



## UTILIZAÇÃO DE PROTEASES VEGETAIS NA FABRICAÇÃO DE QUEIJOS COALHO COM LEITE DE CABRA

S. C. Pereira<sup>1</sup>, K. M. O. Santos<sup>1</sup>, M. S. R. Bastos<sup>2</sup>, I. V. M. Moraes<sup>2</sup>, C. M. Paula<sup>1</sup>, A. S. Egito<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Caprinos e Ovinos/Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Estrada Sobral Groaíras Km 4, CEP: 82010970, Sobral – CE, Brasil; <sup>2</sup> Embrapa Agroindústria Tropical/ Laboratório de embalagens, Rua Dra. Sara Mesquita, 2270- Planalto do Pici, CEP: 80511-110, Fortaleza – CE, Brasil

\*egito@cnpq.embrapa.br

### RESUMO

Na indústria alimentícia, as proteases têm encontrado diversas aplicações, algumas bastante tradicionais, a exemplo da quimosina, amplamente utilizada na fabricação de queijos. Entretanto, o aumento do consumo de queijos e a diminuição na disponibilidade de estômagos de bezerro lactentes têm ocasionado a demanda por coalhos alternativos como os de origem microbiana e animal, obtidos muitas vezes por manipulação genética. Produtos de ocorrência natural, como proteases extraídas de vegetais e destinadas à fabricação de queijos, apresentam a vantagem de serem mais facilmente aceitos pelos consumidores e aprovados para comercialização. Em estudos anteriores na Embrapa Caprinos e Ovinos, observou-se que sementes de girassol (*Helianthus annuus*) apresentaram atividade coagulante no leite. Baseados nestes estudos realizaram-se novos experimentos com objetivo de avaliar o potencial da utilização de extratos das sementes de girassol na fabricação de queijos de leite de cabra. Para alcançar este objetivo, queijos foram fabricados com enzima tradicional (quimosina) e comparados com os fabricados com extratos de girassol, com base em eletroforeses e análises físico-químicas. Apresentando semelhança entre as características físico-químicas e eletroforéticas entre os dois processamentos, mostrando ser possível a fabricação de queijos fabricados a partir de extratos de sementes de girassol.

**Palavras-chave:** Queijo, enzimas, análise físico-química, eletroforese.

### INTRODUÇÃO

Apesar de apresentarem-se como alternativa viável na fabricação de queijos com sabores diferenciados, proteases coagulantes de origem vegetal têm sido pouco utilizadas industrialmente. Somado a isto, não há relatos na literatura científica da utilização de proteases vegetais obtidas em países tropicais na fabricação de queijos.

Estudos realizados na Embrapa Caprinos e Ovinos, utilizando extratos de sementes de girassol, mostraram que através de testes bioquímicos estes extratos hidrolisam a  $\kappa$  caseína na região Phe105-Met106, mesmo sítio de hidrólise da renina, apresentando potencial para fabricação de queijos (Egito *et al.*, 2007).

Este trabalho teve como objetivo a utilização de uma enzima vegetal a ser empregada na coagulação do leite para fabricação de queijos. Neste contexto, utilizou-se coalho vegetal (CV) obtido de sementes de girassol como agente



coagulante do leite de cabra em substituição ao coalho comercial de origem animal à base de quimosina (CA), para fabricação de queijo por coagulação enzimática. Foram avaliadas as características físico-químicas e eletroforéticas do queijo caprino fabricado com extrato de girassol em comparação com as de queijo produzido com coalho comercial

## MATERIAL E MÉTODOS

Para preparação do CV, sementes de girassol (100g) foram trituradas, diluídas em solução de NaCl a 1% (250 mL) e acondicionadas a 8°C por 24 horas e filtradas. Para verificar a atividade coagulante do CV no leite de cabra, utilizou-se o método de Berridge (1952). O CA foi adquirido da Christian Hansen e utilizado de acordo com a recomendação do fabricante. Queijos de cabra utilizando coalho tradicional de origem animal e coalho vegetal foram realizados adaptando-se a metodologia descrita por Egito *et al.*, (1999). O rendimento dos queijos no primeiro dia de fabricação foi determinado através de pesagem direta após desenformagem. Queijos fabricados com CV e CA foram analisados nos dias 1, 7, 15 e 30 após fabricação, quanto aos aspectos eletroforéticos (Egito *et al.*, 2007) e físico-químicos (Instituto Adolfo Lutz, 2005).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram necessários 30g de sementes de girassol para obter 75 ml do extrato, que foi utilizado como coagulante (CV), suficientes para coagular 1L de leite em 1h.

Na eletroforese dos queijos com CV e CA observou-se diferença entre os queijos após 1 dia de fabricação, com aparecimento de 2 peptídeos nos queijos com CV (Figura 1, asteriscos), mostrando ser o CV mais proteolítico que o CA no primeiro momento logo após a fabricação. A diminuição da  $\alpha_2$ -CN foi observada nos dois processamentos (CV e CA), principalmente após 15 e 30 dias permanecendo ainda a presença dos 2 peptídeos verificados no primeiro dia de fabricação nos queijos com CV (Figura 1).

A  $\alpha_{s1}$ -CN caseína é uma das frações mais susceptíveis à proteólise, conforme foi verificado por diversos autores em uma grande variedade de queijos, a exemplo do Cheddar (Kubis *et al.*, 2001), Taleggio (Gobbetti *et al.*, 1997a), Gorgonzola (Gobbetti *et al.*, 1997b), Reggiano Argentino (Candiotti *et al.*, 2002), Mussarela (Feeney *et al.*, 2002), Caciocavallo Pugliese (Gobbetti *et al.*, 2002) entre outros. No entanto, a degradação da  $\beta$ -caseína é bem menor (Kalit *et al.*, 2005). Portanto, os 2 peptídeos observados na Figura 1 foram originados provavelmente da  $\alpha_2$ -CN.

A presença do tradicional peptídeo para- $\kappa$ -CN (Figura 1) foi observado tanto nos queijos fabricados com CV como CA. Resultados semelhantes foram obtidos por Egito *et al.*, 2007 após hidrólise de caseína bovina com CA e CV, onde ambos os extratos hidrolisaram a  $\kappa$ -CN na região Phe105-Met106. Os resultados das análises físico-químicas, apresentados na Tabela 1 (gordura, pH, acidez °D, atividade de água) dos queijos com CV e CA mostraram que os produtos são semelhantes, sendo o rendimento de 97g/L e 95g/L, respectivamente. Os parâmetros acidez e pH foram similares aos obtidos por Cavalcante *et al.*, 2007 para queijo coalho maturado por um período de trinta dias, bem como o teor de gordura logo após a fabricação. No entanto no estudo de Cavalcante *et al.*, 2007 observou-se um aumento no teor

de gordura dos queijos ocasionado provavelmente pela redução de umidade durante a maturação, já que os queijos foram maturados sem embalagem.

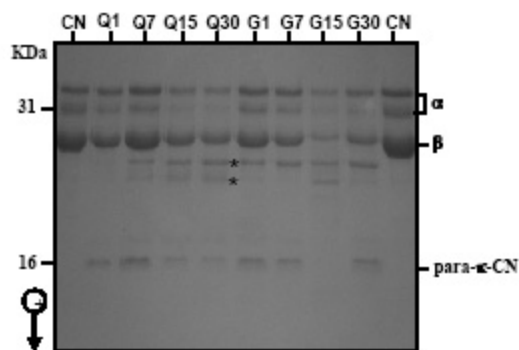


Figura 1. Caracterização eletroforética de queijos de cabra fabricados com quimosina e extratos brutos de sementes de girassol. CN=Caseína caprina, Q1 a Q30= Queijos fabricados com quimosina e analisados nos dias 1, 7, 15 e 30; G1 a G30 = Queijos fabricados com extratos brutos de sementes de girassol e analisados nos dias 1, 7, 15 e 30;  $\alpha$ -CN= Caseína alfa;  $\beta$ -CN= Caseína beta; para- $\kappa$ -CN= peptídeo originado da caseína kapa, (\*) peptídeos originados das caseínas.

Tabela 1. Dados físico-químicos de queijos de cabra fabricados com CV e CA após 1, 7, 15 e 30 dias \*

Dias de maturação	Queijos com CV				Queijos com CA			
	1	7	15	30	1	7	15	30
Gordura (%)	25,0	26,0	27,0	26,5	28,0	27,5	26,6	26,8
pH	4,6	5,0	5,1	5,2	5,1	5,0	5,1	5,2
Acidez (°D)	68	86	83	75	81	83	82	84
Atividade de água	0,983	0,980	0,984	0,984	0,995	0,984	0,983	0,988

\*Média das triplicatas

## CONCLUSÃO

A fabricação de queijos de cabra com coalho obtidos de sementes de girassol pode ser realizada, visto a semelhança entre as características físico-químicas e eletroforéticas entre os dois processamentos. Sendo uma tecnologia promissora, principalmente em escala artesanal, onde o agricultor poderia cultivar as sementes e preparar seu próprio coalho. Como perspectivas para a continuação dos estudos, estão sendo programados novos projetos visando a concentração do CV através de membranas.

## REFERÊNCIAS

- BERRIDGE, N.J. An improved method of observing the clotting of milk containing rennin. *Journal of Dairy Research*, v.19, p.328-329, 1952
- CANDIOTI, M.C.; HYNES, E.R.; PEROTTI, M.C.; ZALAZAR, C.A. Proteolytic activity of commercial rennets and pure enzymes on whey proteins. *Milchwissenschaft*, v.57, p.546-550, 2002.





CAVALCANTE, J.F.M.; ANDRADE, N.J.; FURTADO, M.M.; FERREIRA, C. L.L.F.; PINTO, C.L.O.; ELARD, E. Processamento do queijo coalho regional empregando leite pasteurizado e cultura láctica endógena. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.27, p. 205-214, 2007.

EGITO, A.S.; LAGUNA, L.E. **Fabricação de queijo coalho com leite de cabra.** Sobral: Embrapa caprinos, 1999. 15 p. (Embrapa Caprinos. Circular Técnica, 16).

EGITO, A.S.; GIRARDET, J.M.; LAGUNA, L.E.; POIRSON, C.; MOLLÉ, D.; MICLO, L.; HUMBERT, G.; L.; GAILLARD, J.L. Milk-clotting activity of enzyme extracts from sunflower and albizia seeds and specific hydrolysis of bovine k-casein. *International Dairy Journal*, v.17, p.816-825, 2007.

FEENEY, E.P.; GUINEE, T.P.; FOX, P.F. Effect of pH and calcium concentration on proteolysis in Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, v. 85, p.1646-1654, 2002.

GOBBETTI, M.; LONEY, S.; SMACCHI, E.; BATTISTOTTI, B.; DAMIANI, P.; FOX, P. F. Microbiology and biochemistry of Taleggio cheese during ripening. *International Dairy Journal*, v.7, p. 509-517, 1997a.

GOBBETTI, M.; BURZIGOTTI, R.; SMACCHI, E.; CORSETTI, A.; DE ANGELIS, M. Microbiology and biochemistry of Gorgonzola cheese during ripening. *International Dairy Journal*, v.7, p.519-529, 1997b.

GOBBETTI, M.; MOREA, M.; BARUZZI, F.; CORBO, M. R.; MATARANTE, A.; CONSIDINE, T.; DI CAGNO, R.; GUINEE, T.; FOX, P. F. Microbiological, compositional, biochemical and textural characterization of Caciocavallo Pugliese cheese during ripening. *International Dairy Journal*, v.12, p.511-523, 2002.

KALIT, S.; LUKAC HAVRANEK, J.; KAPS, M.; PERKO, B.; CUBRIC CURIK, V. Proteolysis and the optimal ripening time of Tounj cheese. *International Dairy Journal*, v.15, p.619-624, 2005.

KUBIS, I.; SOUSA, M.J.; WALSH-O'GRADY, D.; KELLY, A.L.; MCSWEENEY, P.L.H. Proteolysis in Cheddar-type cheese made from goats milk. *Milchwissenschaft*, v.56, p.557-560, 2001.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos.** 4.ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 1018p.

#### **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem ao Programa de Apoio ao Desenvolvimento de Novas Empresas de Base Tecnológica Agropecuária e à Transferência de Tecnologia (PROETA), à Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico Tecnológico (FUNCAP) e EMBRAPA, pelo apoio financeiro ao trabalho.