



XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos

Alimentação: a árvore que sustenta a vida

X CIGR Section IV International Technical Symposium

Food: the tree that sustains life

24 a 27 de outubro de 2016 • FAURGS • GRAMADO/RS

USO DE TRANSGLUTAMINASE NO PROCESSAMENTO DE QUEIJO MINAS FRESCAL COM TEOR REDUZIDO DE SÓDIO

F.M. Rodrigues¹, R. Deliza², L.M.F. Gottschalk², D.W.Hidalgo-Chávez¹, A. Rosenthal²

1- Departamento de Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rodovia Br 465, Km 07 – CEP: 23897-970 Seropédica – RJ, Brasil, e-mail: (fernandomorais@ifto.edu.br, davyhw76@gmail.com)

2- Embrapa Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas, 29501, CEP:23020-470 – Rio de Janeiro – RJ, Brasil, – e-mail: (rosires.deliza@embrapa.br, leda.fortes@embrapa.br, amaury.rosenthal@embrapa.br)

RESUMO – Este estudo avaliou 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, nas características físico-químicas e sensorial do queijo Minas Frescal. 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 (781,25 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.

ABSTRACT – This study evaluated the effect of two concentrations of microbial transglutaminase (TGM: 0.95 and 1.89 UI.g⁻¹) and three sodium chloride levels (NaCl: 100%, 70% and 40%) on the yield, physicochemical characteristics and sensory of “Minas Frescal” cheese. The addition of TGM resulted in increased yield of cheese when compared to the control, being higher when using the highest concentration of enzyme. It was observed the effect of TGM on the increase of moisture content. By increasing the concentration of TGM, an increase in protein content was also observed. On the other hand, it was observed greater calcium retention (781.25 g / 100mg) in the cheese processed with TGM compared to the control. The results showed that TGM has potential to be used in the formulation Mines Frescal cheese with low sodium content.

PALAVRAS-CHAVE: rendimento; sal; lácteo, propriedades físico-químicas, enzima.

KEYWORDS: yield; salt; lactic, physicochemical properties, enzyme.

1. INTRODUÇÃO

A redução do teor de sal nos alimentos é, atualmente, uma das metas a serem atingidas pela indústria de alimentos. 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). Em função disso, a Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda a redução como forma de promover a saúde (WHO, 2011). Vários estudos têm sido realizados com o objetivo de encontrar alternativas que possibilitem manter as mesmas funcionalidades, porém com redução do sódio, na formulação de produtos cárneos Aliño et al. (2009), queijos Gomes et al. (2011) e pães Noort et al. (2010). 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 (Han et al., 2008; Nonaka et al., 1989). Estas reações promovidas pela enzima criam profundas mudanças nas matrizes proteicas dos alimentos, resultando em benefícios tecnológicos, levando a melhorias de textura, estabilidade térmica, aumento de rendimento Özer et al. (2013), diminuição da sinérese, incremento da saudabilidade (redução de sódio e gordura) Ajinomoto (2013), propriedades emulsionantes, capacidade de gelificação, formação de espuma, viscosidade, elasticidade e capacidade de retenção de água, sem alterar o pH, cor e sabor dos alimentos (Damodaran e Agyare, 2013). 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, o rendimento e a percepção do gosto salgado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Processamento do queijo

Os queijos foram processados a partir de leite pasteurizado integral (Cooperativa Mista de Valença, Rio de Janeiro, Brazil), cloreto de cálcio solução a 40% (marca Ricanata), ácido láctico 85% de pureza (marca Ricanata), cloreto de sódio (refinado, marca ITA), 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⁻¹TGM), Q4T2 (40% NaCl / 1,89 UI.g⁻¹TGM), Q7T1 (70% NaCl / 0,95 UI.g⁻¹TGM), Q7T2 (70% NaCl / 1,89 UI.g⁻¹TGM). 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

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) e a quantificação pela técnica de espectrometria de emissão ótica em plasma indutivamente acoplado (ICP-OES).

2.3. Rendimento

O rendimento foi calculado de acordo com Andreatta et al. (2009) e seguiu a Equação (1):

$$\text{Rendimento} = \frac{\text{massa do queijo obtida (g)}}{\text{volume de leite utilizado (L)}} \quad (1)$$



2.4. Teste sensorial preliminar

O teste de comparação pareada foi aplicado para avaliar se havia diferença entre as amostras em relação ao gosto salgado em função da adição de TGM. Dez avaliadores selecionados e treinados avaliaram seis pares de amostras (com o mesmo teor de sal dentro de cada par), sendo quatro pares formados a partir da combinação das amostras com e sem TGM (Q4 vs. Q4T1, Q4 vs. Q4T2, Q7 vs. Q7T1, Q7 vs. Q7T2) e dois pares formados a partir das amostras apenas com TGM (Q4T1 vs. Q4T2, Q7T1 vs. Q7T2), onde foi solicitado que identificassem a amostra mais salgada em cada par. As amostras foram codificadas com números aleatórios, entregues simultaneamente e a ordem de apresentação foi balanceada. Os resultados foram analisados por meio da Tabela de Distribuição χ^2 para o teste bicaudal de comparação pareada considerando $p \leq 0,05$.

2.5. Análises estatísticas

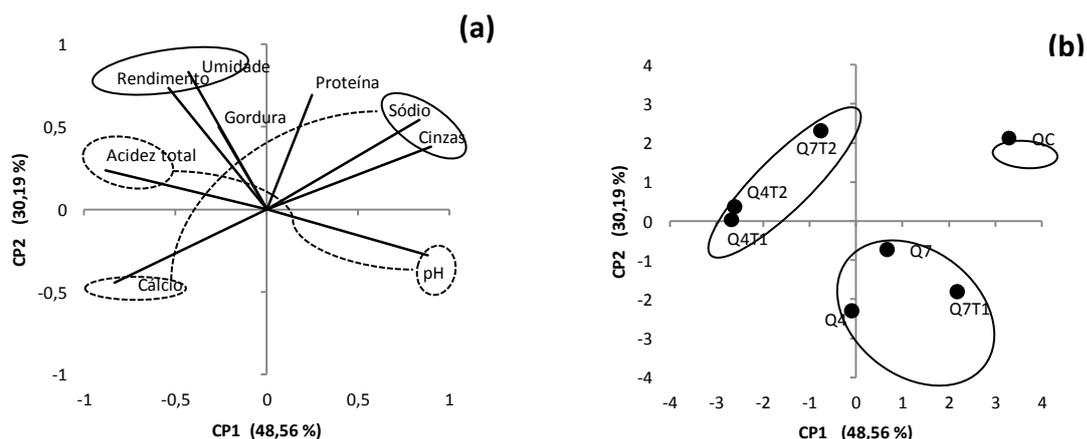
Os dados foram analisados por ANOVA considerando o teor de sal (100, 70 e 40% NaCl) e a concentração de TGM (0,95 e 1,89 UI.g⁻¹) como causas de variação e, para checar diferença entre as médias, utilizou-se o teste de Tukey, ao nível de significância de 5%. A Análise de Componentes Principais (ACP) foi usada para agrupar as variáveis físico-químicas em função da similaridade. A ACP foi realizada nos dados padronizados para evitar o efeito dos diferentes níveis de grandeza das variáveis respostas. A padronização dos dados de cada variável resposta foi feita mediante a subtração de cada valor pela sua média dividida pelo erro padrão. Todas as análises estatísticas foram feitas usando o software R 3.2.4 (2016) desenvolvido pela Core Team (2011) R, e o pacote para análise exploratória de dados multivariados, FactorMineR 1.32.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Análises Físico-Químicas e Rendimento

A Análise de componentes principais (ACP) forneceu uma interpretação simplificada (Figura 1) das informações da Tabela (1), facilitando a visualização das variáveis respostas e correlacionando-as. As componentes principais CP1 e CP2 explicaram 78,75% do total da variabilidade dos dados, sendo 48,56% explicada pelo primeiro componente e 30,19% pelo segundo componente. A soma de componentes principais I e II ($\geq 75\%$) apresentou adequadamente a variabilidade entre as amostras (Abdi e Williams, 2010).

Figura 1- Análise de componentes principais das sete amostras de queijo minas frescal: a) representação das variáveis físico-químicas e rendimento; e b) representação das amostras.





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)	73,56 ^{ab} ±0,35	71,97 ^{bc} ±0,86	71,83 ^{bc} ±0,16	72,84 ^{ab} ±0,54	74,41 ^a ±0,06	70,5 ^c ±0,38	74,76 ^a ±0,31
Cinzas (g/100g)	2,55 ^a ±0,05	1,86 ^d ±0,01	2,20 ^c ±0,03	1,84 ^d ±0,02	1,79 ^d ±0,02	2,30 ^b ±0,01	2,18 ^c ±0,01
Proteína (g/100g)	17,45 ^b ±0,07	16,98 ^b ±0,17	17,15 ^b ±1,06	19,30 ^a ±0,28	20,65 ^a ±0,21	19,25 ^a ±0,07	20,70 ^a ±0,28
Gordura (g/100g)	23,77 ^c ±0,4	23,62 ^f ±0,16	23,82 ^e ±0,70	25,76 ^a ±0,79	24,69 ^d ±0,01	25,26 ^b ±0,38	24,95 ^c ±0,64
Sódio (mg/100g)	558,08 ^a ±0,17	248,05 ^f ±0,14	366,94 ^d ±0,14	240,16 ^e ±0,08	255,91 ^e ±0,15	389,83 ^c ±0,17	396,21 ^b ±0,09
Cálcio (mg/100g)	554,446 ^e ±0,15	781,25 ^a ±0,08	654,82 ^d ±0,17	780,18 ^b ±0,04	774,62 ^c ±0,12	614,25 ^f ±0,02	627,76 ^e ±0,10
Rendimento (g/L)	276,21 ^a ±0,11	265,08 ^f ±0,25	268,88 ^e ±0,50	273,23 ^d ±0,29	293,35 ^a ±0,45	254,01 ^e ±0,78	288,95 ^b ±0,65
pH	6,62 ^a ±0,01	6,61 ^{ab} ±0,42	6,60 ^{ab} ±0,35	6,57 ^{ac} ±0,22	6,61 ^a ±0,28	6,58 ^{ac} ±0,56	6,52 ^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 e 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 e 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. Teste sensorial preliminar

A adição de TGM não influenciou ($p > 0,05$) a percepção do gosto salgado das amostras com e sem TGM, assim como a comparação entre diferentes concentrações de TGM, provavelmente devido ao baixo número de avaliadores utilizado no teste preliminar. Estudos futuros enfocando a interação TGM e o teor de sal na percepção do gosto salgado são necessários.

4. CONCLUSÕES

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.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdi, H., & Williams, L. J. (2010). Principal component analysis. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics*, 2(4), 433-459.
- Aliño, M., Grau, R., Toldrá, F., Blesa, E., Pagán, M. J., & Barat, J. M. (2009). Influence of sodium replacement on physicochemical properties of dry-cured loin. *Meat Science*, 83(3), 423-430.
- Andreatta, E., Fernandes, A. M., dos Santos, M. V., Mussarelli, C., Marques, M. C., Gigante, M. L., et al. (2009). Quality of minas frescal cheese prepared from milk with different somatic cell counts. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44(3), 320-326.
- AOAC.(2010). Official methods of analysis of AOAC International. Gaithersburg, Md.: AOAC International.
- Ayyash, M. M., Sherkat, F., & Shah, N. P. (2012). 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.



XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos

Alimentação: a árvore que sustenta a vida

X CIGR Section IV International Technical Symposium

Food: the tree that sustains life

24 a 27 de outubro de 2016 • FAURGS • GRAMADO/RS

- Brasil.(1997). Ministério da Agricultura e do Abastecimento Regulamento técnico para Fixação de Identidade e qualidade do queijo Minas Frescal. (Portaria nº 352 , de 4 de setembro de 1997). Diário Oficial da República Federativa do Brasil.
- Brasil.(2006). 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.
- Cozzolino, A., Di Pierro, P., Mariniello, L., Sorrentino, A., Masi, P., & Porta, R. (2003). Incorporation of whey proteins into cheese curd by using transglutaminase. *Biotechnology and applied biochemistry*, 38(3), 289-295.
- Da Rosa, V. P. (2004). *Efeitos da atmosfera modificada e da irradiação sobre as características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais do queijo Minas frescal*. Universidade de São Paulo.
- Damodaran, S., & Agyare, K. K. (2013). Effect of microbial transglutaminase treatment on thermal stability and pH-solubility of heat-shocked whey protein isolate. *Food Hydrocolloids*, 30(1), 12-18.
- Faria, S. (2010). Estudo dos efeitos da aplicação de transglutaminase em bebida láctea fermentada com alto conteúdo de soro. *Master, Escola de Engenharia Mauá de Tecnologia*.
- Felicio, T. L., Esmerino, E. A., Vidal, V. A. S., Cappato, L. P., Garcia, R. K. A., Cavalcanti, R. N., et al. (2016). Physico-chemical changes during storage and sensory acceptance of low sodium probiotic Minas cheese added with arginine. *Food Chemistry*, 196, 628-637.
- Furtado, M. M., & Lourenço Neto, J. d. M. (1994). Tecnologia de queijos: manual técnico para a produção industrial de queijos. *São Paulo: Dipemar*, 76-77.
- Gomes, A. P., Cruz, A. G., Cadena, R. S., Celeghini, R. M. S., Faria, J. A. F., Bolini, H. M. A., et al. (2011). Manufacture of low-sodium Minas fresh cheese: Effect of the partial replacement of sodium chloride with potassium chloride. *Journal of Dairy Science*, 94(6), 2701-2706.
- Guinee, T. (2004). Salting and the role of salt in cheese. *Internat. J. of Dairy Tech.*, 57(2 - 3), 99-109.
- Han, M., Zhang, Y., Fei, Y., Xu, X., & Zhou, G. (2008). Effect of microbial transglutaminase on NMR relaxometry and microstructure of pork myofibrillar protein gel. [journal article]. *European Food Research and Technology*, 228(4), 665-670.
- Nonaka, M., Tanaka, H., Okiyama, A., Motoki, M., Ando, H., Umeda, K., et al. (1989). Polymerization of Several Proteins by Ca²⁺-Independent Transglutaminase Derived from Microorganisms. *Agricultural and Biological Chemistry*, 53(10), 2619-2623.
- Noort, M. W. J., Bult, J. H. F., Stieger, M., & Hamer, R. J. (2010). Saltiness enhancement in bread by inhomogeneous spatial distribution of sodium chloride. *Journal of Cereal Science*, 52(3), 378-386.
- Özer, B., Hayaloglu, A. A., Yaman, H., Gürsoy, A., & Şener, L. (2013). Simultaneous use of transglutaminase and rennet in white-brined cheese production. *International Dairy Journal*, 33(2), 129-134.
- Piccolo, K. (2006). Avaliação do efeito da enzima transglutaminase no processo de produção de requeijão cremoso. *Avaliação do efeito da enzima transglutaminase no processo de produção de requeijão cremoso*.
- Ribeiro, E. P., Simões, L. G., & Jurkiewicz, C. H. (2009). Desenvolvimento de queijo minas frescal adicionado de *Lactobacillus acidophilus* produzido a partir de retentados de ultrafiltração. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29(1), 19-23.
- Sant'Ana, A., Bezerril, F., Madruga, M., Batista, A., Magnani, M., Souza, E., et al. (2013). 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.
- Wyness, L. A., Buttriss, J. L., & Stanner, S. A. (2012). Reducing the population's sodium intake: the UK Food Standards Agency's salt reduction programme. *Public Health Nutrition*, 15(02), 254-261.