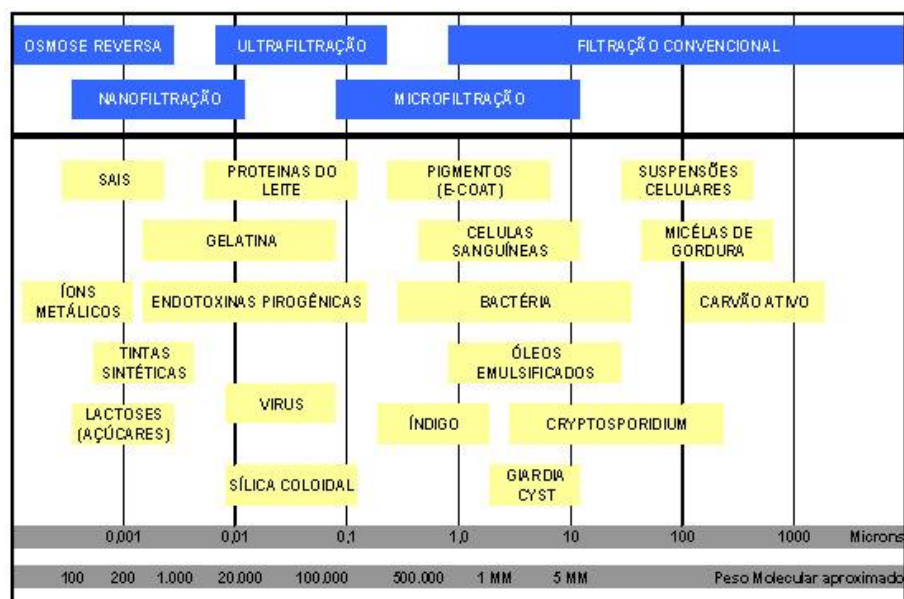


Figura 2 Seletividade de filtração por membranas quanto à sua natureza
Fonte: WGM Sistemas (2014)

Na indústria de alimentos, a adoção de tecnologias de membranas apresenta diversas vantagens em relação a outros processos de separação. Devido ao fato de suas necessidades energéticas serem inferiores, não ocorrem a degradação térmica de componentes termolábeis e a preservação do sabor, entre outras (MACEDO, 2010).

O processo de separação por membranas é caracterizado pelo fato de a corrente de alimentação ser dividida em duas correntes, a de concentrado e a de permeado, o que implica que a corrente de concentrado ou do permeado será o resultado da separação (Figura 3). As partículas e os solutos retidos na superfície da membrana são continuamente removidos no concentrado que flui tangencialmente ao longo da superfície das membranas (CONCEIÇÃO, 2009).

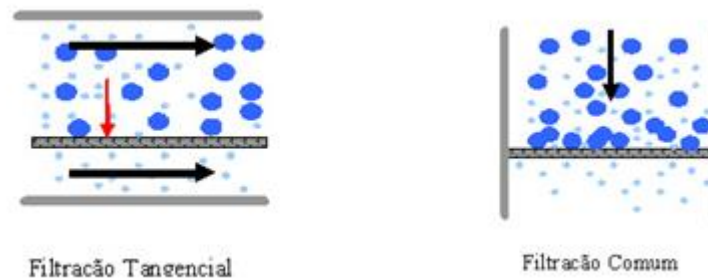


Figura 3 Comparação entre correntes no processo de separação por membranas e sistema comum

A nanofiltração é caracterizada por trabalhar com gradiente de pressão de 5 a 40 atm, com poros variando entre 0,001 a 0,005 μm , com principal mecanismo de ação exclusão por tamanho/difusão, retendo moléculas de massa molar média entre 500 e 2.000 Da, com aplicações em purificação de proteínas, separação de compostos orgânicos e sais divalentes e dessulfatação de água marinha.

A prática usual de alguns laticínios persiste no descarte do soro de leite, resultante da produção de queijos, em esgotos ou mananciais. Embora contendo ainda cerca de 0,8% de proteínas, este subproduto é muito rico em água e lactose (94% e 4,5%, respectivamente) e os custos com tecnologia para concentrá-lo são elevados. Porém, quando os laticínios investem no aproveitamento e na concentração do soro de leite, acabam se favorecendo das propriedades funcionais das proteínas que o compõem (ANTUNES; ANTUNES; CARDELLO, 2004).

As proteínas do soro apresentam inúmeras propriedades funcionais de interesse industrial. Segundo Antunes (2003), a β -lactoglobulina apresenta excelente propriedade gelatinizante, a α -lactoalbumina tem a capacidade de formar espuma similar à da clara de ovo, e a lactoferrina e a lactoperoxidase apresentam propriedades bacteriostáticas.

Aproximadamente 50% da produção mundial de soro de leite são tratados e adicionados em diversos produtos alimentares, sendo quase a metade desse total utilizada diretamente na forma líquida, 30% na forma de pó de soro de leite, 15% como lactose e o restante como concentrado de proteínas do soro de queijo (SISO, 1996).

Várias técnicas são aplicadas com a intenção de concentrar o soro, como evaporação, osmose reversa, desmineralizado por eletrodialise ou resinas de troca iônica. A nanofiltração (NF) é um método alternativo para reduzir a quantidade de sais e concentrar as proteínas do soro em apenas uma etapa. As membranas de NF têm alta permeabilidade para sais monovalentes (NaCl, KCl) e baixa permeabilidade para compostos orgânicos (lactose, proteínas, ureia). Este método reduz o consumo de energia, obtendo um concentrado de proteínas parcialmente desmineralizado que pode ser utilizado em produtos alimentícios e rações (BRANS et al., 2004).

No que diz respeito à fração mineral do soro lácteo, as membranas de nanofiltração apresentam retenção elevada (>90%) em relação aos íons bivalentes, como o cálcio e o magnésio, mas uma retenção menor, igual ou superior a 50%, para os íons monovalentes, como sódio, potássio e cloreto (HORST, 1995; KELLY; HORTON; BURLING, 1992; MULDER, 1996).

2.3 Enzima transglutaminase

A enzima transglutaminase (EC 2.3.2.13) é pertencente à família de enzimas que catalisam a formação de ligações covalentes entre um grupo amino livre (exemplo: proteína ou peptídeo – ligação lisina) e o grupo γ -carboxamida do resíduo glutâmico (Figura 4). As ligações formadas por esta enzima exibem alta resistência à degradação proteolítica (GOESAERT et al., 2005).

A enzima transglutaminase é encontrada naturalmente na maioria dos tecidos animais e fluidos corpóreos e está envolvida em vários processos biológicos, incluindo a coagulação sanguínea (Fator XIIa), a cicatrização de ferimentos, a queratinização da epiderme e o endurecimento da membrana eritrócita (YOKOYAMA; NIO; KIKUCHI, 2004). Todavia, para aplicação na indústria alimentícia, somente a enzima proveniente de microrganismos específicos pode ser utilizada.

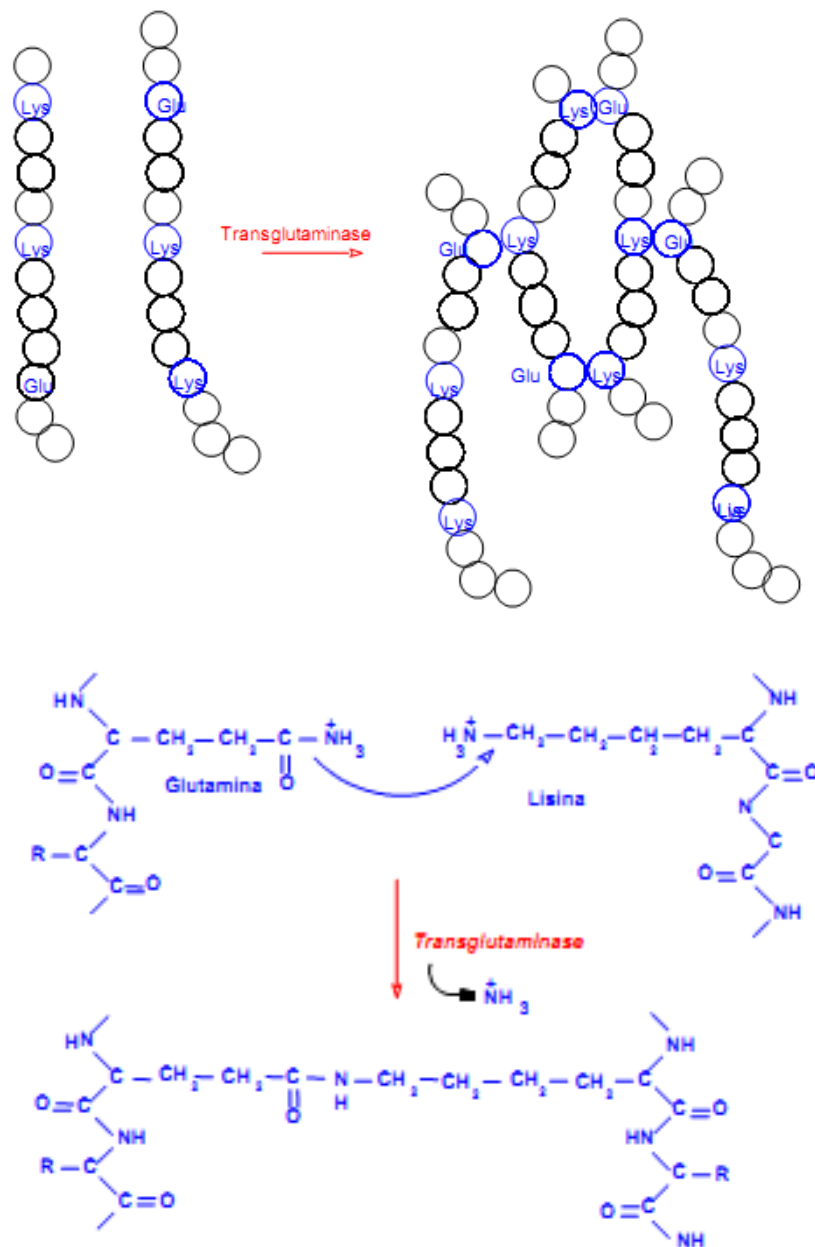


Figura 4 Formação de novas ligações com atuação da enzima transglutaminase

Comercialmente, a transglutaminase é produzida por meio de fermentação microbológica pelos microrganismos *Streptomyces mobaraense* e

Streptovercillium mobaraense. A enzima produzida é separada, purificada e estabilizada para utilização nos alimentos, denominada de transglutaminase microbiana (ZHU et al., 1995).

No mecanismo de reação catalisada pela TG, o grupo tiol de uma cisteína ataca a cadeia lateral de um resíduo de glutamina acessível no substrato proteico, formando um complexo acil-enzima e amônia. No passo seguinte, uma amina primária entra no lugar da enzima, formando uma glutamina carboxamida modificada. Se a ligação proteica envolve a lisina, a ligação cruzada entre peptídeos, intra ou intermolecular, ocorre via N (γ -glutaminil) L-lisina. Dessa forma, as reações com transglutaminase levam à formação de agregados proteicos irreversíveis, sendo muito importante a regulação da ação desta enzima nos organismos.

Outra vantagem é que as ligações formadas pela TG são absorvidas normalmente pelo nosso organismo, sem nenhum prejuízo ao valor nutricional dos alimentos ou alteração em seu sabor ou aroma original.

É notável que a TG microbiana tem sido amplamente pesquisada em diversos tipos de alimentos. Faria (2010) avaliou o efeito da TG no desenvolvimento de bebida láctea com alto conteúdo de soro. Rossa (2010) elucidou a otimização desta enzima em sorvetes. Rodriguez-Nogales (2006) avaliou a influência do pré-tratamento térmico no leite de cabra sobre a possível influência sobre a atividade da TG. Gauche et al. (2009) estudaram as propriedades físicas de iogurte fabricado com adição de soro de leite e TG. Nos trabalhos citados, a enzima TG promoveu melhoria nos produtos lácteos, como aumento de viscosidade, diminuição de sinérese e maior força do gel, entre outros.

A legislação brasileira permite a utilização da transglutaminase de origem microbiana (*Streptovercillium mobaraense*) na indústria de alimentos, em concentração suficiente para o efeito desejado, sem especificação para limite

máximo permitido (BRASIL, 2003). No Brasil, a enzima TG está disponível na linha Activa® e em preparações produzidas pela Ajinomoto, que utilizam a enzima como ingrediente na indústria de alimentos.

REFERÊNCIAS

ANTUNES, A. E. C.; ANTUNES, A. J.; CARDELLO, H. M. A. B. Chemical, physical microstructural and sensory properties of set fat-free yogurts stabilized with whey protein concentrate. **Milchwissenschaft**, Malden, v. 59, n. 3/4, p. 161-165, 2004.

ANTUNES, A. J. **Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino**. São Paulo: Manole, 2003. 135 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO. **Produção brasileira de produtos lácteos em estabelecimentos sob inspeção federal**. São Paulo, 2002. Disponível em: <http://www.abiq.com.br/abiq_noticias_ler.asp?codigo=861&codigo_categoria=2&codigo_subcategoria=16>. Acesso em: 10 mar. 2015.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO. **Produção de leite deve subir 5% em 2012**. São Paulo, 2013. Disponível em: <http://www.abiq.com.br/noticias_ler.asp?codigo=963&codigo_categoria=6&codigo_subcategoria=7>. Acesso em: 4 jun. 2015.

BOATTO, A. D. et al. Desenvolvimento e caracterização de queijo tipo petit suisse de soja comum e de soja livre de lipoxigenase, enriquecidos com cálcio. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 30, n. 28, p. 766-770, nov. 2014.

BOSCHI, J. R. **Concentração e purificação das proteínas do soro de queijo por ultrafiltração**. 2006. 105 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

BRANS, G. et al. Membrane fractionation of milk: state of the art and challenges. **Journal of Membrane Science**, Pennsylvania, v. 243, p. 263-272, 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 348**, de 2 de dezembro de 2003. Aprova de forma complementar ao Anexo da Resolução CNNPA nº 24 de 1976, a utilização de enzimas na indústria de alimentos.

Brasília, 2003. Disponível em: <[http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP\[13128-1-0\].pdf](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP[13128-1-0].pdf)>. Acesso em: 10 dez. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Instrução Normativa nº 53**, de 29 de dezembro de 2000. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo Petit suisse. Brasília, 2000. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1774>>. Acesso em: 10 dez. 2014.

CONCEIÇÃO, S. S. N. **Desenvolvimento de um sistema de nanofiltração para regeneração de água de processo**. 2009. 425 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade do Porto, Porto, 2009.

DATAMARK. **Marketing intelligence Brazil**. Disponível em: <<http://www.datamark.com.br/analise-de-mercado/iogurtes-e-sobremesa/petit-suisse-109/>>. Acesso em: 4 jun. 2015.

DAUFIN, G.; RENÉ, F.; AIMAR, P. **Les separations par membrane dans les procédés de l'industrie alimentaire**. Paris: Sciences et Techniques Agroalimentaires, 1998. 21 p.

FARIA, D. S. **Estudo dos efeitos da aplicação de transglutaminase em bebida láctea fermentada com alto conteúdo de soro**. 2010. 116 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, 2010.

FOX, P. F. et al. **Fundamentals of cheese Science**. Gaithersburg: Aspen, 2000. 587 p.

GAUCHE, C. et al. Physical properties of yoghurt manufactured with milk whey and transglutaminase. **Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 42, p. 239-243, Aug. 2009.

GOESAERT, H. et al. Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 16, p. 12-30, Mar. 2005.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Abate de animais**. Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <<http://ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/default.shtm>>. Acesso em: 4 jun. 2015.

HORST, H. C. van der. Fouling of organic membranes during processing of dairy liquids. In: _____. **Fouling and cleaning in pressure driven membrane processes**. Brussels: International Dairy Federation, 1995. p. 36-52.

KELLY, P. M.; HORTON, B. S.; BURLING, H. Partial demineralization of whey by nanofiltration. **New Applications of Membrane Processes**, New York, v. 9201, p. 130-140, 1992. Special issue.

KOSIKOWSKI, F. Bakers', nefchatel and cream cheese. In: KOSIKOWSKI, F. (Ed.). **Cheese and fermented milk foods**. 2nd ed. New York: F. V. Kosikowski, 1978. p. 144-167.

KROGER, M. The manufacture of quarg cheese. **Cultured Dairy Production Journal**, Washington, v. 15, n. 3, p. 11-14, 1980.

MACEDO, A. T. Z. **Fracionamento de lactossoro de ovelha por tecnologias de membranas e estudo das possíveis utilizações dos concentrados obtidos**. 2010. 425 p. Tese (Doutorado em Engenharia Agroindustrial) - Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2010.

MARUYAMA, L. Y. et al. Textura instrumental de queijo petit-suisse potencialmente probiótico: influência de diferentes combinações de gomas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 386-393, 2006.

MILKNET. **Petit Suisse**: Danone continua líder. 2008. Disponível em: <<http://www.milknet.com.br/?pg=noticia&id=2851&buscador=-PETIT-SUISSE-DANONE-CONTINUA-LIDER&local=1>>. Acesso em: 29 out. 2014.

MORGADO, F. E. F.; BRANDÃO, S. C. C. Ultrafiltração do leite para a produção de queijo tipo petit suisse. **Indústria de Laticínios**, São Paulo, v. 2, n. 13, p. 35-44, 1998.

MULDER, M. **Basic principles of membrane technology**. 2nd ed. Wageningen: Kluwer Academic, 1996. 21 p.

REBOUÇAS, C. M. S.; LIMA, C. S.; COSTA, J. V. Elaboração de petit suisse enriquecido com soja. **Láctea - Revista Eletrônica do Curso de Tecnologia de Laticínios**, Goiânia, v. 1, p. 17-25, 2009.

RODRIGUEZ-NOGALES, J. M. Effect of preheat treatment on the transglutaminase-catalyzed cross-linking of goat milk proteins. **Process Biochemistry**, London, v. 41, n. 2, p. 430-437, 2006.

- ROSSA, P. N. **Influência da enzima transglutaminase nas propriedades funcionais de sorvetes com diferentes teores de gordura**. 2010. 117 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.
- SANDRAZ, M. H. Fromage Frais: le bénéfice de l'innovation. **Revue Laitiere Française**, Paris, n. 486, p. 26-30, 1989.
- SANTOS, T. S. S. et al. Petit suisse cheese from *kefir*: an alternative dessert with microorganisms of probiotic activity. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 32, n. 3, p. 485-491, 2012.
- SISO M. I. G. The biotechnological utilization of cheese whey: a review. **Bioresource Technology**, Essex, v. 57, p. 1-11, July 1996.
- SOUZA, V. R. et al. Elaboração de queijo petit suisse sabor morango de baixo valor calórico. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 374, n. 65, p. 49-58, maio/jun. 2010.
- VEIGA, P. G. et al. Caracterização química, reológica e aceitação sensorial de queijo petit-suisse brasileiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 3, p. 349-357, 2000.
- VEIGA, P. G.; VIOTTO, W. H. Fabricação de queijo petit suisse por ultrafiltração de leite coagulado: efeito do tratamento térmico do leite no desempenho da membrana. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 3, p. 267-272, 2001.
- WGM SISTEMAS. **Sistemas de membranas: filtração tangencial (CROSS-FLOW)**. Disponível em: <<http://www.wgmsistemas.com.br/p1.asp>>. Acesso em: 10 dez. 2014.
- YOKOYAMA, K.; NIO, N.; KIKUCHI, Y. Properties and applications of microbial transglutaminase. **Applied Microbiology and Biotechnology**, New York, v. 64, p. 454-454, Aug. 2004.
- ZHU, Y. et al. Microbial trans- glutaminase: a review of its production and application in food processing. **Applied Microbiology and Biotechogy**, New York, v. 44, p. 277-282, May 1995.

CAPÍTULO 2

Estudo dos diferentes níveis de soro fluido concentrado por nanofiltração e transglutaminase na elaboração de queijo *petit suisse*

RESUMO

A produção brasileira de queijos tem uma diversificação bastante ampla, gerando inúmeras variedades e possibilitando um mercado nobre. O queijo *petit suisse*, considerado uma sobremesa láctea, também passa pelo processo de dessoramento da coalhada para a obtenção de uma massa, considerada a base para a elaboração deste produto. O soro concentrado obtido por meio da tecnologia de nanofiltração é um excelente produto para aplicação na indústria alimentícia, pois, neste processo, não são empregadas temperaturas elevadas, preservando as características de seus componentes químicos. A transglutaminase microbiana tem sido alvo de pesquisas em diversos tipos de alimentos. No presente estudo objetivou-se avaliar a utilização em diferentes níveis de enzima transglutaminase e soro fluido concentrado proveniente do processo de nanofiltração na elaboração de queijo *petit suisse*. Foram testadas concentrações de soro concentrado por nanofiltração e concentrações de enzima transglutaminase. De acordo com os dados obtidos, todos os termos quadráticos e lineares, tanto para a concentração de soro quanto para a concentração de transglutaminase, apresentaram efeitos estatisticamente significativos para o rendimento técnico ($p \leq 10$). Para o índice de sinérese, o termo linear da concentração de transglutaminase apresentou efeitos estatisticamente significativos sobre a sinérese ($p \leq 0,10$). No atributo de textura instrumental, somente a dureza foi afetada pela concentração de soro concentrado por nanofiltração e enzima TG. De acordo com os tratamentos estudados, observou-se que os ensaios 4 e 8 apresentaram maiores desempenhos, em termos de rendimento, sendo realizado um estudo sensorial destes tratamentos. Foi possível observar, sensorialmente, para todos os parâmetros avaliados, diferença significativa ($p < 0,05$) entre os dois tratamentos avaliados, sendo representado por maiores médias o tratamento 4, constituído de maior quantidade de leite e menor proporção de enzima, quando comparado ao tratamento 8. Pode-se concluir que o rendimento do queijo *petit suisse* adicionado de soro nanofiltrado e enzima transglutaminase é afetado positivamente, tendo os tratamentos com 85% de leite e 15% de soro nanofiltrado e 0,35% e 0,06% de TG (7 e 8, respectivamente) apresentado maiores rendimentos.

Palavras-chave: Queijo. Petit Suisse. Enzima transglutaminase. Soro concentrado.

ABSTRACT

The Brazilian production of cheese has a very broad diversification, generating numerous varieties enabling a noble market. The petit suisse cheese is considered a dairy dessert, also passes through the curd draining process to obtain a dough, considered the basis to prepare this product. The concentrated whey obtained by nanofiltration technology is an excellent product for use in food industry, because this process does not require the use of high temperatures, preserving the characteristics of their chemical components. It is notable that microbial transglutaminase has been the subject of many researches in various kinds of food. The present study aimed to evaluate the use of different levels of TG enzyme and whey concentrated fluid from the nanofiltration process in the preparation of petit suisse cheese. According to the data obtained, all quadratic and linear terms, both the serum concentration as to the concentration of transglutaminase, Aactiva® YG, showed statistically significant effects related to the technical performance ($p \leq 10$). For syneresis rate, the linear term of transglutaminase concentration in Aactiva®YG showed a statistically significant effect on syneresis ($p \leq 0.10$). In the instrumental texture parameter, only the hardness was the most affected by the treatments applied to the experiment. According to the treatments analyzed, we noted that the trials 4 and 8, showed higher performance in terms of yield, a sensory study of these treatments being performed. It was observed, sensory, for all parameters, significant differences ($p < 0.05$) between both treatments, represented by higher average treatment 4, consisting of more milk and less proportion enzyme when compared to treatment 8. It can be concluded that the yield of petit suisse cheese added nanofiltered whey and transglutaminase enzyme is affected positively, where treatments with 85% milk and 15% nanofiltered whey and 0.35 % 0, 06 % 1 TG (7:08 respectively) had higher incomes.

Keywords: Cheese. Petit suisse. Enzyme transglutaminase. Whey Concentrate.

1 INTRODUÇÃO

A produção de queijos no Brasil é uma atividade de grande importância para o setor lácteo, constituindo o principal derivado do leite. A produção brasileira de queijos tem uma diversificação bastante ampla, gerando inúmeras variedades, possibilitando um mercado nobre.

Dentre os queijos fabricados no Brasil, os mais produzidos são de massa salgada. No entanto, o queijo *petit suisse* de massa doce tornou-se um queijo tradicional e comum para as fábricas de laticínios brasileiras, tendo como alvo o público infantil, consumidor principal deste produto, por ser adoçado e ser ofertado com sabores de frutas, como morango, banana e maçã, entre outras, promovendo aumento de sua aceitação.

Como na maioria dos queijos, o *petit suisse* também passa pelo processo de dessoramento da coalhada para a obtenção de uma massa, considerada a base para a elaboração deste produto.

É possível observar que a aplicação de enzimas pelas indústrias do setor alimentício é uma prática bastante comum e antiga. É notável que novas enzimas sejam descobertas e, desse modo, tornam-se alvo de pesquisas, como no caso da transglutaminase (TG), que pode ser encontrada em microrganismos, animais e vegetais. Todavia, somente a TG proveniente dos microrganismos *Streptomyces mobaraense* e *Streptoverticillium mobaraense* podem ser utilizadas pela indústria alimentícia, de acordo com a RDC n° 205 (BRASIL, 2006).

A aplicação da TG tem sido notada com destaque em carnes, proteínas de soja e leite. Sua aplicação no setor lácteo brasileiro, entretanto, ainda encontra restrições, não podendo ser adicionada em queijos, com exceção do *petit suisse*.

A enzima TG tem a capacidade de fazer ligações cruzadas entre proteínas por meio do grupo acil, formando ligações cruzadas inter e

intramoleculares, por meio de ligações covalentes entre resíduos de glutamina e lisina, formando polímeros. Em alguns estudos foram observadas modificações das propriedades tecnológicas dos alimentos proteicos processados, com melhoria da textura, sabor e aroma.

O soro concentrado obtido por meio da tecnologia de nanofiltração é um excelente produto para aplicação na indústria alimentícia, pois são preservadas suas características nutricionais. A utilização da nanofiltração permite obter um soro concentrado, com teor proteico superior ao do soro inicial.

O presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a utilização em diferentes níveis de enzima TG e de soro fluido concentrado proveniente do processo de nanofiltração como substituinte parcial do leite na elaboração de queijo *petit suisse*, a fim de elucidar sua aplicação e os efeitos nos parâmetros tecnológicos e de qualidade.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O leite desnatado, o creme e o soro concentrado obtido pelo processo de nanofiltração foram adquiridos no Laticínio Verde Campo Ltda., situado no município de Lavras, MG. A preparação dos queijos foi feita na planta piloto de laticínios no Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (DCA/UFLA) e as análises de composição química dos queijos, soro concentrado e do leite foram realizadas no Laboratório de Análises de Leite e Produtos Lácteos, e as análises de textura foram realizadas no Laboratório de Engenharia e Microestrutura, ambos também no DCA/UFLA.

O leite desnatado e o soro concentrado foram analisados antes de serem utilizados na fabricação.

A enzima transglutaminase utilizada foi cedida pela Ajinomoto, comercializada com ACTIVA® YG, contendo lactose, extrato de levedura, maltodextrina, transglutaminase e óleo de cártamo, com umidade não maior que 4,0% e atividade enzimática de 85 a 121 U/g.

2.1 Fabricação do queijo *petit suisse*

O fluxograma de fabricação dos queijos está representado na Figura 1.

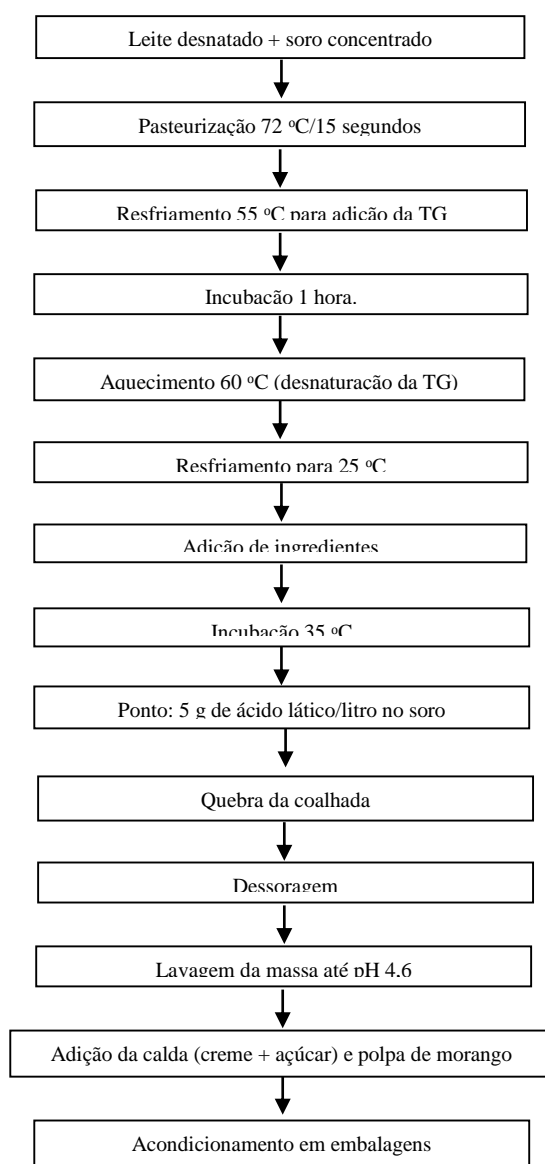


Figura 1 Fluxograma de fabricação de queijo *petit suisse*

Para a fabricação dos queijos, foram utilizados leite desnatado e soro concentrado pelo processo de nanofiltração. Após a pasteurização, a mistura (leite + soro nanofiltrado) foi resfriada a 55 °C, para a adição do composto enzimático Ativa YG[®] e incubada em B.O.D., pelo período de 1 hora. Após este tempo, a mistura foi aquecida a 60 °C, temperatura de inativação da TG. Após esta etapa, ocorreu seu resfriamento a 25 °C para a adição de 1,0% fermento mesofílico (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis* e *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*), cloreto de cálcio (Macalé[®]) em dose recomendada pelo fabricante e agente coagulante (Ha-La, Chr Hansen) na dose de 10% da quantidade recomendada pelo fabricante. Com uma breve homogeneização, a mistura ficou em repouso à temperatura média de 35 °C. O ponto foi determinado quando o soro atingiu 50 °Dornic, que corresponde a 5,0 g de ácido láctico/litro. A coalhada formada foi quebrada com o auxílio de espátula e agitada lentamente, por 15 minutos. A massa foi transferida para sacos de algodão esterilizados e o soro foi drenado por gravidade, por um período médio de 18 horas. Após o dreno do soro, a massa foi lavada com água previamente pasteurizada, até que o pH da massa atingisse 4,6. Separadamente, a calda foi preparada com creme e açúcar. Para cada 4,5 kg de creme com 50% de gordura, adicionaram-se 2,25 kg de açúcar, seguido de homogeneização e posterior pasteurização, a 80 °C/5 minutos e resfriamento a 10 °C. À massa dessorada foram adicionadas esta calda e a polpa de fruta em 10% m/m em relação à quantidade da massa.

2.2 Delineamento experimental e análise estatística

Foram avaliadas as influências da concentração de leite desnatado e a concentração do preparo enzimático ACTIVA[®] YG (Ajinomoto) no processo de elaboração do queijo *petit suisse*, usando um delineamento composto central

rotacional (DCCR) $2^2 + 4$ pontos axiais + 3 pontos centrais, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 Níveis e valores das variáveis independentes do delineamento composto central rotacional para a otimização da quantidade do composto enzimático ACTIVA® YG e soro concentrado

Ensaio	Variáveis codificadas		Variáveis reais	
	X ₁	X ₂	X ₁ (v/v)	X ₂ (m/v)
1	-1	-1	75	0,1
2	1	-1	95	0,1
3	-1	1	75	0,3
4	1	1	95	0,3
5	-1,41	0	70	0,2
6	1,41	0	100	0,2
7	0	-1,41	85	0,06
8	0	1,41	85	0,35
9	0	0	85	0,2
10	0	0	85	0,2
11	0	0	85	0,2

X₁ – relação de leite desnatado / soro concentrado

X₂ – concentração de Activa® YG

No intuito de elaborar um ajuste de um modelo de segunda ordem, foram adicionados os pontos axiais. A escolha dos níveis nos pontos axiais foi $\pm\alpha$, em que $\alpha = \pm(2^k)^{1/4}$, que é “k” o número das variáveis independentes.

Os resultados obtidos foram analisados por meio da metodologia de superfície de resposta, fazendo uso do *software* Statistica 8.0 (STATISTICA ANALYSIS, 2008). O polinômio utilizado para o ajuste do modelo foi

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_2 x_2^2 + e, \quad (1)$$

em que $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \beta_{12}, \beta_{11}$ e β_{22} são os coeficientes de regressão; y é a resposta em questão; X_1 e X_2 são variáveis independentes (razão leite desnatado/soro concentrado e concentração de ACTIVA® YG) e e representa o erro experimental. O critério utilizado para aceitar o modelo proposto foi pelo alto valor de coeficiente de determinação (R^2) e pela análise de variância.

2.3 Análise de textura

A análise de textura foi conduzida em um texturômetro (TA-XT2i, Texture Tech. Corp., Scarsdale, USA). As características da probe são: P/20 de 20 mm, cilíndrica de alumínio, com área de contato de 314,0 mm². Antes da realização dos testes, as amostras foram armazenadas, sob refrigeração, em B.O.D., à temperatura de 4 °C. As condições de análise foram as seguintes: distância de penetração de 35 mm, velocidade da probe durante a penetração de 1 mm.s⁻¹, velocidade da probe antes da penetração de 1 mm s⁻¹ e velocidade da probe após a penetração de 1 mm. s⁻¹. Todos os dados obtidos foram analisados com o auxílio do *software* Exponent Lite Express (STABLE MICRO SYSTEMS, GODALMING, UK).

2.4 Análises físicas e químicas realizadas no leite e soro

As análises realizadas foram as seguintes:

- a) densidade a 15°C: realizada em termolactodensímetro de Quevene, segundo os Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes (BRASIL, 2006);
- b) teor de gordura: análise procedida pelo método de Gerber com uso de butirômetros (BRASIL, 2006);

- c) acidez titulável: foi utilizado o método titulométrico com solução de NaOH 0,1 mol.L⁻¹ até pH 8,3 (BRASIL, 2006);
- d) proteína total: determinada pelo método Kjeldahl semimicro, fundamenta-se na digestão ácida da amostra em presença de catalisadores, formação de amônia, destilação em meio básico e titulação com solução padrão de ácido clorídrico (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC, 1995). O fator utilizado foi de 6,38;
- e) extrato seco total: determinado pelo método de secagem em estufa, a 105 °C (AOAC, 1995);
- f) resíduo mineral fixo: para a determinação das cinzas, seguiu-se o método da AOAC (1995), com carbonização das amostras em chama direta e posterior calcinação em mufla, a 550 °C, por 4 a 6 horas;
- g) valor de pH: foram efetuadas medidas de pH em potenciômetro devidamente calibrado. O pH foi determinado utilizando-se o potenciômetro digital Micronal[®], modelo 320, com eletrodo de vidro combinado (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

2.5 Cálculo de rendimento técnico e cifras de transição

A equação adotada para cálculo de rendimento técnico em gramas de sólidos totais de queijo por litro de leite (g ST/L) foi conforme descrito por Saboya et al. (1998).

$$R(gST/L) = \frac{PxSTx10}{V} \quad (2)$$

em que

P = massa dos queijos (kg)

ST= sólidos totais dos queijos

V = volume de leite utilizado (L)

A fórmula utilizada para o cálculo de perdas de proteína bruta no soro está representada na equação 3, de acordo com Furtado (2005):

$$\% \text{ perda proteína soro} = \frac{(kgl - P)Gs}{(kgl / DI)Gl \times Ds} \times 100 \quad (3)$$

em que

Ds = densidade (15 °C) do soro

DI = densidade (15 °C) do leite (m/v)

kgl = quilos de leite

GI = % proteína do leite (g/100mL)

Gs = % proteína soro (g/100mL)

P = produção de queijo (kg)

2.6 Índice de sinérese

As amostras, após 24 horas de armazenamento em refrigeração, foram pesadas (15 g) e centrifugadas a 600 g por 30 minutos. O índice de sinérese foi calculado conforme equação 1 (AICHINGER et al., 2003).

$$\% \text{ de sinérese} = Ps/Pa * 100 \quad (4)$$

em que Ps = peso do sobrenadante (g) e Pa = peso da amostra (g)

2.7 Análise sensorial

Nesta etapa foram avaliados, sensorialmente, os queijos *petit suisse* que apresentaram melhores desempenhos nos parâmetros avaliados de rendimento e com menores alterações de textura, sendo eles: 8 (85% de leite e 0,35 g/l de Activa® YG) e 4 (95% de leite e 0,3 g/l de Activa® YG).

2.8 Teste de aceitação

Foram oferecidas amostras a 60 consumidores de queijo *petit suisse* (provadores não treinados), nas seguintes condições: em cabines individuais, em copos descartáveis brancos, codificados com algarismos de três dígitos, retirados de uma tabela de números aleatórios, em ordem balanceada de apresentação, com 50 g de amostra, em temperatura de, aproximadamente, 5 °C. Foi servida água mineral, em temperatura ambiente, para que os provadores lavassem o palato, entre uma amostra e outra. Os atributos avaliados foram sabor, textura, aparência e impressão global, julgados por meio de uma escala hedônica estruturada de 9 pontos (1=desgostei extremamente a 9= gostei extremamente) (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 2007). Na Figura 2 observa-se a ficha utilizada na realização da análise.

Nome: _____ data: _____
 por favor, avalie as amostras de queijo petit suisse elaborado com adição de soro concentrado, utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou, em relação aos atributos COR, SABOR, TEXTURA, APARÊNCIA e IMPRESSÃO GLOBAL.

1. desgostei extremamente
 2. desgostei muito
 3. gostei moderadamente
 4. gostei ligeiramente
 5. indiferente
 6. gostei ligeiramente
 7. gostei moderadamente
 8. gostei muito
 9. gostei extremamente

Código		
Sabor		
Textura		
Aparência		
Impressão global		

Comentários: _____

Figura 2 Modelo da ficha utilizada no teste de aceitação

As amostras foram disponibilizadas em ordem balanceada, em blocos casualizados completos, em que cada provador constituiu um bloco.

Os resultados dos testes sensoriais foram realizados, por meio de ANOVA, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), cujas variáveis foram concentração de enzima transglutaminase e concentração de soro fluido concentrado por nanofiltração, empregadas na elaboração dos queijos. As análises foram realizadas no *software* Sisvar (FURTADO, 2003).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Caracterização das matérias-primas

Na Tabela 2 encontram-se os valores médios de composição química do soro concentrado por meio de nanofiltração e do leite desnatado utilizado na fabricação dos queijos *petit suisse*.

Tabela 2 Parâmetros avaliados na composição do soro concentrado e leite desnatado

Parâmetro	Soro concentrado	Leite desnatado
Proteína bruta	3,2 g/100 g	2,7 g/100 g
Gordura	0,5 g/100 g	0,8 g/100 g
Lactose	7,9 g/100 g	6,0 g/100 g
Resíduo mineral fixo	0,2 g/100 g	0,1 g/100 g
Acidez titulável	1,6 g/L	1,8 g/L
E.S.T*	11,8 g/100 g	11,4 g/100 g
pH	6,1	6,4

* Extrato Seco Total

Na Tabela 3 estão listados os ensaios seguidos das médias, dos parâmetros de rendimento técnico e do índice de sinérese dos queijos *petit suisse*.

Tabela 3 Ensaio e médias obtidas do rendimento técnico e índice de sinérese

Ensaio	X ₁ % Leite desnatado	X ₂ %Active YG®	Rendimento técnico g ST/L	Sinérese (%)
1	-1 (75)	-1 (0,1)	46	29
2	1 (95)	-1 (0,1)	52	36
3	-1 (75)	1 (0,3)	50	32
4	1 (95)	1 (0,3)	58	32
5	-1,41 (70)	0 (0,2)	13	60
6	1,41 (100)	0 (0,2)	55	24
7	0 (85)	-1,41 (0,06)	53	16
8	0 (85)	1,41 (0,35)	81	58
9	0 (85)	0 (0,2)	50	30
10	0 (85)	0 (0,2)	50	33
11	0 (85)	0 (0,2)	57	27

A seguir serão discutidos, separadamente, os dados de rendimento técnico e índice de sinérese.

3.2 Rendimento técnico

Como pode ser visto na Tabela 3, os valores obtidos para o rendimento técnico variaram de 13 (ensaio 5) a 81 (ensaio 8).

Na Tabela 4 são apresentados os coeficientes de regressão para rendimento técnico. De acordo com os dados obtidos, todos os termos lineares e quadráticos, tanto para a concentração de soro como para a concentração de enzima, apresentaram efeitos estatisticamente significativos ($p \leq 0,1$), em que os termos lineares estão representados pela letra L e quadráticos pela letra Q. Já a interação entre relação de leite desnatado/soro concentrado e concentração de enzima não foi estatisticamente significativa.

Tabela 4 Coeficientes de regressão para rendimento técnico

	Coeficiente de regressão	Erro padrão	p-valor
Mean/Interc.	52,89242	2,34	0,001
(1)% leite + soro (v/v)(L)	9,12824	1,44	0,023
% leite + soro (v/v)(Q)	-9,02963	1,72	0,034
(2)% activa YG (m/v)(L)	4,44816	1,44	0,090
% activa YG (m/v)(Q)	7,68230	1,72	0,046
1L by 2L	-2,57250	2,03	0,333

$R^2 = 0,79023$

Os resultados da análise de variância (ANOVA) são apresentados na Tabela 5. Como o $F_{\text{calculado}}$ (3,76) foi maior que o F_{tabelado} (3,45), a 10% de significância, e como R^2 igual a 0,79, pode-se concluir que o modelo ajustou-se bem aos dados experimentais. O modelo com as variáveis codificadas para rendimento técnico é apresentado na equação 5.

$$\text{Rend. técnico} = 52,89 + 9,12x_1 - 9,02x_1^2 + 4,44x_2 + 7,68x_2^2 - 2,57x_1 x_2 \quad (5)$$

Tabela 5 Análise de variância para o parâmetro de rendimento técnico, a 90% de confiança

	SQ	GL	QM	Fcalc.	p-valor
Regressão	1956,742	5	391,348	3,76	0,0859
Resíduos	519,413	5	103,882		
Total	2476,156	10			

De acordo com os dados da Tabela 4, pode-se observar que a relação de leite desnatado/soro concentrado apresentou termo linear positivo, ou seja, quanto maior a proporção de leite, maior o teor de sólidos totais presentes na mistura inicial, e maior será o rendimento técnico. O termo linear de concentração de enzima transglutaminase também foi positivo, significando que quanto maior a concentração de enzima, maior o rendimento.

No gráfico da Figura 3 pode-se mais bem visualizar a área em que se encontram melhores rendimentos, sendo entre 85% a 95% de leite e entre 0,35% e 0,3% de transglutaminase, que correspondem aos tratamentos 8 e 4, respectivamente.

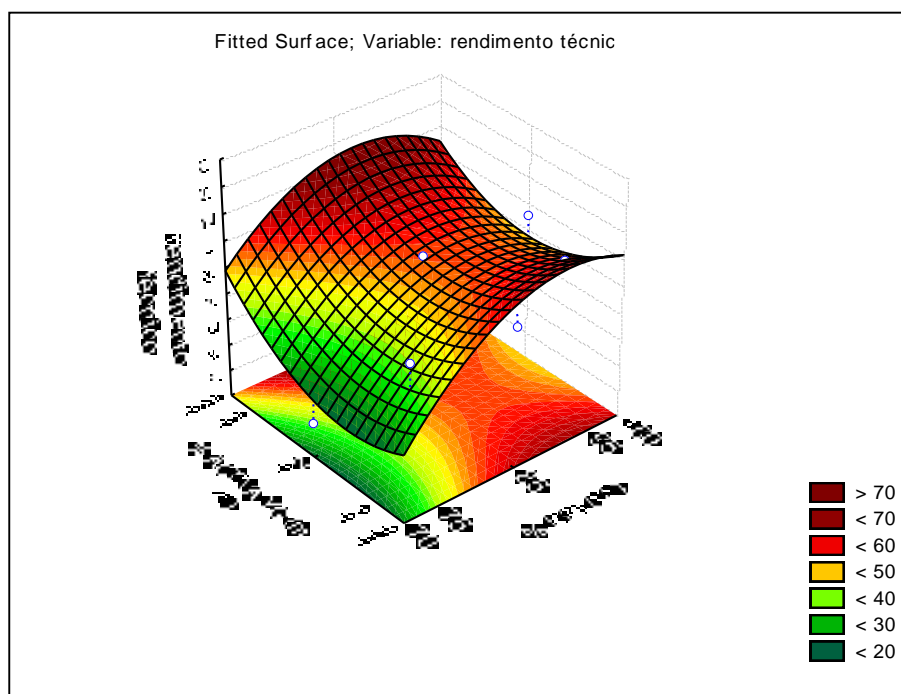


Figura 3 Superfície de resposta para o rendimento técnico

Na justificativa deste elevado rendimento há grande contribuição da atividade enzimática da TG, pois os tratamentos 4 e 8 são os com maior concentração da enzima. Segundo Kuraiashi, Yamazaki e Susa (2001), esta enzima (TG) tem despertado o interesse da indústria láctea internacional pelo seu potencial em aumentar o rendimento tecnológico da fabricação de queijos, pela retenção de proteínas solúveis e água na estrutura do queijo e pela sua

capacidade de promover a formação de ligações covalentes cruzadas entre proteínas e peptídeos das mais diversas origens.

Existem diversos estudos relatando que as caseínas são um excelente substrato para TG (DICKINSON; YAMAMOTO, 1996; FAERGAMAND et al., 1999; KURASHI; KATSUTOSHI; SUSU, 2001; LAUBER; HENLE; KLOSTERMEYER, 2000; LORENZEN et al., 2002). Com suas modificações pela atividade enzimática, levam a mudanças nas propriedades funcionais que conferem a possibilidade da formação de produtos (NIELSEN; PETERSEN; MOLLER, 1995), introduzindo ligações cruzadas covalentes nas proteínas (NONAKA et al., 1989). Tanto a β -caseína como a κ -caseína mostram ser susceptíveis à reação enzimática pela atividade da TG (GAUCHE et al., 2009). Segundo a mesma autora, as proteínas do soro de leite, β -lactoglobulina e α -lactoalbumina, por apresentarem estrutura globular, tendem a formar reações cruzadas menos efetivas com a transglutaminase. Porém, o pré-aquecimento do leite causa a desnaturação das proteínas do soro, aumentando a susceptibilidade das proteínas à reação com a transglutaminase (SHARMA; LORENZEN; QVIST, 2001).

Em vários trabalhos acadêmicos, visando elucidar sua aplicação sobre diversos parâmetros de fabricação em variados produtos lácteos, há relatos dessa capacidade particular de a TG promover aumento de rendimento.

Radošević et al. (2007) pesquisaram o rendimento de queijo cottage com adição da enzima TG e observaram rendimentos até 5,3% mais elevados do que as outras amostras sem adição de TG.

Mahmood e Sebo (2009) relataram, na produção de queijo de pasta com TG, que a atividade desta enzima causou um aumento significativo ($P < 0,01$) no rendimento do queijo (17,38%), em comparação com a amostra de controle, além de observar aumento no teor de proteína total do queijo produzido, acompanhado por uma diminuição significativa no conteúdo de proteína do soro.

Özer et al. (2013), avaliando o efeito da adição de TG simultaneamente com o coalho e testando diferentes temperaturas de coagulação na fabricação de queijo *white-brined*, relataram que todos os tratamentos contendo a referida enzima apresentaram rendimentos superiores ao do tratamento controle.

Foltran et al. (2001), avaliando a utilização da TG na fabricação de requeijão, observaram um aumento de 12,39% no rendimento e redução de 38% do custo em relação à amostra controle. Foi necessário um tempo de maturação, para a atuação da enzima, de 1 hora e 30 minutos, a 40 °C, e a concentração de enzima considerada ideal foi a de 0,02%, na qual foi obtida a melhor característica reológica e sensorial e rendimento. Em um estudo muito próximo deste, com requeijão, Piccolo (2006) também realizou a adição da enzima TG na concentração de 0,02% em um tempo de atuação de 90 minutos, observando um aumento de rendimento em, aproximadamente, 13%, com relação ao requeijão produzido pelo processo tradicional. Os pontos que proporcionam a obtenção de um máximo rendimento foram 0,019% a 0,025% de TG e tempo de atuação de 104 a 120 minutos. Contudo, o rendimento é muito mais influenciado pela concentração da enzima do que pelo tempo de atuação.

Cozzolino et al. (2003) prepararam queijos a partir de leite tratado com TG para investigar a possibilidade de reter as proteínas de soro dentro da massa por meio da formação de homo e/ou heteropolímero. O experimento constou de três tratamentos diferentes: (a) o leite foi tratado com TG antes de ser adicionado o coagulante; (b) o coagulante e a TG foram adicionados ao mesmo tempo e (c) o coagulante foi adicionado antes da TG. As massas e os soros obtidos nos procedimentos (b) e (c) foram analisados e apresentaram os melhores resultados, e diferenciaram-se do tratamento (a). A quantidade de proteínas do soro no soro obtido diminuiu com o aumento da quantidade de TG adicionada e o rendimento da massa, conseqüentemente, aumentou.

Aaltonen, Huuononen e Myllärinen (2014) estudaram o controle da utilização da TG na fabricação de queijo edam e observaram aumento significativo de 4% no rendimento, devido ao aumento no teor de umidade nos queijos que, por sua vez, tornaram-se mais macios. Por meio de teste sensorial, os autores relataram que os tratamentos adicionados de TG não apresentaram diferença significativa do controle, concluindo que sua aplicação é viável pelos altos rendimentos e sem efeitos negativos sobre a qualidade sensorial.

3.3 Índice de sinérese

Na Tabela 3 observa-se que os valores obtidos para índice de sinérese variaram entre 16% (ensaio 7) a 60% (ensaio 5).

Na Tabela 6 estão apresentados os coeficientes de regressão para índice de sinérese. De acordo com os resultados em relação aos termos linear e quadrático da relação de leite desnatado/soro concentrado, apenas o linear da concentração de transglutaminase apresentou efeitos estatisticamente significativos sobre a sinérese ($p \leq 0,10$), em que os termos lineares estão associados à letra L e os termos quadráticos, à letra Q.

Tabela 6 Coeficientes de regressão para a sinérese

	Coefficiente de regressão	Erro padrão	p-valor
Mean/Interc.	30,47975	1,57	0,002633
(1)% leite + soro (v/v)(L)	-5,39060	0,96	0,030351
% leite + soro (v/v)(Q)	4,17758	1,15	0,067795
(2)% activa YG (m/v)(L)	7,12243	0,96	0,017728
% activa YG (m/v)(Q)	1,66765	1,146895	0,283140
1L by 2L	-1,75750	1,357240	0,324688

$R^2 = 0,42882$

Os resultados da análise de variância (ANOVA) são apresentados na Tabela 7. Como o F_{calc} (0,75) foi menor que o F_{tab} (3,45), a 10% de significância e como R^2 igual a 0,42, pode-se concluir que o modelo não se ajustou bem aos dados experimentais, portanto, não podendo gerar superfície de resposta.

Tabela 7 ANOVA para índice de sinérese

	SQ	GL	QM	Fcalc.	p-valor
Regressão	747,762	5	149,55	0,75	0,6196
Resíduos	996,00	5	199,199		
Total	1743,762	10			

$$R^2 = 0,42882$$

É possível observar, por meio dos dados da Tabela 6, que o termo linear de % leite desnatado + % soro concentrado foi negativo, o termo quadrático foi positivo, enquanto o termo linear da concentração de enzima foi positivo. Isso significa que, com o aumento da concentração da enzima, o índice de sinérese é aumentado. Em comparação à relação de leite desnatado/soro concentrado, quanto maior essa relação, menor será o índice de sinérese.

Diversos trabalhos atribuem redução da sinérese em produtos lácteos quando adicionados de transglutaminase. De acordo com Farnsworth et al. (2006) e Lorenzen et al. (2002), géis formados com agente de ligação cruzada apresentam melhor capacidade de retenção de água, em que a separação do soro será reduzida.

Teoricamente, este fenômeno deve estar relacionado com polimerização intermolecular de caseínas com proteínas do soro induzidas pela TG, produzindo alterações significativas nas propriedades funcionais das proteínas do leite (LAUBER; HENLE; KLOSTERMEYER, 2000). A atuação da TG no leite ocorre formando géis caracterizados com agente de ligação cruzada ϵ - (γ -

glutamil) lisina e, ao ocorrer este fenômeno, o gel apresentará melhor capacidade de aprisionamento de água (YOKOYAM; NIO; KIKUCHI, 2004). O gel formado, proveniente de tratamento com a enzima TG, foi observado, fisicamente, por meio de microscopia, por Lorenzen et al. (2002) que relataram que a rede tridimensional apresentou os poros diminuídos, resultando em distribuição estrutural mais regular, contribuindo para a diminuição da sinérese. A retenção de proteínas do soro, por meio de ligações cruzadas, na massa do queijo *petit suisse* também pode ser a razão do aumento da estabilidade diante de sinérese, pois a β -lactoglobulina, proteína presente em maior quantidade no soro de leite bovino, tem excelentes propriedades gelatinizantes (ANTUNES, 2003).

Em vários trabalhos de pesquisa, com aplicação de transglutaminase, apontou-se este benefício para produtos lácteos, como em queijos, iogurtes e leites fermentados. Queijos processados adicionados de TG após a formação do gel de coalhada apresentaram um índice de 40% a menos de sinérese do que o tratamento sem a presença desta enzima (FERNANDES DE SÁ; BORDIGNON-LUIZ, 2010). Mateva et al. (2010) avaliaram fatores que afetam a sinérese em queijo proveniente de leite tratado pelo processo de ultrafiltração. Na elaboração deste produto, foi adicionada enzima TG nas concentrações de 0,0% (controle), 0,6% e 0,13%, e foram obtidos, para índice de sinérese do queijo, os resultados de 10,4, 7,6% e 5,7%, respectivamente. Os autores concluíram que a presença da enzima afetou a taxa de sinérese, que é proporcionalmente diminuída quando se aumenta a TG. Gustaw, Mleko e Tomczynska-Mleko (2008), ao avaliarem o impacto da enzima TG sobre as características de qualidade nos tipos de queijo feta e danbo elaborados a partir de leite ultrafiltrado, constataram uma diminuição significativa na taxa de sinérese em ambos os queijos, sendo de 9,3% para 6,1%, em queijo feta, e de 17,6% para 6,3%, no queijo danbo.

Domagala et al. (2013) estudaram as concentrações de TG de 1,0; 2,0 e 3,0 U g⁻¹ de proteína na manufatura de iogurte, com o objetivo de avaliar seus atributos de qualidade, incluindo a sinérese, durante o período de armazenamento, e observaram diminuição significativa da sinérese nos dois últimos tratamentos adicionados de enzima em comparação ao tratamento controle. Lorenzen et al. (2002) elaboraram leite fermentado preparado com 100% de leite submetido ao tratamento com adição de TG, que resultou em menor índice de sinérese, apresentando diminuição de 31% em relação às amostras controle. Para as amostras adicionadas de TG e soro de leite fluido nas proporções de 20% e 30% em substituição ao leite, os índices de sinérese diminuíram 21% e 16%, respectivamente, em comparação com as amostras controle (LORENZEN et al., 2002). Gauche et al. (2009) obtiveram redução de 31% de sinérese em iogurte fabricado com adição de transglutaminase. Özer et al. (2007) observaram redução de 23% de sinérese de iogurtes fabricados com a adição da enzima TG na concentração de 0,6 U g⁻¹ de proteína, após 14 dias de armazenamento. Kuraishi, Sakamoto e Soeba (1996) relataram redução de 50% na sinérese de iogurtes tratados com TG, na concentração de 1 U g⁻¹ de proteína.

Faria (2010), pesquisando os efeitos da aplicação de TG em bebida láctea fermentada com alto conteúdo de soro de leite em pó, relatou que a utilização de TG na faixa de concentração de 0,006% a 0,034%, com incubação entre 26 e 54 °C, teve efeito significativo na redução do nível de sinérese ($p < 0,05$) em relação ao controle, indicando que, mesmo em baixas concentrações de TG, pode-se reduzir a sinérese em bebidas lácteas fermentadas após 21 dias de vida de prateleira.

3.4 Análise do perfil de textura

Na Tabela 8 são apresentados os resultados obtidos dos parâmetros de perfil de textura, que são elasticidade, adesividade, dureza, coesividade, gomosidade e mastigabilidade, no delineamento composto central rotacional (DCCR).

Tabela 8 Parâmetros de textura: elasticidade, adesividade, dureza, coesividade, gomosidade e mastigabilidade

Ensaio	X ₁ % Leite	X ₂ % Active YG [®]	¹ Elast	² Ad	³ Dur	⁴ Coe	⁵ Gom	⁶ Mas
1	-1 (75)	-1 (0,1)	0,90	-6,01	344	0,66	227	204
2	1 (95)	-1 (0,1)	0,95	-5,85	352	0,78	276	262
3	-1 (75)	1 (0,3)	0,86	-4,78	208	0,69	144	125
4	1 (95)	1 (0,3)	0,93	-6,32	347	0,70	243	227
5	-1,41 (70)	0 (0,2)	0,83	-3,68	10	0,68	122	102
6	1,41 (100)	0 (0,2)	0,93	-8,56	321	0,68	217	204
7	0 (85)	-1,41 (0,06)	0,79	-12,64	79	0,55	44	35
8	0 (85)	1,41 (0,35)	0,68	-2,53	16	0,48	26	19
9	0 (85)	0 (0,2)	0,89	-7,85	251	0,62	158	142
10	0 (85)	0 (0,2)	1,01	-4,7	276	0,78	218	220
11	0 (85)	0 (0,2)	0,88	-9,34	263	0,68	180	158

¹elasticidade (b/a); ²adesividade (g.s); ³dureza (g); ⁴coesividade (A1/A2);

⁵gomosidade(N) ⁶mastigabilidade (N)

O parâmetro elasticidade variou de 0,68 (ensaio 8) a 1,01 (ensaio 10), a adesividade variou de -12,64 (ensaio 7) a -2,53 (ensaio 8), a dureza de 10 (ensaio 5) a 352 (ensaio 2), a coesividade de 0,48 (ensaio 8) a 0,78 (ensaios 2 e 9), a gomosidade de 44 (ensaio 7) a 276 (ensaio 2) e a mastigabilidade de 19 (ensaio 8) a 262 (ensaio 2).

Na Tabela 9 observam-se os coeficientes de regressão do modelo completo para os parâmetros de perfil de textura.

Tabela 9 Coeficiente de regressão para atributos de textura

	Fator	Coef.	Erro Padrão	p-valor	R ²
Elasticidade	β_0	0,93	0,0430	0,0021*	0,57
	$\beta_1(L)$	0,032	0,0264	0,3414	
	$\beta_{11}(Q)$	0,002	0,0315	0,9352	
	$\beta_2(L)$	-0,024	0,0264	0,4443	
	$\beta_{22}(Q)$	-0,07	0,0315	0,1565	
	β_{12}	0,004	0,0373	0,9244	
Adesividade	β_0	-7,30	1,3677	0,0333*	0,50
	$\beta_1(L)$	-1,03	0,8388	0,3423	
	$\beta_{11}(Q)$	0,87	1,0009	0,4749	
	$\beta_2(L)$	1,88	0,8388	0,1539	
	$\beta_{22}(Q)$	0,13	1,0009	0,9041	
	β_{12}	-0,42	1,1844	0,7540	
Dureza (g)	β_0	262,5	7,2187	0,0007*	0,43
	$\beta_1(L)$	73,40	4,4271	0,0036*	
	$\beta_{11}(Q)$	3,30	5,2827	0,5950	
	$\beta_2(L)$	-28,81	4,4271	0,0228*	
	$\beta_{22}(Q)$	-56,04	5,2827	0,0087*	
	β_{12}	32,75	6,2516	0,0345*	
Coesividade	β_0	0,69	0,046620	0,0044*	0,49
	$\beta_1(L)$	0,01	0,028591	0,64540	
	$\beta_{11}(Q)$	0,01	0,034117	0,62955	
	$\beta_2(L)$	-0,01	0,028591	0,59549	
	$\beta_{22}(Q)$	-0,06	0,034117	0,20727	
	β_{12}	-0,02	0,040374	0,56288	
Gomosidade	β_0	185,10	17,4314	17,431*	0,50
	$\beta_1(L)$	35,22	10,6905	10,6905	
	$\beta_{11}(Q)$	22,88	12,7566	12,7566	
	$\beta_2(L)$	-17,64	10,6905	10,6905	
	$\beta_{22}(Q)$	-44,88	12,7566	12,7566	
	β_{12}	12,59	15,0962	15,0962	
Mastigabilidade	β_0	173,58	23,62023	0,0180*	0,50
	$\beta_1(L)$	38,12	14,48611	0,11912	
	$\beta_{11}(Q)$	18,91	17,28570	0,38802	
	$\beta_2(L)$	-17,11	14,48611	0,35896	
	$\beta_{22}(Q)$	-44,67	17,28570	0,12274	
	β_{12}	10,94	20,45596	0,64619	

* 10% de significância; L: linear; Q: quadrático

Nota-se que em nenhum dos parâmetros analisados, de perfil de textura, o coeficiente de determinação R^2 não foi maior que 0,70. Portanto, o modelo não se ajusta bem aos dados experimentais e não pode ser gerada superfície de resposta.

Pode-se observar, entre os parâmetros avaliados do perfil de textura, que a dureza foi o parâmetro que foi afetado significativamente pelos termos lineares de relação leite desnatado/soro concentrado e da concentração de enzima, além do termo quadrático de concentração de enzima e da interação entre as duas variáveis independentes. A proporção de leite + soro nanofiltrado, na condição linear, foi estatisticamente significativa ($p \leq 0,1$), significando que, com o aumento da quantidade de leite na formulação, a dureza do *petit suisse* foi aumentada positivamente. Tanto o termo linear quanto o quadrático da concentração de transglutaminase afetaram negativamente esse atributo.

Esse efeito positivo na dureza pelo aumento de proporção de leite desnatado pode ser justificado pela aumento da proporção de coalhada proveniente de coagulação enzimática, ressaltando que, para a produção deste queijo, aplicou-se a coagulação mista, gerando coalhada oriunda da coagulação ácida e enzimática. Com o acréscimo de leite, conseqüentemente, haverá maiores proporções de caseínas que, na presença da enzima do coalho, quimosina (EC 3.4. 23.4), promoverá fortes ligações de cálcio entre as micelas de caseínas, gerando um fragmento terminal denominado paracaseína, de maior resistência quando comparado com coalhada proveniente de coagulação ácida, caracterizada por ligações de hidrogênio que, por sua vez, são mais fracas. Ocorrido este fenômeno, a proporção de coágulo enzimático será aumentada, gerando coalhadas mais firmes.

Já com incremento da enzima TG na mistura ocorreu o inverso, afetando negativamente a dureza da massa do queijo. A teoria mais aceitável não seria de forma exata a enzima isolada a causa deste efeito, mas, também, a quantidade de

proteínas do soro presentes na mistura. É de amplo conhecimento que a enzima transglutaminase tem a característica de promover a polimerização das proteínas, por meio de transferência de grupos acila entre grupos γ -carboxiamida dos peptídeos ligados aos resíduos de glutamina (doador de acila) e os grupos de aminos primários em uma variedade de compostos amino (receptor de acila), incluindo os peptídeos ligados aos grupos ϵ -amino dos resíduos de lisina (FOLK; FINLAYSON, 1977; MOTOKI; SEGURO, 1998). Quando os grupos ϵ -amino dos resíduos de lisina nas proteínas atuam como receptores de grupos acila, ligações ϵ -(γ -glutamina) lisina são formadas, tanto intra- como intermoleculares (ANDO et al., 1989). No presente estudo, na maioria dos tratamentos, há incremento de proteínas do soro por meio da adição do soro nanofiltrado, desse modo, ofertando mais proteínas para possível polimerização intermolecular das caseínas com estas, modificando as proteínas por meio de incorporação de ligações cruzadas.

É de conhecimento que a coagulação do leite por ação enzimática (quimosina) inclui a proteólise da κ -caseína sobre a superfície da micela e uma reação bimolecular de agregação lenta das micelas reativas. A TG, provavelmente, diminui a quantidade de κ -caseína na forma monomérica, as quais são altamente suscetíveis à ligação cruzada, devido à sua posição periférica na micela de caseína. Consequentemente, a tendência de coagulação das micelas, fenômeno altamente relacionado com o grau de hidrólise da κ -caseína, diminui (FARIA, 2010). Caso ocorra uma diminuição das ligações entre as micelas, por modificação do local de atuação da quimosina sobre a micela de caseína alterada pelas novas ligações cruzadas, afetará diretamente a dureza da coalhada, justificado pelo fato de que a união das micelas são dadas por meio das ligações de cálcio, sendo responsáveis pela formação da rede tridimensional (paracaseinato), gerando um gel mais compacto e de maior resistência.

Observa-se que, na maioria dos trabalhos aplicando TG no leite, na elaboração de diversos produtos lácteos sem a adição de soro, avaliando o perfil de textura, no parâmetro dureza, os resultados foram opostos, comportamento similar ao encontrado neste estudo nos tratamentos 4 e 6 (95% e 100% leite, respectivamente).

Imm et al. (2000) observaram, em gel de coalhada tratado com a enzima TG, uma rede proteica mais densa e ordenada, com maior dureza. Cozzolino et al. (2003) analisaram a utilização da TG em leite na manufatura de queijos, a fim de elucidar sua aplicação e, quanto ao perfil de dureza, observaram um incremento na dureza destas queijos. Mahamood et al. (2009) investigaram o efeito da concentração TG nos níveis de 0, 12, 24, 36, 48, 60 e 72 U/litro de leite sobre as propriedades físicas em queijo mole e observaram diferença significativa ($p < 0,01$) em todos tratamentos, sendo 60 U/litro o tratamento que gerou maior dureza na massa deste queijo. Contudo, concluíram que a TG promoveu aumento na dureza deste queijo.

Gauche et al. (2009), fazendo uso de $0,5 \text{ U g}^{-1}$ proteínas na elaboração de iogurte, caracterizaram o perfil de textura e puderam observar um aumento significativo ($p < 0,01$) na dureza deste produto.

3.5 Sensorial

De acordo com os tratamentos estudados, pode-se observar que os ensaios 4 e 8 apresentaram melhores desempenhos, em termos de rendimento técnico, fator de interesse por parte das indústrias de laticínios. Dessa forma, os queijo produzidos nos ensaios mencionados foram avaliados sensorialmente. As médias atribuídas sensorialmente quanto aos parâmetros de sabor, textura, aparência e impressão global encontram-se na Tabela 10.

Tabela 10 Média das notas * atribuídas pelos provadores para sabor, textura, aparência e aspecto global

Tratamentos	Sabor	Textura	Aparência	Aspecto global
4 ¹	7,3a	7,38a	7,58b	7,63a
8 ²	5,5b	4,05b	4,05c	4,88b
CV (%)	32,2	32,2	24,1	26,2

Médias nas colunas seguidas por letras iguais não diferem entre si, a 5% de significância, pelo teste de Tukey; CV% = coeficiente de variação

*Atributos sensoriais: 1-desgostei extremamente a 9-gostei extremamente

¹ 4= 95% leite e 0,3% de transglutaminase; ² 8= 85% leite e 0,35 mg/l de transglutaminase

De modo geral, as notas médias das amostras situaram-se na escala hedônica entre 4 e 7 (região da categoria indiferente e gostei moderadamente, respectivamente), apresentando médio índice de aceitabilidade dos queijos.

É possível observar, estatisticamente, que, para todos os itens avaliados, houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os dois tratamentos, sendo representado por maiores médias o tratamento 4, constituído de maior quantidade de leite e menor proporção de enzima, quando comparado ao tratamento 8. Esta resposta é de fundamental importância, pois, como já mencionado, a indústria tem interesse por maiores rendimentos, todavia, neste caso, não seria viável a aplicação do tratamento 8 (com maior rendimento) devido à sua baixa aceitação por parte dos provadores. Na ficha de avaliação sensorial, no campo de comentários, vários provadores associaram a negatividade na aceitação pelo fato de que estava sendo perceptível ao paladar a presença de pequenos grumos nas amostras do tratamento 8, o que não foi relatado no tratamento 4. Grumos presentes na massa do queijo *petit suisse* contribuem para uma textura arenosa e alterada e, no produto em estudo, caracterizam-se como um defeito, pois a textura ideal deverá ser lisa.

A formação excessiva de grumos na massa do queijo *petit suisse* do tratamento 8 pode estar associada à maior disponibilidade enzima TG. Como já

mencionado, a TG é capaz de modificar as proteínas do leite por meio de incorporação de aminas, ligações cruzadas e desaminação, causando alterações nas propriedades das proteínas, contudo, modificando as propriedades de textura com formação excessiva de grumos, quando adicionada em quantidades demasiadas.

É importante ressaltar as diferenças entre os tratamentos 4 e 8. Quando eles foram submetidos à análise de textura instrumental (Tabela 8), os valores médios de dureza, mastigabilidade e gomosidade foram distantes, portanto, contribuindo, também, com este julgamento sensorial.

4 CONCLUSÃO

No presente estudo conclui-se que o rendimento do queijo *petit suisse* é afetado significativamente tanto pela relação de leite desnatado/soro concentrado como pela concentração de enzima transglutaminase, sendo a proporção de leite a variável que mais afeta. Os tratamentos 4 e 8, com 95% de leite e 5% de soro concentrado e 0,3% de transglutaminase, e 85% de leite, 15% de soro concentrado e 0,35% de transglutaminase, respectivamente, apresentaram maiores rendimentos, superando o tratamento 6, com 100% de leite e 0,2% de transglutaminase. Sensorialmente, pode-se concluir que o tratamento 4 obteve melhor aceitação com elevadas concentrações de enzimas e, como no tratamento 8 (0,35%), ocorreram maiores alterações de textura com formação de grumos perceptíveis ao paladar. Nos atributos que compõem o perfil de textura do queijo *petit suisse*, somente o aspecto dureza (g) foi afetado pela proporção leite desnatado/soro concentrado e da enzima transglutaminase, não sendo os demais afetados significativamente ($p < 0,10$).

REFERÊNCIAS

- AALTONEN, T.; HUUMONEN, I.; MYLLÄRINEN, P. Controlled transglutaminase treatment in Edam cheese-making. **International Dairy Journal**, Alberta, v. 38, n. 2, p. 179-182, 2014.
- AICHINGER, P. A. et al. Fermentation of a skim milk concentrate with *Streptococcus thermophilus* and chimosin: structure, viscoelasticity and syneresis of gels. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 31, p. 243-255, Aug. 2003.
- ANDO, H. et al. Purification and characteristics of a novel transglutaminase derived from microorganisms. **Agricultura and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 53, n. 10, p. 2613-2617, 1989.
- ANTUNES, A. J. **Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino**. São Paulo: Manole, 2003. 135 p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC international**. 16th ed. Washington, 1995. 109 p.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **VisaLegis: legislação em vigilância sanitária**. Brasília, 2006. Disponível em: <<http://www.e-legis.gov>>. Acesso em: 29 out. 2014.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Dispõe sobre os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, n. 68, 14 dez. 2006. Seção 1, p. 56.
- COZZOLINO, A. et al. Incorporation of whey proteins into cheese curd by using transglutaminase. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, New York, v. 38, p. 289-295, 2003.
- DICKINSON, E.; YAMAMOTO, Y. Rheology of milk protein gels and protein-stabilized emulsion gels cross-linked with transglutaminase. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 44, n. 18, p. 1371-1377, June 1996.

FAERGAMAND, M. et al. Transglutaminase: effect on instrumental and sensory texture of set style yoghurt. **Milchwissenschaft**, Wrexham, v. 54, n. 25, p. 563-566, 1999.

FARIA, D. S. **Estudo dos efeitos da aplicação de transglutaminase em bebida láctea fermentada com alto conteúdo de soro**. 2010. 116 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, 2010.

FARNSWORTH, J. P. et al. Effects of transglutaminase treatment on functional properties and probiotic culture survivability of goat milk yogurt. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 65, p. 113-121, Sept. 2006.

FERNADES DE SÁ, E. M.; BORDIGNON-LUIZ, M. The effect of transglutaminase on the properties of milk gels and processed cheese. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 63, n. 2, p. 243-251, May 2010.

FOLK, J. E.; FINLAYSON, J. S. The epsilon-(gamma-glutamyl)lysine crosslink and the catalytic role of transglutaminases. **Advances in Protein Chemistry**, San Diego, v. 31, n. 21, p. 1-33, 1977.

FOLTRAN, A. L. M. et al. **Estudo da utilização da enzima transglutaminase na fabricação de requeijão**. São Caetano do Sul: Escola de Engenharia Mauá, 2001. Apostila.

FURTADO, D. **Software Sisvar**. Versão 4 1.3, Build 4.5. Lavras: UFLA, 2003. Disponível em: <<http://www.ufla.br>>. Acesso em: 19 set. 2009.

FURTADO, M. M. **Principais problemas dos queijos: causas e prevenções**. São Paulo: Fonte Comunicações, 2005. 200 p.

GAUCHE, C. et al. Physical properties of yoghurt manufactured with milk whey and transglutaminase. **Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 42, n. 10, p. 239-243, Aug. 2009.

GUSTAW, W.; MLEKO, S.; TOMCZYNSKA-MLEKO, M. Production of UF-milk cheeses: effect of rennet and transglutaminase on coagulation time, texture and syneresis. **Milchwissenschaft**, Munchen, v. 63, n. 2, p. 141-144, 2008.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3. ed. São Paulo, 1985. 160 p.

KURAIASHI, C.; YAMAZAKI, K.; SUSA, Y. Transglutaminase: its utilization in the food industry. **Food Reviews International**, Madison, v. 17, n. 2, p. 221-246, 2001.

LAUBER, S.; HENLE, T.; KLOSTERMEYER, H. Relationship between the crosslinking of caseins by transglutaminase and the gel strength of yoghurt. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 210, n. 56, p. 305-309, June 2000.

LORENZEN, P. C. et al. Effect of enzymatic cross- linking of milk proteins on functional properties of set-style yoghurt. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 55, n. 3, p. 152-157, 2002.

MAHMOOD, W. A.; SEBO, N. H. Effect of microbial transglutaminase treatment on soft cheese properties. **Mesopotamia Journal of Agriculture**, Mosul, v. 37, n. 4, p. 224-230, 2009.

MATEVA, N. et al. Factors affecting the syneresis and coagulation in ultra-filtered cheese. **Journal of Hygienic Engineering and Design Original**, Skopje, v. 3, n. 5, p. 48-53, Mar. 2010.

MEILGAARD, M. C.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 4th ed. Boca Raton: CRC, 2007. 448 p.

MITUNIEWICZ-MAŁEK, A. et al. Short communication: Incorporation of inulin and transglutaminase in fermented goat milk containing probiotic bacteria. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 6, p. 3332-3338, June 2013.

MOTOKI, M.; SEGURO, K. Transglutaminase and its use for food processing. **Trends in Food Science & Technology**, Norwich, v. 9, p. 204-210, 1998.

NIELSEN, G. S.; PETERSEN, B. R.; MOLLER, A. J. Impact of salt, phosphate and temperature on the effect of a transglutaminase (F XIII A) on the texture of restructured meat. **Meat Science**, Barking, v. 41, n. 3, p. 293-299, 1995.

NONAKA, M. et al. Polymerization of several proteins by Ca²⁺- independent transglutaminase derived from microorganisms. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 53, p. 2619-2623, 1989.

OZER, B. et al. Incorporation of microbial transglutaminase into non-fat yogurt production. **International Dairy Journal**, Alberta, v. 17, n. 6, p. 199-207, 2007.

ÖZER, B. A. et al. Simultaneous use of transglutaminase and rennet in white-brined cheese production. **International Dairy Journal**, Alberta, v. 33, n. 2, p. 129-134, Dec. 2013.

PICCOLO, K. C. **Avaliação do efeito da enzima transglutaminase no processo de produção do requeijão cremoso**. 2006. 116 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos Químicos) - Escola de Engenharia Mauá do Centro, São Caetano do Sul, 2006.

RADOŠEVIĆ, V. et al. Production of fresh probiotic cheese with addition of transglutaminase. **Mljekarstvo**, Zagreb, v. 57, n. 22, p. 15-29, 2007.

SABOYA, L. V. et al. Efeitos físico-químicos da adição de leite reconstituído na fabricação de queijo Minas frescal. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 4, p. 368-376, out./dez. 1998.

SHARMA, R.; LORENZEN, P. C.; QVIST, K. B. Influence of transglutaminase treatment of skim milk on the formation of ϵ -(γ -glutamyl)lysine and the susceptibility of individual proteins towards crosslinking. **International Dairy Journal**, Barking, v. 11, n. 10, p. 785-793, May 2001.

STATISTICA ANALYSIS. **Data analysis software system 8.0**. Tulsa: Stat-Soft, 2008.

YOKOYAMA, K.; NIO, N.; KIKUCHI, Y. Properties and applications of microbial transglutaminase. **Applied Microbiology and Biotechnology**, New York, v. 64, p. 447-454, Jan. 2004.

CAPÍTULO 3

Estudo da concentração ideal de transglutaminase em queijo *petit suisse* adicionado de 15% de soro concentrado por nanofiltração

RESUMO

Com o objetivo de identificar a melhor concentração de enzima transglutaminase na formulação de *petit suisse* adicionado de 85% de leite e 15% de soro fluido concentrado, neste estudo avaliaram-se cinco tratamentos, sendo quatro com diferentes concentrações da enzima e um controle. O leite desnatado e o soro concentrado obtido pelo processo de nanofiltração foram adquiridos no Laticínio Verde Campo Ltda., situado no município de Lavras, MG. A formulação dos queijos ocorreu, experimentalmente, na planta piloto de laticínios, e as análises de composição química dos queijos, soro concentrado e do leite foram realizadas no Laboratório de Análises de Leite e Produtos Lácteos do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras. As análises realizadas no queijo foram: perfil de textura, sinérese, composição e sensorial, cálculo de rendimento e cifras de transferências de proteínas. Foi possível observar, quanto ao rendimento, que os tratamentos 1 (0,24% TG e 15% soro concentrado), 2 (0,27% TG e 15% soro concentrado), 3 (0,30% TG e 15% soro concentrado) e 4 (0,33% TG e 15% soro concentrado) não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$), portanto, o tratamento controle, sem adição de soro concentrado e TG, apresentou diferença significativa em relação aos demais tratamentos com menor rendimento. Logo, se os tratamentos com adição de enzima não apresentaram diferenças, estatisticamente, economicamente seria de maior interesse a utilização da menor quantidade de enzima (0,20%). De acordo com os dados dos tributos analisados, a elasticidade e a coesividade foram os parâmetros que não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os demais analisados, portanto, adesividade, dureza, gomosidade e mastigabilidade apresentaram diferença significativa entre si. A composição química apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) nos parâmetros de extrato seco total e proteínas; já para os parâmetros gordura, umidade, cinzas, pH e gordura no extrato seco não se obtiveram diferenças. Quanto à análise sensorial, observou-se diferença significativa do tratamento controle com os demais avaliados. Para os parâmetros analisados, aparência, sabor, textura, maciez e impressão global, este tratamento obteve maiores médias, sendo identificado como o de melhor desempenho sensorial. Os

tratamentos 1, 2, 3 e 4 obtiveram as melhores médias, destacando-se o tratamento 4, por obter as médias inferiores a 6 para quase todos atributos, sendo o que mais se distanciou do controle de forma negativa. Pode-se concluir que a adição da enzima transglutaminase conferiu incremento no rendimento na massa de queijo *petit suisse* adicionado de soro fluido concentrado, sendo a quantidade de 0,2% a mais adequada.

Palavras-chave: Queijo *petit suisse*. Transglutaminase. Soro fluido concentrado.

ABSTRACT

In order to identify the best concentration of transglutaminase enzyme in the formulation of petit suisse added 85% milk and 15% whey concentrate fluid, in this study were evaluated five treatments, four with different concentrations of the enzyme and control. The Skim milk and concentrated whey obtained by nanofiltration process were acquired in the Dairy Campo Verde Ltda, located in Lavras, Brazil. The formulation of cheeses occurred experimentally in dairy pilot plant and the analysis of chemical composition of cheese, whey concentrate and milk were performed in Analysis Laboratory of Milk and Milk Products, Department of Food Science at the Federal University of Lavras . The analyzes performed in cheese were: texture profile, syneresis, composition and sensory, yield calculation and figures protein transfers. It was observed, as to income, that treatments 1 (0.24% TG and 15% whey concentrate), 2 (0.27% TG and 15% whey concentrate), 3 (0.30% and 15% serum TG concentrate) and 4 (0.33% TG and 15% whey concentrate) showed no significant difference ($p < 0.05$). Therefore, the control treatment without addition of concentrated serum and TG, showed a significant difference compared to the other treatments with lower income. Thus, if the treatments with added enzyme had no statistically differences, economically would be of greatest interest to use the smallest amount of enzyme (0.20%). According to the data analyzed taxes, elasticity and cohesiveness were the only parameters that showed no significant difference ($p < 0.05$) among the other analyzed thus adhesion, hardness, gumminess and chewiness showed significant difference between them. Thus, we can see that the amount of enzyme influences considerably the majority of the texture attributes. The chemical composition showed significant differences ($p < 0.05$) in the parameters of total solids and proteins; already for the parameters fat, moisture, ash, pH and fat in the dry layer was obtained no difference. As for the sensory analysis, there was a significant difference from the control treatment with the other evaluated. For the parameters analyzed, appearance, flavor, texture, softness and overall impression, this treatment had the highest average, being identified as the best sensory performance. Following this, the treatments 1, 2, 3 and 4 have obtained the highest averages, respectively, highlighting the treatment 4, to obtain the lower average 6 to almost all attributes, representing the processing which is more distanced from negative control . It can be concluded that the addition of transglutaminase enzyme gave an increase in yield in mass petit suisse cheese whey added concentrated fluid, with an amount of 0.2% more appropriate.

Keywords: Cheese petit suisse. Transglutaminase. Whey concentrated fluid.

1 INTRODUÇÃO

O mercado de queijos no Brasil demonstra crescente aumento, tendo, entre os anos de 2006 e 2012, sido relatado um crescimento 67,3% no consumo destes produtos. O queijo *petit suisse*, com significativa participação na fatia de consumo dos brasileiros, vem se destacando. Seu consumo é muito comum na forma de sobremesa, por se tratar de um queijo adoçado e adicionado de polpa de fruta.

A utilização de enzimas pelas indústrias de alimentos é uma prática considerada antiga e difundida. Todavia, com o descobrimento de novas oportunidades de enzimas para aplicações em alimentos, ainda estão em processo de conhecimento em determinados alimentos, como o da transglutaminase (EC 2.3.2. 13) em produtos lácteos. Esta enzima pode modificar as proteínas por meio de incorporação de aminas, ligações cruzadas e desaminação. Como resultado destas reações, polímeros de alto peso molecular são formados, levando a mudanças nas propriedades funcionais das proteínas, conferindo a possibilidade da formação de produtos com melhores propriedades reológicas e sensoriais (NIELSEN; PETERSEN; MOLLER, 1995).

O soro de leite é um subproduto com alta concentração de matéria orgânica que está sujeito à rápida alteração pelos microrganismos, possuindo, conseqüentemente, uma alta “demanda bioquímica de oxigênio” (DBO). Esse alto consumo de oxigênio pelos microrganismos em seu processo de utilização dos compostos do soro, juntamente com a fermentação dessa lactose em ácido láctico, faz com que o soro, quando lançado em cursos d’água, reduza o teor de oxigênio dissolvido e aumente a acidez dessa água, o que prejudica a vida aquática, transformando-se, portanto, em um agente altamente poluente (ABREU, 2005). Frente a esta condição, o soro de leite no Brasil, em sua maioria, é aproveitado por meio de tecnologias simplificadas, como na

elaboração de bebida láctea, na fabricação de ricota ou na distribuição aos produtores de leite para serem utilizados para alimentação animal. As formas mais sofisticadas, como concentração e secagem, são a minoria, devido ao elevado custo de investimento e também à baixa qualidade do soro gerado no Brasil.

Soro concentrado é a substância líquida obtida pela remoção parcial da água do soro, deixando todos os outros constituintes nas mesmas proporções relativas encontradas no soro original (ANTUNES, 2003). Estudos sobre a utilização de soro fluido concentrado, via processo de nanofiltração, têm sido alvos de pesquisas por conta de seus benefícios particulares, devido à utilização do princípio de concentração sem emprego de temperaturas elevadas, preservando as características da composição química.

O alvo de estudo neste capítulo foi o tratamento 8, que foi definido, no capítulo anterior, como o de melhor desempenho em rendimento. O objetivo foi o de encontrar a melhor concentração de enzima transglutaminase, na formulação de *petit suisse* adicionado de 85% de leite e 15% de soro fluido concentrado. Avaliaram-se cinco tratamentos, sendo quatro com diferentes concentrações da enzima transglutaminase e um controle, analisando rendimento, perfil de textura, índice de sinérese e análise sensorial.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para o objetivo de determinar a melhor concentração de transglutaminase, foram realizados os tratamentos apresentados na Tabela 1. Queijo *petit suisse* adicionado de soro concentrado a partir do ensaio 8, contendo 85% de leite desnatado e 15% de soro concentrado, apresentou melhor desempenho econômico, porém, com redução na concentração de enzima, pois, no valor de 0,35% apresentou problemas de textura. Logo, foi fixado o percentual de leite e soro concentrado, variando-se as concentrações de enzimas de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1 Tratamentos aplicados na elaboração de queijo *petit suisse* adicionado de soro concentrado

Tratamentos	S.C.N* (%)	TG** (%)
1	15	0,24
2	15	0,27
3	15	0,30
4	15	0,33
5	0,0	0,00

* soro concentrado por nanofiltração

** enzima transglutaminase

2.1 Fabricação dos queijos

O leite desnatado e o soro concentrado obtido pelo processo de nanofiltração foram adquiridos no Laticínio Verde Campo Ltda., situado no município de Lavras, MG. A formulação dos queijos ocorreu, experimentalmente, na planta piloto de laticínios e as análises de composição química dos queijos, do soro concentrado e do leite foram realizadas no Laboratório de Análises de Leite e Produtos Lácteos do Departamento de

Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (DCA/UFLA). As análises de textura foram realizadas no Laboratório de Engenharia e Microestrutura do DCA/UFLA. Inicialmente, o leite desnatado e o soro concentrado foram analisados antes de serem utilizados na fabricação.

Após a aferição do volume do leite desnatado e do soro fluido concentrado, os mesmos foram pasteurizados, a 72 °C/15 segundos. Depois da pasteurização, a mistura (leite + soro nanofiltrado) foi resfriada para 55 °C, para a adição do composto enzimático Ativa YG[®] e incubada em B.O.D., pelo período de 1 hora. Em seguida, a mistura foi aquecida a 60 °C, temperatura de inativação da TG. Após esta etapa, ocorreu seu resfriamento para 25 °C, para adição de 1,0% de fermento mesofílico (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis* e *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*), cloreto de cálcio em dose recomendada pelo fabricante e coalho na dose de 10% da quantidade recomendada pelo fabricante. Com uma breve homogeneização, a mistura ficou em repouso com temperatura média de 35 °C. O ponto foi determinado quando o soro atingiu 50 °Dornic, que corresponde a 5,0 g de ácido láctico/litro. A coalhada formada foi quebrada e agitada lentamente, por 15 minutos. A massa foi transferida para sacos de algodão esterilizados e o soro foi drenado por gravidade, por um período médio de 18 horas. Após o dreno do soro, a massa foi lavada com água previamente pasteurizada, até que o pH apresentasse 4,5. Separadamente, a calda foi preparada com creme e açúcar. Para cada 4,5 kg de creme com 50% de gordura, adicionaram-se 2,25 kg de açúcar, seguindo-se homogeneização e posterior pasteurização a 80 °C/5 minutos, resfriando-se a 10 °C. À massa dessorada foram adicionadas esta calda e a polpa de fruta sabor morango (Gemacom Tech) em 10% em relação à quantidade da massa.

2.2 Análise de textura do queijo

A análise de textura foi conduzida em um texturômetro (TA-XT2i, Texture Tech. Corp., Scarsdale, USA). As características da probe são: P/20 de 20 mm, cilíndrica de alumínio, com área de contato de 314,0 mm². Antes da realização dos testes, as amostras estavam estocas sob refrigeração em B.O.D., à temperatura de 4 °C. As condições de análise foram as seguintes: distância de penetração de 35 mm; velocidade da probe durante a penetração de 1 mm s⁻¹, velocidade da probe antes da penetração de 1 mm s⁻¹ e velocidade da probe após a penetração de 1 mm s⁻¹. Todos os dados obtidos foram analisados com o auxílio do *software* Exponent Lite Express (Stable Micro Systems, Godalming, UK).

2.3 Análises físicas e químicas do queijo *petit suisse*

Foram realizadas as seguintes análises:

- a) pH: foram efetuadas medidas de pH em potenciômetro devidamente calibrado. O pH foi determinado utilizando-se o potenciômetro digital Micronal[®], modelo 320, com eletrodo de vidro combinado (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985);
- b) umidade e matéria seca: realizada em estufa entre 100 a 105 °C até peso constante, segundo o método recomendado pela Association of Official Analytical Chemists - AOAC (1995);
- c) proteína bruta: calculada em função dos teores de nitrogênio total (N.T.), determinada pelo método de Kjeldahl-micro (BAILEY et al., 1951) multiplicado pelo fator 6,38, recomendado pela (AOAC, 1995);

- d) resíduo mineral fixo (cinzas): determinado seguindo-se o método recomendado pela (AOAC, 1995);
- e) gordura: a determinação da percentagem de gordura foi feita pelo método de Gerber, com a utilização de butirômetro específico (BRASIL, 2006);
- f) gordura no extrato seco (GES): a percentagem de GES do queijo foi obtida pela equação 1.

$$\%GES = \frac{\% \text{ de gordura}}{\%EST} \times 100 \quad (1)$$

2.4 Cálculo de rendimento e cifras de transição

A fórmula utilizada para o cálculo de perdas de proteína bruta no soro está representada na equação 2, de acordo com Furtado (2005).

$$\% \text{ perda proteína soro} = \frac{(kgl - P)Gs}{(kgl / DI)Gl \times Ds} \times 100 \quad (2)$$

em que

Ds = densidade (15 °C) do soro

DI = densidade (15 °C) do leite

kgl = quilos de leite

Gl = % proteína do leite

Gs = % proteína soro

P = produção de queijo (kg)

O rendimento técnico foi calculado pela relação entre L/kg, em que L significa litros de leite gastos na fabricação e kg, quilos de queijo (no caso, a massa base do queijo *petit suisse*).

2.5 Índice de sinérese

As amostras, após armazenamento em refrigeração, foram pesadas (15 g) e centrifugadas por 30 minutos. O índice de sinérese foi calculado conforme equação 3 (AICHINGER et al., 2003).

$$\% \text{ de Sinérese} = Ps/Pa * 100 \quad (3)$$

em que Ps = peso do sobrenadante (g) e Pa = peso da amostra (g)

2.6 Análise sensorial

Nesta etapa, foram avaliados, sensorialmente, todos os tratamentos em estudo.

Foram oferecidas amostras a 60 consumidores de queijo *petit suisse* (provadores não treinados), nas seguintes condições: em cabines individuais, em copos descartáveis brancos, codificados com algarismos de três dígitos, retirados de uma tabela de números aleatórios, em ordem balanceada de apresentação, com 50 g de amostra, em temperatura de, aproximadamente, 5 °C. Foi servida água mineral, em temperatura ambiente, para que os provadores lavassem o palato, entre uma amostra e outra. Os atributos avaliados foram sabor, textura, aparência e impressão global, julgados por meio de uma escala hedônica estruturada de 9 pontos (1=desgostei extremamente a 9= gostei extremamente) (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 2007).

As amostras foram disponibilizadas em ordem balanceada, em blocos casualizados completos, em que cada provador constituiu um bloco.

Os resultados dos testes sensoriais foram realizados, por meio de ANOVA, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), cujas variáveis foram concentração de soro fluido concentrado por nanofiltração e concentração de enzima transglutaminase. As análises foram realizadas no *software* Sisvar (FURTADO, 2003).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Rendimento econômico e índice de sinérese

Por meio dos dados da Tabela 2 é possível analisar as médias e seus respectivos desvios obtidos para rendimento econômico e índice de sinérese na massa de queijo *petit suisse* elaborado com adição de soro concentrado e enzima transglutaminase.

Tabela 2 Médias do rendimento técnico e índice de sinérese

Tratamento	Enzima m/v (%)	Soro concentrado v/v (%)	Rendimento técnico	Sinérese
			(gST/L)	(%)
			Média	Média
1	0,24	15	53,34	28a
2	0,27	15	55,34	33a
3	0,30	15	60,30	40b
4	0,33	15	62,40	55c
5	0,00	0	40,03	34b

Médias nas colunas seguidas por letras iguais não diferem entre si, a 5% de significância, pelo teste de Tukey

É possível observar, quanto ao rendimento, que os tratamentos 1, 2, 3 e 4 não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$), entretanto, houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos de 1 a 4 e o tratamento 5 (controle) que apresentou menor rendimento. Logo, se os tratamentos com adição de enzima não apresentaram diferenças estatisticamente, economicamente seria de maior interesse a utilização da menor quantidade de enzima (0,24%).

Na fabricação de queijo *petit suisse* com 15% de soro concentrado, acima de 0,3% (tratamentos 3 e 4), observa-se que a taxa de sinérese na massa é

aumentada proporcionalmente à quantidade de enzima. Os tratamentos 1 e 2 (com 0,24 e 0,27% de transglutaminase, respectivamente) apresentaram os melhores índices de sinérese. Confrontando-se os tratamentos 1 e 2 com o tratamento 5 (controle), é importante ressaltar a melhoria incorporada à massa quanto ao índice de sinérese devido à presença da enzima. Todavia, deve-se observar que o tratamento 4 (com a maior quantidade de enzima) foi o que mais afetou negativamente neste parâmetro. Este comportamento poderá auxiliar na interpretação da Tabela 2 (coeficientes de regressão para a sinérese), indicando que à medida em que é aumentada a quantidade de enzima, maior será a taxa de sinérese.

Diante destas comparações, pode-se destacar o tratamento 1 como a melhor formulação, quando comparado aos demais, apresentando bons índices de rendimento, com menor quantidade de transglutaminase e melhor índice de sinérese.

De acordo com Farnsworth et al. (2006) e Lorenzen et al. (2002), géis formados com agente de ligação cruzada apresentam melhor capacidade de retenção de água, em que a separação do soro será reduzida. Segundo Lauber, Henle e Klostermeyer (2000), este fenômeno deve-se à polimerização intermolecular de caseínas com proteínas do soro induzidas por transglutaminase, produzindo alterações significativas nas propriedades funcionais das proteínas do leite. A atuação da TG no leite ocorre formando géis caracterizados com agente de ligação cruzada ϵ - (γ -glutamil) lisina que, ao ocorrer este fenômeno, o gel apresentará melhor capacidade de aprisionamento de água (YOKOYAMA; NIO; KIKUCHI, 2004). O gel formado, proveniente de tratamento com a enzima TG, foi observado, fisicamente, por meio de microscopia, por Lorenzen et al. (2002) que relataram que a rede tridimensional apresentou os poros diminuídos, resultando em distribuição estrutural mais regular, contribuindo para a diminuição da sinérese. A retenção de proteínas do

soro, por meio de ligações cruzadas, na massa do queijo *petit suisse*, também pode ser a razão do aumento da estabilidade diante de sinérese, pois a β -lactoglobulina, proteína presente em maior quantidade no soro de leite bovino, tem excelentes propriedades gelatinizantes (ANTUNES, 2003).

Vários trabalhos de pesquisa com aplicação de transglutaminase apontaram este benefício para produtos lácteos, como em queijos, iogurtes e leites fermentados. Queijos processados adicionados de TG após a formação do gel de coalhada apresentaram índice 40% menor de sinérese do que o tratamento sem a presença desta enzima (FERNANDES DE SÁ; BORDIGNON-LUIZ, 2010). Mateva et al. (2010) avaliaram fatores que afetam a sinérese em queijo proveniente de leite tratado pelo processo de ultrafiltração. Na elaboração deste produto, foi adicionada enzima TG na concentrações de 0,0% (controle), 0,06% e 0,13%, obtendo-se os seguintes resultados: 10,4, 7,6% e 5,7%, respectivamente. Conclui-se que a presença da enzima afetou a taxa de sinérese que é proporcionalmente diminuída quando se aumenta a TG. Gustaw, Mleko e Tomczynska-Mleko (2008), ao avaliarem o impacto da enzima TG sobre as características de qualidade nos tipos de queijo Feta e Danbo elaborados a partir de leite ultrafiltrado, constataram uma diminuição significativa na taxa de sinérese em ambos os queijos, sendo de 9,3% para 6,1%, em queijo feta, e de 17,6% para 6,3%, no queijo danbo.

Domagala et al. (2013) estudaram as concentrações de TG, 1,0, 2,0 e 3,0 U g⁻¹ de proteína na manufatura de iogurte, com o objetivo de avaliar seus atributos de qualidade, incluindo a sinérese, durante o período de armazenamento. Estes autores observaram aumento significativo na diminuição da sinérese nos dois últimos tratamentos adicionados de enzima, em comparação ao tratamento controle. Lorenzen et al. (2002) elaboraram leite fermentado submetido ao tratamento com adição de TG, e resultaram em menor índice de sinérese, apresentando diminuição de 31% em relação às amostras controle. Para

as amostras adicionadas de TG e soro de leite fluido nas proporções de 20% e 30% em substituição ao leite, os índices de sinérese diminuíram 21% e 16%, respectivamente, em comparação com as amostras controle (LORENZEN et al., 2002). Gauche et al. (2009) obtiveram redução de 31% de sinérese em iogurte fabricado com adição de transglutaminase. Özer et al. (2007) observaram redução de 23% de sinérese de iogurtes fabricados com a adição da enzima TG na concentração de $0,6 \text{ U g}^{-1}$ de proteína, após 14 dias de armazenamento. Kuraishi e Sakamoto (1996) relataram redução de 50% na sinérese de iogurtes tratados com TG na concentração de 1 U g^{-1} de proteína.

Faria (2010), pesquisando os efeitos da aplicação de TG em bebida láctea fermentada com alto conteúdo de soro de leite em pó, relatou que a utilização de TG na faixa de concentração de 0,006% a 0,034%, com incubação entre 26 e 54 °C, teve efeito significativo na redução do nível de sinérese ($p < 0,05$) em relação ao controle, indicando que, mesmo em baixas concentrações de TG, pode-se reduzir a sinérese em bebidas lácteas fermentadas, após 21 dias de vida de prateleira.

3.2 Análise do perfil de textura

Na Tabela 3 são apresentados os resultados dos parâmetros de perfil de textura (elasticidade, adesividade, dureza, coesividade, gomosidade e mastigabilidade) para os tratamentos 1 a 5.

Tabela 3 Perfil de textura: elasticidade, adesividade, dureza, coesividade, gomosidade e mastigabilidade

Ensaio	% soro concentrado	%TG	¹ Elast	² Ad	³ Dur	⁴ Coe	⁵ Gom	⁶ Mas
1	15	0,24	0,93a	-8,78a	20a	0.65a	175a	204a
2	15	0,27	0,90a	-8,01b	83b	0.78a	188b	227b
3	15	0,30	0,91a	-7,25c	198c	0.71a	78c	245c
4	15	0,33	0,84a	-3,83d	215d	0.62a	45d	244d
5	00	0,00	0,92a	-107,2e	29e	0.58a	17e	215e

1 elasticidade; 2 adesividade (g.s); 3 dureza (g); 4 coesividade; 5 gomosidade 6 mastigabilidade

De acordo com os dados da Tabela 3, a elasticidade e a coesividade foram os únicos parâmetros que não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos, enquanto adesividade, dureza, gomosidade e mastigabilidade apresentaram diferença significativa entre si. Dessa maneira, pode-se observar que a quantidade de enzima influencia consideravelmente a maioria dos atributos de textura.

Comparando-se os tratamentos 1, 2, 3 e 4 com o tratamento padrão (5), observa-se que, para adesividade, os demais, com adição de enzima, os valores foram muito baixos. Esta discrepância também correu com o parâmetro dureza e gomosidade. Para dureza, é possível notar que, à medida que aumenta a concentração de enzima, ela é aumentada. Este fenômeno pode estar relacionado à intensidade de ligações cruzadas causadas pelas enzimas, ou seja, quanto maior a concentração de enzimas, maior será o saldo final de ligações cruzadas, e estas ligações poderão influenciar, de forma direta, a dureza da massa do queijo.

3.3 Composição química

Os dados da composição das massas do queijo *petit suisse* fabricado com a adição de soro concentrado por nanofiltração e enzima transglutaminase estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 Composição química das massas de *petit suisse*

Composição química dos queijos							
Trat.	Gordura (g/100g)	Proteína (g/100g)	EST ¹ (g/100g)	Umidade (g/100g)	Cinzas (g/100g)	pH	GES ²
1	7a	8,23a	17,31a	82,75a	0,80x	4,5y	40,43a
2	7a	8,79a	18,12b	81,88a	0,88x	4,6y	38,63a
3	7a	8,63a	17,58b	82,41a	0,83x	4,4y	39,81a
4	7a	8,44a	17,39a	82,62a	0,82x	4,5y	40,25a
5	5a	6,25b	12,56c	87,44a	0,75x	4,6y	39,80a

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna, não diferem entre si, pelo teste de Skott-Knott ($p < 0,05$)

¹ extrato seco total; ² gordura no extrato seco

A composição química apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) nos parâmetros de extrato seco total e proteínas; já para os parâmetros gordura, umidade, cinzas, pH e gordura no extrato seco, não se obtiveram diferenças.

Observa-se que, para teor de proteína nos queijos, os valores não diferiram entre os tratamentos adicionados de soro concentrado e enzima (1, 2, 3 e 4), apresentando grande proximidade entre este atributo analisado, por serem tratamentos similares quanto à adição de soro, porém, com diferenças na concentração de enzima transglutaminase. Dessa forma, pode-se notar que a adição desta enzima nos tratamentos que a contêm não atribuiu diferença para valores de proteínas. Diante do tratamento controle (sem enzimas e soro concentrado), ressalta-se o valor médio inferior neste tratamento e superior aos demais. A teoria aceita para este fenômeno está associada com a atividade da enzima. De acordo com Nonaka et al. (1989), a transglutaminase (EC 2.3.2.13) é

uma enzima capaz de catalizar reações de transferência de grupos acil, formando ligações cruzadas intra e intermoleculares em proteínas, principalmente por meio de ligações covalentes entre resíduos de glutamina e lisina. Dessa maneira, possivelmente, ocorreu formação de novos agregados proteicos (intermolecular) entre caseínas e proteínas do soro. Com retenção às caseínas das proteínas do soro, proveniente desta reação, sendo a caseína participativa no processo de coagulação, nas ambas condições, ácida e enzimática, a proteína do soro que seria perdida ficará parcialmente retida na coalhada, contribuindo para o aumento dos valores médios de proteínas na massa do queijo.

Os dados do Gráfico 1 reforçam esta teoria por meio dos valores médios das taxas de transferência de proteínas para o soro, podendo-se notar menores concentrações de proteínas no soro dos tratamentos adicionados de enzima transglutaminase. Já o controle apresentou teor mais elevado, com 41% de perda de proteínas para o soro.

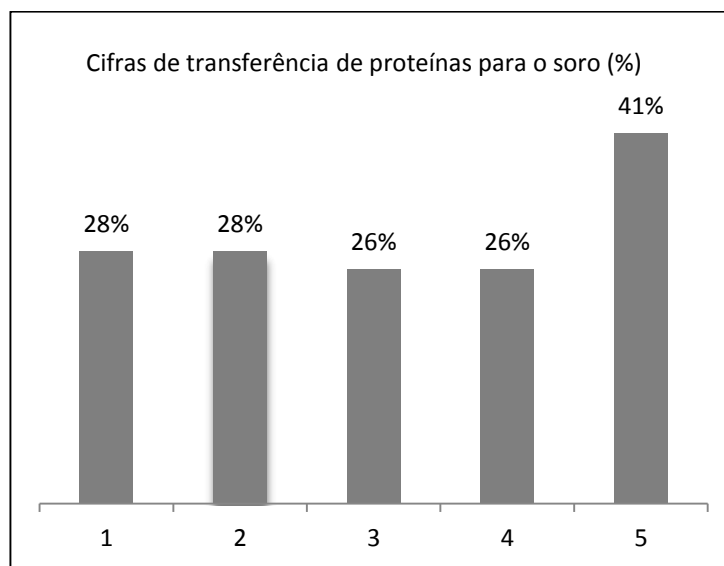


Gráfico 1 Transição de percentual de proteínas da mistura inicial (leite + soro concentrado) para o soro

3.4 Sensorial

Os dados da Tabela 5 indicam os resultados da análise sensorial dos tratamentos avaliados no queijo *petit suisse*.

Tabela 5 Média das notas * atribuídas pelos provadores para aparência, sabor, textura e aspecto global

Trat.	% TG m/v	Aparência	Sabor	Textura	Maciez	Impressão global
1	0,24	6,54a	6,18a	6,37a	6,29a	6,83a
2	0,27	6,20a	6,41a	6,93b	5,41b	6,85a
3	0,30	6,20a	6,09a	6,21a	5,00c	6,32b
4	0,33	5,66b	5,55b	5,31c	5,85d	6,09b
5	0,00	8,43c	7,83c	8,33d	8,00e	8,02c
CV%	-	17,23	19,97	15,48	17,35	18,24

Médias nas colunas seguidas por letras iguais não diferem entre si, a 5% de significância, pelo teste de Tukey; CV% = coeficiente de variação

* Atributos sensoriais: 1 – gostei extremamente a 9 – gostei extremamente

De acordo com os resultados, pode-se observar diferença significativa do tratamento controle com os demais avaliados. Para os parâmetros analisados, aparência, sabor, textura, maciez e impressão global, este tratamento obteve maiores médias, sendo identificado como o de melhor desempenho sensorial. Depois deste, os tratamentos 1, 2, 3 e 4 obtiveram as melhores médias, destacando-se o tratamento 4, por obter as médias inferiores a 6 para quase todos atributos, representando o tratamento que mais se distanciou do controle de forma negativa.

O tratamento controle, por não conter adição de soro concentrado e enzima, é a justificava mais aplicável para seu alto desempenho de uma forma geral. Contudo, pode-se notar que os tratamentos com a menor adição de enzima foram proporcionais aos resultados, ou seja, quanto menor a quantidade de TG, melhor a pontuação dos atributos sensoriais.

Observa-se que os parâmetros aparência e sabor, entre os tratamentos adicionados de enzima e soro concentrado, foram os atributos que menos sofreram influência, sendo o tratamento 4 (0,33% transglutaminase) o mais afetado negativamente. Quanto ao perfil de maciez, os tratamentos 3, 2 e 4 apresentaram as médias mais baixas, respectivamente, atributo fundamental na qualidade deste tipo de queijo. Relacionando-se estes resultados aos obtidos por meio da tabela de análise de perfil de textura (Tabela 3), em que a dureza, atributo correlacionado a este, foram os mais afetados quando comparados ao controle, havendo um gasto maior de força (N) para romper a superfície da massa. De acordo com Kuraishi et al. (1997), o incremento da firmeza no gel está relacionada com o aumento das ligações cruzadas, portanto, maior será a força necessária para romper o gel quanto maior for o número de ligações cruzadas existentes.

Na literatura podem-se encontrar alguns produtos lácteos que apresentaram comportamento diferente com a adição da transglutaminase, ressaltando que as concentrações foram relativamente baixas, quando comparadas às do presente estudo. Faria (2010), estudando o comportamento da transglutaminase em bebida láctea, observou que a utilização de 0,034% não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao tratamento controle. Vieira e Silva (2014) observaram que a adição de transglutaminase (0,5 U/g) conferiu maior aceitação sensorial em bebida láctea com leite de cabra, promovendo melhorias ao produto neste aspecto. Farinã et al. (2004) verificaram que o uso de transglutaminase (2 U/g) em requeijão conferiu alterações reológicas que não afetaram a aceitação do produto.

4 CONCLUSÕES

Conclui-se que a adição da enzima transglutaminase conferiu incremento no rendimento na massa de queijo *petit suisse* adicionado de soro fluido concentrado, sendo a quantidade de 0,24% m/v a mais adequada.

A adição de transglutaminase pode afetar negativamente o índice de sinérese na concentração de 0,33% m/v, todavia, a concentração de 0,24% m/v demonstrou melhor desempenho, com redução neste índice, quando comparada ao controle.

No perfil de textura, os parâmetros elasticidade e coesividade foram os únicos atributos que não sofreram interferência da adição da enzima, porém, adesividade, dureza, gomosidade e mastigabilidade foram afetadas pela ação da enzima.

A composição química da massa foi afetada quando adicionada de enzimas, provocando incremento nos valores de proteínas e extrato seco total na massa, enquanto o resíduo mineral fixo e umidade não foram afetados.

Por meio de teste sensorial, o tratamento controle (5) foi o de maior aceitação, seguido do tratamento 1, com 0,24% m/v de transglutaminase, tendo o tratamento 4, de maior concentração, sido o ensaio com as médias mais baixas.

REFERÊNCIAS

- ABREU, L. R. **Processamento do leite e tecnologia de produtos lácteos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2005. 194 p.
- AICHINGER, P. A. et al. Fermentation of a skim milk concentrate with *Streptococcus thermophilus* and chimosin: structure, viscoelasticity and syneresis of gels. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 31, p. 243-255, Aug. 2003.
- ANTUNES, A. J. **Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino**. São Paulo: Manole, 2003. 135 p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC international**. 16th ed. Washington, 1995. 109 p.
- BAILEY, K. et al. Transglutaminases in neurodegenerative disorders. **Nature**, London, v. 107, p. 233, 1951.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 14 dez. 2006. Seção I, p. 8.
- DOMAGAŁA, J. et al. The effect of transglutaminase concentration on the texture, syneresis and microstructure of set-type goat's milk yoghurt during the storage period. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 112, p. 154-161, May 2013.
- FARIA, D. S. **Estudo dos efeitos da aplicação de transglutaminase em bebida láctea fermentada com alto conteúdo de soro**. 2010. 116 p. Dissertação (Mestrado em Análise e Otimização de Processos Industriais e Engenharia de Embalagem) - Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, 2010.

FARIÑA, L. O. et al. Estudos das características físico-químicas, reológicas e sensoriais do requeijão cremoso produzido com a adição de transglutaminase. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 21., 2004, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora, 2004. p. 163-166.

FARNSWORTH, J. P. et al. Effects of transglutaminase treatment on functional properties and probiotic culture survivability of goat milk yogurt. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 65, p. 113-121, Sept. 2006.

FERNADES DE SÁ, E. M.; BORDIGNON-LUIZ, M. The effect of transglutaminase on the properties of milk gels and processed cheese. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 63, n. 2, p. 243-251, May 2010.

FURTADO, D. **Software Sisvar**. Versão 4 1.3, Build 4.5. Lavras: UFLA, 2003. Disponível em: <<http://www.ufla.br>>. Acesso em: 19 set. 2009.

FURTADO, M. M. **Principais problemas dos queijos: causas e prevenções**. São Paulo: Fonte Comunicações, 2005. 200 p.

GAUCHE, C. et al. Physical properties of yoghurt manufactured with milk whey and transglutaminase. **Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 42, n. 10, p. 239-243, Aug. 2009.

GUSTAW, W.; MLEKO, S.; TOMCZYNSKA-MLEKO, M. Production of UF-milk cheeses: effect of rennet and transglutaminase on coagulation time, texture and syneresis. **Milchwissenschaft**, Munchen, v. 63, n. 2, p. 141-144, 2008.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3. ed. São Paulo, 1985. 160 p.

KURAIISHI, C. et al. Production of restructured meat using microbial transglutaminase without salt or cooking. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 62, n. 3, p. 488-490, 1997.

KURAIISHI, C.; SAKAMOTO, J. **The usefulness of transglutaminase for food processing**. Washington: American Chemical Society, 1996. 379 p. (ACS Symposium Series, 637).

LAUBER, S.; HENLE, T.; KLOSTERMEYER, H. Relationship between the crosslinking of caseins by transglutaminase and the gel strength of yoghurt. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 210, n. 56, p. 305-309, June 2000.

LORENZEN, P. C. et al. Effect of enzymatic cross- linking of milk proteins on functional properties of set-style yoghurt. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 55, n. 42, p. 152-157, Aug. 2002.

MATEVA, N. et al. Factors affecting the syneresis and coagulation in ultra-filtered cheese. **Journal of Hygienic Engineering and Design Original**, Skopje, v. 12, n. 5, p. 48-53, Dec. 2010.

MEILGAARD, M. C.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 4th ed. Boca Raton: CRC, 2007. 448 p.

NIELSEN, G. S.; PETERSEN, B. R.; MOLLER, A. J. Impact of salt, phosphate and temperature on the effect of a transglutaminase (F XIII A) on the texture of restructured meat. **Meat Science**, Barking, v. 41, n. 11, p. 293-299, Aug. 1995.

NONAKA, M. et al. Polymerization of several proteins by Ca²⁺- independent transglutaminase derived from microorganisms. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 53, n. 10, p. 2619-2623, 1989.

OZER, B. et al. Incorporation of microbial transglutaminase into non-fat yogurt production. **International Dairy Journal**, Barking, v. 17, n. 25, p. 199-207, Mar. 2007.

VIEIRA, D. C. F.; SILVA, C. A. de S. Avaliação do emprego de transglutaminase em bebida láctea elaborada com leite de cabra. **Vértices**, Campos dos Goytacazes, v. 16, n. 2, p. 143-151, maio/ago. 2014.

YOKOYAMA, K.; NIO, N.; KIKUCHI, Y. Properties and applications of microbial transglutaminase. **Applied Microbiology and Biotechnology**, New York, v. 64, n. 22, p. 454-454, Dec. 2004.