

EFEITO DA TRANSGLUTAMINASE MICROBIANA NO PROCESSAMENTO DE QUEIJO MINAS FRESCAL COM TEOR REDUZIDO DE SÓDIO PRODUZIDO COM LEITE DE CABRA E ELABORAÇÃO DE MANUAL DIGITAL COMO FERRAMENTA DE APOIO A CADEIA PRODUTIVA DE DERIVADOS DO LEITE

Wesley Sousa dos Santos¹, Fernando Morais Rodrigues², Sérgio Luis Melo Viroli², Paula Jucá de Sousa²

¹Estudante do Curso Superior em Tecnologia de Alimentos – IFTO. e-mail: <wesley.santos6@estudante.ifto.edu.br>

²Professor Doutor do Instituto Federal do Tocantins – IFTO. e-mail: <fernandomorais@ifto.edu.br>

²Professor Mestre do Instituto Federal do Tocantins – IFTO. e-mail: <viroli@ifto.edu.br>

²Professora Mestre do Instituto Federal do Tocantins – IFTO. e-mail: <paulajuca@ifto.edu.br>

Resumo: Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de duas concentrações de transglutaminase microbiana (TGM: 0,95 e 1,89 UI.g⁻¹) e três teores de cloreto de sódio (NaCl: 100%, 70% e 40%) no rendimento e nas características físico-químicas. Além disso, foi elaborado manual digital cuja finalidade é proporcionar, ao micro e ao pequeno produtor ou empresário rural, conhecimentos sobre o processamento industrial do queijo produzido, visando à redução de custos, ao aumento da produtividade e à garantia de qualidade quanto aos aspectos higiênicos e sanitários assegurados pelas boas práticas de fabricação (BPF). Os dados foram analisados por ANOVA considerando o teor de sal (100, 70 e 40% NaCl) e a concentração de TGM (0,95 e 1,89 UI.g⁻¹) como causas de variação e, para checar diferença entre as médias, foi utilizado o teste de Tukey, ao nível de significância de 5%. A adição de TGM resultou em um aumento do rendimento dos queijos quando comparados com o controle, sendo maior quando se utilizou a maior concentração da enzima. Também foi observado o efeito da TGM no incremento do teor de umidade. O aumento da concentração de TGM resultou em aumento do teor de proteína. Por outro lado foi observada maior retenção de cálcio (778,18 g/100mg) comparado ao controle. Os resultados mostraram que a TGM tem potencial para ser utilizada na formulação de queijo Minas Frescal com baixo teor de sódio.

Palavras-chave: alimentos, inovação, lácteos, sódio, tecnologia

1 INTRODUÇÃO

A produção do leite de cabra (*Capra hircus*) é de significativa importância para a economia e sobrevivência de uma grande parte das populações em vários países do mundo, tanto em países em desenvolvimento (países da Ásia, África, América do Sul, Oriente Médio e países mediterrâneos) como nos países desenvolvidos da América do Norte, Europa e Oceania (BILLON, 2003).

A criação de caprinos e ovinos são atividades em expansão no Brasil, ainda que na região Norte e em especial no Tocantins, atualmente não haja destaque econômico, mas que por sua potencialidade pode despontar como um novo paradigma de desenvolvimento sócio-econômico-ambiental, através de melhorias no meio rural, e matéria-prima leite com alto conteúdo de sólidos totais, qualidades microbiológicas e sensoriais satisfatórias para produção de derivados lácteos como queijos e iogurtes.

Assim, nas últimas décadas, houve um crescimento do interesse pela produção de leite de cabra e sua conversão em produtos de alto valor agregado, bem como, uma renovação no interesse pelo mesmo como uma fonte alternativa às pessoas intolerantes ao leite bovino (TZIBOULA-CLARKE, 2003).

Outro fator motivador desta proposta é que a maior parte da população mundial consome sódio acima do recomendado. Embora o cloreto de sódio seja um nutriente essencial para a manutenção da

saúde, seu consumo excessivo está associado ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, hipertensão arterial, doenças neurológicas, osteoporose, câncer gástrico, doenças renais, asma e obesidade (WYNESS et al., 2012; MOZAFFARIAN et al., 2014)). Com base nestes riscos, campanhas públicas através de agências reguladoras têm sido realizadas mundialmente com o objetivo de alertar os consumidores sobre o risco do consumo excessivo de sódio (CHRISTOFOROU et al.; STRAZZULLO et al., 2012; CHRISTOFOROU et al., 2015). Em função disso, a Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda a redução como forma de promover a saúde (WHO, 2011).

No Brasil não é diferente e o consumo de sódio está acima do recomendado. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) o brasileiro consome 12g sal/dia, o que equivale a 4800 mg de sódio. Entre as medidas públicas adotadas pelo governo estão programas do Ministério da Saúde e da Associação Brasileira de Indústrias de Alimentação (ABIA), estabelecido em 2011, onde se estipulou a redução gradual de sódio em categorias prioritárias (laticínios, sopas e produtos cárneos) de preparações disponíveis para consumo e alimentos processados até 2020 (BRASIL, 2011).

Embora já seja possível encontrar produtos com redução de sódio, a oferta desses itens com desempenho tecnológico e consequente aceitação sensorial ainda é um grande desafio (AGARWAL et al., 2011; CRUZ et al., 2011). Por isso, estudos têm sido realizados com o objetivo de encontrar alternativas que possibilitem manter as mesmas funcionalidades, mas reduzindo ou eliminando o sódio (NOORT et al., 2012), na formulação de queijos GOMES et al. (2011).

A enzima transglutaminase microbiana (TGM) vem sendo utilizada no processamento de produtos alimentícios como alternativa promissora, pois é capaz de catalisar reações de transferência de radicais acil formando ligações cruzadas intra e intermoleculares em proteínas, principalmente através de ligações covalentes entre resíduos de glutamina e lisina (NONAKA et al., 1989; HAN et al., 2008).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do uso combinado da TGM microbiana e da redução de sal na produção de queijo Minas Frescal sob as características físico-químicas e o rendimento do queijo Minas Frescal.

2 METODOLOGIA

2.1 Processamento do queijo

Os queijos foram processados a partir de leite pasteurizado integral (Leite Triângulo, Paraíso do Tocantins, Brasil), cloreto de cálcio solução a 40% (marca Ricanata), ácido láctico 85% de pureza (marca Ricanata), cloreto de sódio (refinado, marca CISNEI), coagulante (marca CHR Hansen®, produzida por cepa de *Aspergillus niger var. awamori*) e enzima TGM (ACTIVA® YG Ajinomoto Interamericana Ind. e Com. Ltda). Os tratamentos resultantes da combinação de TGM e redução do teor de sal foram: QC (100%NaCl), Q4 (40% NaCl), Q7 (70% NaCl), Q4T1 (40% NaCl / 0,95 UI.g⁻¹ TGM), Q4T2 (40% NaCl / 1,89 UI.g⁻¹ TGM), Q7T1 (70% NaCl / 0,95 UI.g⁻¹ TGM), Q7T2 (70% NaCl / 1,89 UI.g⁻¹ TGM). A coagulação foi realizada a 37°C durante 45 min, seguida do corte de forma lenta, obtendo-se cubos de

1,5 cm de lado aproximadamente, e deixado em repouso por 3 minutos. Realizou-se a mexedura da massa durante 20 minutos, de forma lenta e suave, de maneira a proporcionar a retração do coágulo e a expulsão parcial do soro. Após esse período a massa do queijo foi vertida em formas de polipropileno de 250 g para drenagem. Após os primeiros 60 minutos foi realizada a primeira viragem, repetindo-se o processo por pelo menos mais três vezes em intervalos regulares de 30 minutos. Em seguida os queijos foram acondicionados em embalagens plásticas e armazenados sob refrigeração a 5° C até a realização das análises.

2.2. Análises físico-químicas e Rendimento

A composição centesimal (umidade, proteína e lipídeos) foi determinada utilizando as metodologias oficiais. A determinação da umidade seguiu a AOAC (2010), os lipídeos foram quantificados pelo método de Gerber, e a proteína de acordo com Kjeldahl, multiplicando-se o conteúdo de nitrogênio pelo fator 6,38 (BRASIL, 2006). Para as medições de pH foi utilizado um medidor digital inserindo-se o eletrodo diretamente nas amostras e a acidez foi determinada por titulação, sendo expressa em g/100g de ácido láctico (AOAC, 2010). A determinação de cinzas foi feita de acordo com AOAC (2010). O rendimento foi calculado de acordo com Andreatta et al. (2009).

2.3 Elaboração de manual digital

O manual digital foi construído conforme as recomendações para concepção e eficácia de materiais didáticos educativos, de acordo com as características: conteúdo, linguagem, organização, layout, ilustração, aprendizagem e motivação.

Desta forma a elaboração do manual seguiu as seguintes etapas: definição do título; definição dos tópicos que compuseram o manual; pesquisa bibliográfica; elaboração do roteiro; desenvolvimento do manual; versão piloto do material digital e versão final apta a ser divulgado e compartilhada na forma digital.

2.4 Análises estatísticas

Os dados foram analisados por ANOVA considerando o teor de sal (100, 70 e 40% NaCl) e a concentração de TGM (0,95 e 1,89 UI.g-1) como causas de variação e, para checar diferença entre as médias, utilizou-se o teste de Tukey, ao nível de significância de 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Análises Físico-Químicas e Rendimento

A Tabela 1 mostra as médias obtidas nas análises físico-químicas e o rendimento do queijo nos experimentos realizados. Foram observadas diferenças significativas para todos os parâmetros ($p < 0,05$).

Tabela 1- Composição centesimal, pH, acidez total e rendimento do queijo Minas Frescal elaborado com diferentes teores de sal e acrescidos de transglutaminase microbiana.

Parâmetros físico-químicos	QC	Q4	Q7	Q4T1	Q4T2	Q7T1	Q7T2
Umidade (g/100g)	72,56 ^{ab} ±0,35	71,17 ^{bc} ±0,86	71,22 ^{bc} ±0,16	72,09 ^{ab} ±0,54	73,41 ^a ±0,06	70,15 ^c ±0,38	74,47 ^a ±0,31
Cinzas (g/100g)	2,16 ^a ±0,05	1,41 ^d ±0,01	2,43 ^c ±0,03	1,80 ^d ±0,02	1,81 ^d ±0,02	2,32 ^b ±0,01	2,16 ^c ±0,01
Proteína (g/100g)	17,15 ^b ±0,07	16,48 ^b ±0,17	17,05 ^b ±1,06	19,15 ^a ±0,28	20,25 ^a ±0,21	19,25 ^a ±0,07	20,86 ^a ±0,28
Gordura (g/100g)	23,55 ^c ±0,4	23,61 ^f ±0,16	23,71 ^e ±0,70	25,16 ^a ±0,79	24,20 ^d ±0,01	25,30 ^b ±0,38	24,985 ^c ±0,64
Sódio (mg/100g)	554,28 ^a ±0,17	243,15 ^f ±0,14	365,05 ^d ±0,14	240,95 ^e ±0,08	256,91 ^c ±0,15	388,12 ^c ±0,17	395,04 ^b ±0,09
Cálcio (mg/100g)	555,14 ^e ±0,15	780,25 ^a ±0,08	653,82 ^d ±0,17	778,18 ^b ±0,04	764,62 ^c ±0,12	6214,25 ^f ±0,02	625,16 ^c ±0,10
Rendimento (g/L)	286,21 ^a ±0,11	275,08 ^f ±0,25	269,15 ^e ±0,50	272,05 ^d ±0,29	291,35 ^a ±0,45	252,01 ^e ±0,78	287,35 ^b ±0,65
pH	6,64 ^a ±0,01	6,66 ^{ab} ±0,42	6,60 ^{ab} ±0,35	6,43 ^c ±0,22	6,61 ^a ±0,28	6,58 ^{ac} ±0,56	6,62 ^c ±0,65
Acidez total (ac. láctico) (g/100g)	0,11 ^d ±0,01	0,15 ^{bcd} ±0,01	0,15 ^{bc} ±0,14	0,18 ^b ±0,24	0,14 ^{bcd} ±0,12	0,18 ^{ab} ±0,01	0,20 ^a ±0,02

QC (100%NaCl), Q4 (40% NaCl), Q7 (70% NaCl), Q4T1 (40% NaCl / 0,95 UI.g⁻¹ TGM), Q4T2 (40% NaCl / 1,89 UI.g⁻¹ TGM), Q7T1 (70% NaCl / 0,95 UI.g⁻¹ TGM), Q7T2 (70% NaCl / 1,89 UI.g⁻¹ TGM)

Observou-se que a umidade foi superior a 55% em todos os queijos, o que já era esperado, uma vez que o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos (BRASIL, 1997) classifica o queijo minas frescal como de alta umidade. Entretanto, as amostras apresentaram teor mais elevado de umidade que o normalmente obtido para o produto produzido pelo processo tradicional (FELICIO et al., 2016). O Q4T2 e Q7T2 foram os queijos que obtiveram os maiores valores de umidade 74,41 e 74,76 g/100g, respectivamente, provavelmente devido à capacidade da transglutaminase microbiana em modificar as propriedades das proteínas pela formação da rede tridimensional e das ligações covalentes entre os aminoácidos glutamina e lisina, auxiliando a capacidade de retenção de água na matriz de queijo (DAMODARAN; AGYARE, 2013).

Em relação ao teor de cinzas (média de 2,20) não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$) entre as amostras Q4, Q4T2 e Q4T1, assim como também não houve diferenças entre as amostras Q7 e Q7T2. Sant'Ana et al. (2013) reportaram valores entre 2,21 e 2,26 g/100g. Estes resultados estão em consonância com os observados por Piccolo (2006) em estudos com requeijão cremoso, onde a adição da enzima transglutaminase não alterou o teor de cinzas. Faria (2010) não encontrou diferença significativa entre as amostras de bebida láctea formuladas com TGM quando comparadas ao controle. Também, estudos conduzidos com queijos muçarela com substituição parcial de sódio relataram não

haver alteração da composição química (umidade, proteína, gordura e cinza) em função da substituição de sódio por potássio (AYYASH et al., 2012).

O teor de proteína apresentou valores variando de 16,98 a 20,7 g/100g. Valores semelhantes ao reportado por Felicio et al. (2016) (16,6 – 18,8 g/100g). Estudos com queijo Minas frescal adicionado de *Lactobacillus* apresentaram valores médios de 13,68 g/100g (RIBEIRO et al., 2009). No presente trabalho houve aumento do teor de proteína com o aumento da concentração de TGM (Tabela 1), provavelmente devido à maior retenção das proteínas do soro α -lactoalbumina e β -lactoglobulina na massa (COZZOLINO et al., 2003).

Em relação ao teor de gordura, os valores apresentaram diferenças significativas, variando de 23,62% (Q4) a 25,76% (Q4T1), semelhantes aos reportados por outros autores (FELICIO et al., 2016; FURTADO; LOURENÇO NETO, 1994; GOMES et al., 2011).

No que diz respeito aos níveis de sódio do queijo, os valores variaram de 558,08 mg/100 g para QC a 240,16 mg/100 g para Q4T1. A adição de TGM resultou num aumento no teor de cálcio variando de 614,25mg/100g (Q7T1) a 780,18mg/100g (Q4T1), ao passo que o QC apresentou 554,44 mg/100 g ($p < 0,05$). Assim, a redução de sódio levou a uma diminuição na dissolução de cálcio a partir da matriz para-caseína, com efeito direto sobre o nível de fosfato de cálcio coloidal, resultando em melhor retenção do cálcio na matriz de queijo (GUINEE, 2004).

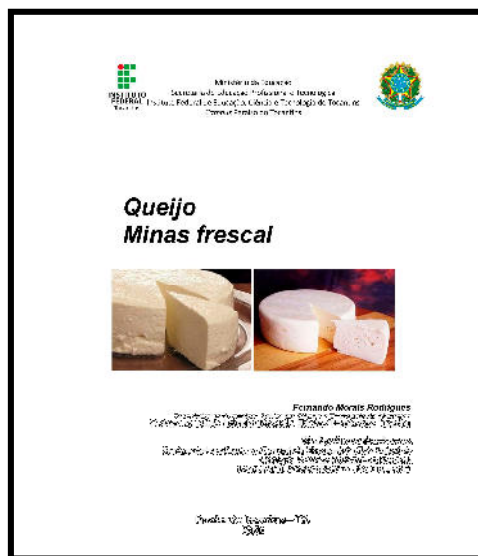
Os valores de rendimento variaram de 254,01 a 293,35 g/L. Os maiores valores encontrados foram para os queijos com maiores concentrações de TGM (Q4T2 e Q7T2). A adição da enzima transglutaminase na concentração de 0,06% (1,89 UI.g⁻¹) aumentou o rendimento do queijo Minas Frescal em aproximadamente 6,5% em relação ao processo tradicional.

O pH das amostras variou de 6,52 (Q7T2) a 6,62 (QC) ($p > 0,05$) corroborando com Damodaran and Agyare (2013) que indicaram a não alteração do pH pelo uso da TGM. A acidez expressa em ácido láctico apresentou valores variando de 0,11 a 0,20 g/100g. Resultados similares (0,21) foram encontrados por Da Rosa (2004).

3.2 Elaboração de manual digital

O Manual digital teve como objetivo orientar o micro e ao pequeno produtor ou empresário rural, sobre as condições que devem ser observadas para garantir a segurança alimentar e a técnica adequada envolvendo as etapas do processamento do queijo Minas Frescal. A disposição deste documento abrangeu as atividades de manipulação, preparação, armazenamento, distribuição, transporte, e como garantir a produção de queijos seguros e saudáveis.

Figura 1 – Material digital sobre os processo de fabricação do queijo Minas Frescal



Fonte: próprio autores

Este material são o complemento fundamental para fixação da aprendizagem construída nesses processos e representam fonte permanente de consulta e referência. São elaboradas pensando exclusivamente em atender a comunidade, que trabalha no campo e na cidade. Seu conteúdo, fotos e ilustrações traduzem todo o conhecimento acadêmico e prático em soluções para os desafios que enfrentam diariamente na fabricação do queijo Minas Frescal.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os maiores valores de rendimento foram encontrados nos queijos com maiores concentrações de TGM. A adição da enzima transglutaminase na concentração de 0,06% (1,89 UI.g⁻¹) aumentou o rendimento do queijo Minas Frescal em, aproximadamente, 6,5% com relação ao queijo Minas Frescal produzido pelo processo tradicional. No entanto estudos mais aprofundados são necessários para melhor entendimento do uso combinado da TGM e da redução de NaCl na formulação de queijos.

REFERÊNCIAS

AGARWAL, S. et al. Sodium content in retail Cheddar, Mozzarella, and process cheeses varies considerably in the United States. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 3, p. 1605-1615, 3// 2011.

ANDREATTA, E. et al. Quality of minas frescal cheese prepared from milk with different somatic cell counts. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 3, p. 320-326, 2009.

AOAC. **Official methods of analysis of AOAC International**. Gaithersburg, Md.: AOAC International. 2010.

AYYASH, M. M., SHERKAT, F., SHAH, N. P. The effect of NaCl substitution with KCl on Akawi cheese: Chemical composition, proteolysis, angiotensin-converting enzyme-inhibitory activity,

probiotic survival, texture profile, and sensory properties. **Journal of Dairy Science**, 95(9), 4747-4759. 2012.

BILLON, P., Milking management. In: Roginski, H., Fuquay, J.W., Fox, P.F. **Encyclopedia of Dairy Sciences**. Cornwall: Academic Press, p. 1243–1253, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos para controle de leite e produtos lácteos. (**Instrução Normativa nº 68 de 12/12/2006**). Diário Oficial da República Federativa do Brasil. 2006.

CHRISTOFOROU, A. et al. Progress on Salt Reduction in the Pacific Islands: From Strategies to Action. **Heart, Lung and Circulation**, n. 0, ISSN 1443-9506.v. 24, n. 5, p. 503-509, 5// 2015.

COZZOLINO, A., DI PIERRO, P., MARINIELLO, L., SORRENTINO, A., MASI, P., PORTA, R. Incorporation of whey proteins into cheese curd by using transglutaminase. **Biotechnology and applied biochemistry**, 38(3), 289-295. 2003.

CRUZ, A. G. et al. Cheeses with reduced sodium content: Effects on functionality, public health benefits and sensory properties. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, n. 6, p. 276-291, 6// 2011.

DAMODARAN, S.; AGYARE, K. K. Effect of microbial transglutaminase treatment on thermal stability and pH-solubility of heat-shocked whey protein isolate. **Food Hydrocolloids**, v. 30, n. 1, p. 12-18, 1// 2013.

DA ROSA, V. P. **Efeitos da atmosfera modificada e da irradiação sobre as características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais do queijo Minas frescal**. Universidade de São Paulo. 2004.

FARIA, S. **Estudo dos efeitos da aplicação de transglutaminase em bebida láctea fermentada com alto conteúdo de soro**. Master, Escola de Engenharia Mauá de Tecnologia. 2010.

FELICIO, T. L. et al. Physico-chemical changes during storage and sensory acceptance of low sodium probiotic Minas cheese added with arginine. **Food Chemistry**, v. 196, p. 628-637, 4/1/ 2016.

FURTADO, M. M.; LOURENÇO NETO, J. d. M. **Tecnologia de queijos: manual técnico para a produção industrial de queijos**. São Paulo: Dipemar, 76-77. 1994.

GOMES, A. P. et al. Manufacture of low-sodium Minas fresh cheese: Effect of the partial replacement of sodium chloride with potassium chloride. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 6, p. 2701-2706, 6// 2011.

GUINEE, T. Salting and the role of salt in cheese. *Internat. J. of Dairy Tech.*, 57(2-3), 99-109. 2004.

HAN, M. et al. Effect of microbial transglutaminase on NMR relaxometry and microstructure of pork myofibrillar protein gel. **European Food Research and Technology**, v. 228, n. 4, p. 665-670, 2008.

MOZAFFARIAN, D. et al. Global Sodium Consumption and Death from Cardiovascular Causes. **New England Journal of Medicine**, v. 371, n. 7, p. 624-634, 2014.

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

NOORT, M. W. J.; BULT, J. H. F.; STIEGER, M. Saltiness enhancement by taste contrast in bread prepared with encapsulated salt. **Journal of Cereal Science**, v. 55, n. 2, p. 218-225, 3// 2012.

PICCOLO, K. **Avaliação do efeito da enzima transglutaminase no processo de produção de requeijão cremoso**. 2006.

SANT'ANA, A., BEZERRIL, F., MADRUGA, M., BATISTA, A., MAGNANI, M., SOUZA, E., et al. Nutritional and sensory characteristics of Minas fresh cheese made with goat milk, cow milk, or a mixture of both. **Journal of dairy science**, 96(12), 7442-7453. 2013.

STRAZZULLO, P. et al. Population based strategy for dietary salt intake reduction: Italian initiatives in the European framework. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 22, n. 3, p. 161-166, 3// 2012.

TZIBOULA-CLARKE, A. Goat milk. In: ROGINSKI, H., FUQUAY, J.W., FOX, P.F. **Encyclopedia of Dairy Sciences**. Cornwall: Academic Press, p. 1270-1279, 2003.

WHO. **Review and updating of current WHO recommendations on salt/sodium and potassium consumption**. Geneva, Switzerland: World Health Organization 2011.

WYNESS, L. A.; BUTRISS, J. L.; STANNER, S. A. Reducing the population's sodium intake: the UK Food Standards Agency's salt reduction programme. **Public Health Nutr**, v. 15, n. 2, p. 254-61, Feb 2012. ISSN 1368-9800.