



Universidade Norte do Paraná

UNOPAR

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO LEITE

JAQUELINE CAMISA

**INFLUÊNCIA DO USO DE UM SUBSTITUTO DE RENINA
NO RENDIMENTO, PROTEÓLISE E CARACTERÍSTICAS
SENSORIAIS DO QUEIJO MINAS PADRÃO.**

Londrina
2011

JAQUELINE CAMISA

**INFLUÊNCIA DO USO DE UM SUBSTITUTO DE RENINA NO
RENDIMENTO, PROTEÓLISE E CARACTERÍSTICAS
SENSORIAIS DO QUEIJO MINAS PADRÃO.**

Dissertação apresentada à Universidade Norte do
Paraná - UNOPAR, como requisito para a obtenção do
título de Mestre em Ciência e Tecnologia do Leite.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª Christiane Maciel Vasconcellos
Barros De Rensis

Londrina
2011

JAQUELINE CAMISA

**INFLUÊNCIA DO USO DE UM SUBSTITUTO DE RENINA NO
RENDIMENTO, PROTEÓLISE E CARACTERÍSTICAS
SENSORIAIS DO QUEIJO MINAS PADRÃO.**

Profa. Dra. Christiane Maciel Vasconcellos Barros De Rensis
Universidade Norte do Paraná – Orientadora

Profa. Dra. Priscila Cristina Bizam Vianna
Universidade Norte do Paraná - Membro

Profa. Dra. Ana Paula Bilck
Universidade Estadual de Londrina - Membro

Londrina
2011

“Quando amamos e acreditamos do fundo de nossa alma em algo, nos sentimos mais fortes que o mundo e somos tomados de uma serenidade que vem da certeza de que nada poderá vencer a nossa fé. Esta força estranha faz com que sempre tomemos a decisão certa, na hora exata e quando atingimos nossos objetivos ficamos surpresos com nossa própria capacidade.”

Paulo Coelho

CAMISA, Jaqueline. **Influência do uso de um substituto de renina no rendimento, proteólise e características sensoriais do queijo Minas Padrão.** 2011. 37 p. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Ciência e Tecnologia do Leite) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Norte do Paraná, Londrina, 2011.

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência do uso de um substituto de renina no rendimento, proteólise e características sensoriais do queijo Minas padrão. Os queijos foram fabricados segundo metodologia tradicional e dois tratamentos foram testados em triplicata. Durante a etapa de coagulação dos queijos em um tratamento utilizou-se coalho bovino (Renina - BOV) e no outro quimosina pura, (QPF). Foram determinadas as composições do leite, soro e queijos, além de recuperações de gordura e proteína e o rendimento de fabricação. O pH, a acidez titulável e os índices de extensão e profundidade de proteólise foram analisados nos dias 5, 15, 25 e 35, e a avaliação sensorial foi realizada após 35 dias de armazenamento refrigerado a 12 °C. O teste de F-ANOVA foi usado para avaliar as diferenças entre os tipos de coagulante, entre tempos e a interação tempo versus tipo de coagulante. O uso do substituto de renina não alterou a composição físico química dos queijos ($p > 0,05$). Não houve alteração da acidez e do pH dos queijos ($p > 0,05$) ao longo do período de armazenamento refrigerado. Tanto os queijos QPF quanto os BOV apresentaram um aumento significativo ($p < 0,05$) para os índices de extensão de maturação (IEM) e de profundidade de maturação (IPM) o longo do período de armazenamento refrigerado a 12 °C. Não foram verificadas diferenças significativas ($p > 0,05$) na recuperação de gordura e de proteína, no rendimento real e no rendimento ajustado (kg/100 Kg), quando se comparou os queijos Minas padrão processados com renina como os queijos com quimosina pura. Os queijos QPF e BOV apresentaram uma boa aceitação sensorial e intenção de compra.

Palavras-chave: Aceitação. Proteólise. Queijo. Quimosina. Recuperação de gordura e proteína. Renina.

CAMISA, Jaqueline **Influence of rennet substitute on yield, proteolysis and sensory characteristics of *Minas Padrão* cheese**. 2011. 37 p. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Ciência e Tecnologia do Leite) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Norte do Paraná, Londrina, 2011.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the Influence of rennet substitute on yield, proteolysis and sensory characteristics of *Minas Padrão* cheese. The cheeses were manufactured according to traditional methods and treatments were tested in triplicate. During the coagulation step of the cheeses in a treatment was used rennet (Rennin - BOV) and the other chymosin (FPC). The composition of milk, whey and cheese, and recoveries of fat and protein and yield were determined. The pH, acidity and the extension index (IE) and proteolysis depth index (IP) were analyzed on days 5, 15, 25 and 35, and sensory evaluation was performed after 35 days of storage at 12 °C. The use of a rennet substitute did not affect the physical chemical composition of cheeses. There was no change acidity and pH of cheeses during the period of storage. Both cheeses FPC as the BOV showed a significant increase ($p < 0.05$) on IEP and IPP during the storage at 12 ° C. There were no significant differences in fat recovery and protein. There were no significant differences ($p > 0.05$) on real yield and adjusted yield (kg/100 kg), when comparing the Minas Padrão cheese with rennin and chymosin. The cheeses BOV and FPC showed good sensory acceptance and buying intention.

Key-words: Acceptance. Proteolysis. Cheese. Chymosin. Recovery of fat and protein. Renin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma de fabricação do queijo Minas Padrão.....	16
Figura 2 – Evolução da acidez titulável (A) e do pH (B) dos queijos Minas Padrão com queijos produzidos com coalho bovino e com coagulante produzido por fermentação durante os 35 dias de armazenamento refrigerado a 12 °C.....	24
Figura 3 - Evolução do índice de extensão dos queijos Minas produzidos com coalho bovino e com coagulante produzido por fermentação durante os 35 dias de armazenamento refrigerado a 12 °C.....	25
Figura 4 - Evolução do índice de profundidade dos queijos Minas Padrão produzidos com coalho bovino e com coagulante produzido por fermentação durante os 35 dias de armazenamento refrigerado a 12 °C.....	26
Figura 5 – Histograma de frequências da avaliação sensorial dos queijos BOV e QPF em relação à Intenção de Compra.....	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição físico química do leite utilizado (n = 3) para fabricação dos queijos.....	22
Tabela 2 – Média (n=3) da composição dos queijos produzidos com coalho bovino e com coagulante produzido por fermentação (5 ^o Dia).....	23
Tabela 3 – Média (n=3) da composição do soro dos queijos produzidos com coalho bovino e com coagulante produzido por fermentação.....	24
Tabela 4 - Recuperação média (n=3) de gordura e proteína nos soros e nos queijos produzidos com coalho bovino e com coagulante produzido por fermentação.....	26
Tabela 5 - Rendimento médio (n=3) dos queijos produzidos com coalho bovino e com coagulante produzido por fermentação.....	27
Tabela 6 – Notas médias da análise sensorial dos queijos produzidos com coalho bovino e com coagulante produzido por fermentação.....	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIQ	Associação Brasileira das Indústrias de Queijo
BOV	Queijo fabricado com renina (20% quimosina e 80% pepsina)
ESD	Extrato Seco Desengordurado
EST	Extrato Seco Total
FPC	<i>Fermented Produced Chymosin</i>
GMP	Glicomacropéptido
IEM	Índice de extensão de maturação
IPM	Índice de profundidade de maturação
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Met	Metionina
NaCl	Cloreto de sódio
NNP	Nitrogênio não protéico
NS	Nitrogênio solúvel
NT	Nitrogênio total
pH	Potencial hidrogeniônico
Phe	Fenilalanina
QPF	Queijo fabricado com quimosina produzida por fermentação
TCA	Ácido Tricloroacético
UNOPAR	Universidade Norte do Paraná
USDA	United States Department of Agriculture

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	4
2	REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1	QUEIJO MINAS PADRÃO	5
2.2	COAGULAÇÃO DO LEITE	6
2.3	COALHOS E COAGULANTES	7
2.3.1	Tipos de Coalhos e Coagulantes	7
2.3.1.1	Coalho bovino	7
2.3.1.2	Coagulantes microbianos	8
2.3.1.3	Coagulantes vegetais	8
2.3.1.4	Quimosina produzida por fermentação (QPF)	9
2.4	MATURAÇÃO	10
2.5	RENDIMENTO DE FABRICAÇÃO	12
3	MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1	Fabricação do queijo Minas Padrão	15
3.2	CALCULO DA FORÇA DO COALHO OU COAGULANTE	17
3.3	AMOSTRAGEM DO QUEIJO	17
3.4	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE PASTEURIZADO E DO SORO. ...	17
3.5	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO QUEIJO	18
3.6	Cálculos de recuperação de gordura e proteína	18
3.7	Cálculos de rendimento	19
3.8	Acompanhamento da proteólise durante a maturação	19
3.9	Avaliação Sensorial	20
3.10	Planejamento experimental e análise estatística dos resultados	20
4	RESULTADOS E DISCUSÃO	22
4.1	COMPOSIÇÃO FÍSICO QUÍMICA	22
4.1.1	Leite	22
4.1.2	Queijos	22
4.1.3	Soro	23
4.2	ALTERAÇÕES OCORRIDAS DURANTE O ARMAZENAMENTO REFRIGERADO	24
4.2.1	Acidez Titulável e pH	24
4.2.2	Índice de Extensão de maturação (IEM)	25

4.2.3	Índice de Profundidade de maturação (IPM).....	25
4.3	RECUPERAÇÃO DE GORDURA E PROTEÍNA	26
4.4	RENDIMENTO DO QUEIJO	27
4.5	ANÁLISE SENSORIAL	28
5	Conclusão	30
6	REFERÊNCIAS.....	31

1 INTRODUÇÃO

A produção mundial de queijos em 2008 foi de 19,1 milhões de toneladas, um aumento de 27.661 toneladas (0,1%) quando comparado a 2007. Em 2009 a produção de queijos no Brasil ficou em torno de 700 mil toneladas e houve um crescimento de 5% na comparação com o resultado de 2008. Com esse resultado, o Brasil é considerado o terceiro produtor mundial, atrás da União Européia (considerando os 27 países) e dos Estados Unidos. Esse aumento juntamente com a maior produção de leite por vaca, através do prolongamento do período de lactação, o que tem causado relativo declínio no número de bezerros, tem tornado escasso a disponibilidade de coalho bovino no mundo. Devido a essa escassez as indústrias estão procurando alternativas para a produção de coalhos como, por exemplo, os de origem microbiana e vegetal.

No processo tradicional de fabricação do queijo Minas padrão é utilizado um coalho (renina) composto de 80% de pepsina e 20% de quimosina que é obtido a partir do abomaso de bovinos adultos. A pepsina bovina é uma enzima mais proteolítica e menos específica que a quimosina, e em condições favoráveis pode hidrolisar excessivamente as caseínas (representam 80% das proteínas do leite), podendo causar diminuição no rendimento e sabor amargo nos queijos.

Técnicas de manipulação genética de micro-organismos permitiram a produção de um coagulante, substituto da renina, contendo 100% de quimosina, o qual leva a um melhor rendimento de fabricação e a um menor sabor amargo nos queijos.

Na literatura são encontrados poucos trabalhos relacionados à influência do uso da quimosina pura como coagulante nas características do queijo Minas Padrão. Diante disso, torna-se necessário um estudo maior da fabricação desse queijo com o uso deste coagulante. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a influência do uso de um coagulante como substituto de renina na composição química, rendimento, maturação e características sensoriais do queijo Minas Padrão.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 QUEIJO MINAS PADRÃO

Há muito tempo, o homem utiliza o queijo como uma forma de conservação do leite e como um excelente alimento, fonte de proteínas de alto valor biológico, vitamina A e B2, cálcio e de outros nutrientes (CASTILHO, 2008).

Segundo a Portaria nº 146 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), entende-se por queijo “o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactéria específica, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes” (BRASIL, 1996).

O queijo Minas Padrão, também chamado de Minas Curado é um dos queijos mais antigos e populares do Brasil. Originou-se no Estado de Minas Gerais e na década de 1930 obteve sua definição tecnológica, desde então têm crescido o volume de queijo Minas fabricado em indústrias (OLIVEIRA, 1998). É um queijo maturado, de massa crua, consumido no café da manhã ou com diferentes sobremesas, como o doce de leite (FURTADO, 2005). Possui ampla distribuição no Brasil e junto com os queijos Mussarela, Minas Frescal, Prato e Parmesão é um dos mais consumidos no país (ABIQ, 2008).

Esse queijo é fabricado a partir de leite pasteurizado com adição de fermento mesófilo, constituído de *Lactococcus lactis subsp lactis* e *Lactococcus lactis subsp cremoris*. Trata-se de um queijo prensado e maturado por no mínimo 20 dias e sua vida útil é de dois a três meses, podendo apresentar sabor amargo. A forma mais comum é a cilíndrica achatada com diâmetros de 12 a 14 cm e peso variado (entre 0,5 e 1,2 kg). O rendimento esperado para o queijo Minas Padrão é de 7,5 a 8,5 litros de leite/kg de queijo de acordo com a composição do leite e o teor de umidade do queijo (FURTADO, 2005).

A composição do queijo depende da composição do leite e de inúmeras

variáveis. A composição, o tamanho e o formato de um queijo determinam tipo e qualidade. Para diversas variedades de queijo há normas legais para conteúdo máximo de água e gordura no extrato seco. O teor de gordura geralmente é calculado sobre extrato seco, pois o teor de água pode variar durante o armazenamento (WALSTRA et al., 2006).

Muitos países, inclusive o Brasil não dispõem de legislação determinando a composição química de cada queijo, estabelecendo teores mínimos de gordura e máximos de umidade, como é o caso do queijo Minas Padrão (FURTADO, 1991).

A composição média esperada para o queijo Minas Padrão ainda fresco é de 46-49% de umidade, 51-54% de sólidos totais, 23-25% de gordura, 43-49% de gordura no extrato seco, 1,4-1,6% de sal e pH entre 5,0-5,1 (FURTADO, 2005).

2.2 COAGULAÇÃO DO LEITE

As proteínas do leite são classificadas em caseínas e proteínas do soro (ROBINSON; WILBEY, 1998). Cerca de 80% das proteínas do leite são caseínas que constituem uma mistura de α_{S1} , α_{S2} , β e κ - caseína, o restante das proteínas são proteínas do soro, sendo a principal a β -lactoglobulina (WALSTRA et al., 2006).

Existem três tipos de coagulação: enzimática, ácida e mista. Cada tipo leva à formação de um gel com características físico-químicas e nutricionais distintas, além dos aspectos sensoriais (CASTILHO, 2008).

No caso do queijo Minas Padrão é utilizada a coagulação enzimática. Esse processo de coagulação ocorre em dois estágios distintos, onde primeiramente ocorre hidrólise enzimática, por coalhos ou coagulantes, das moléculas de κ -caseína situadas na periferia das micelas de caseína. Esta quebra ocorre preferencialmente no sítio Phe₁₀₅-Met₁₀₆ da κ -caseína, a qual é altamente susceptível à hidrólise por proteinases ácidas, resultando no surgimento da para- κ -caseína e do glicomacropéptido (GMP). Na forma intacta, as micelas de caseínas que se apresentam na forma coloidal, são mantidas separadas no leite pelas forças de repulsão eletrostática, já que as micelas são carregadas negativamente, e pelo impedimento estérico do macropéptido da κ -caseína. Quando esta estabilidade é rompida pela remoção do macropéptido por ação enzimática, as micelas de caseína tornam-se instáveis e, em temperaturas ao redor de 30°C a para- κ -caseína

começam a se agrupar sob a influência dos íons Ca^{2+} do meio, formando paracaseinato de cálcio que é o coágulo (FOX et al, 2000)

2.3 COALHOS E COAGULANTES

Define-se coalho como o extrato de abomaso (quarto estômago) de animais ruminantes, rico em proteinases ácidas, com atividade coagulante sobre o leite. Proteinases de outras origens, que possuem capacidade de coagular o leite sob condições adequadas são denominadas coagulantes (FOLEGATTI, 1994).

Basicamente, todos os tipos de coalho e coagulantes disponíveis se caracterizam pela presença de uma ou mais proteases que atuam sobre a k-caseína, promovendo a coagulação do leite. Algumas destas proteases são mais proteolíticas, ou seja, menos específicas em sua ação sobre a fração protéica. Aquelas mais proteolíticas, assim como as proteases ácidas, além de romperem a ligação específica Phe₁₀₅–Met₁₀₆ da k-caseína, continuam a degradar rapidamente o restante da cadeia de aminoácidos durante a etapa de coagulação do leite, provocando maior perda de proteína e gordura durante o corte da coalhada (HUI et al, 2004).

A escolha do agente coagulante na produção de queijos é relevante porque ao lado de enzimas produzidas por bactérias, lácticas ou não, as enzimas do agente coagulante influenciam na degradação protéica, já que algumas são mais proteolíticas que outras. A principal função do coalho na fabricação de queijos é a coagulação do leite, porém enzimas presentes no coalho também exercem um importante papel na maturação e podem levar ao desenvolvimento de sabor amargo durante o armazenamento do queijo (VIEIRA, 2010).

2.3.1 Tipos de Coalhos e Coagulantes

2.3.1.1 Coalho bovino

A maioria dos queijos produzidos em todo o mundo são fabricados com coalho obtido do abomaso de bovinos lactentes ou adultos. Esse coalho é

constituído principalmente por duas enzimas proteolíticas, a quimosina e a pepsina. A proporção relativa das duas enzimas varia com a idade do animal. O principal componente do coalho de vitelo é a quimosina (88 a 94%), já em animais adultos o coalho pode ser constituído de 90 a 94% de pepsina e apenas 6 a 10% de quimosina (ROGELJ et al., 2001).

A pepsina bovina é bastante proteolítica, e menos específica que a quimosina, podendo hidrolisar excessivamente as caseínas e assim, contribuir com a diminuição do rendimento e desenvolvimento de sabor amargo ao produto, além de causar redução na vida-útil do queijo (FOX; LAW, 1991).

2.3.1.2 Coagulantes microbianos

Com a escassez de coagulantes de origem animal, e o crescimento da produção leiteira, houve um aumento na procura de substitutos de renina, como as enzimas microbianas de espécies fúngicas a partir de *Rhizomucor pusillus*, *Rhizomucor miehei* e *Cryphonectria parasítica* (AUGUSTO, 2003). Os coagulantes microbianos têm sido adotados por muitas indústrias brasileiras na fabricação de queijo Minas Frescal (DORNELLAS, 1997).

Todos os coagulantes microbianos utilizados na fabricação de queijos são de origem “fúngica”. A maioria das proteases que compõem este grupo se mostram inadequadas para a fabricação de alguns tipos de queijos por possuírem alta atividade proteolítica e pouca especificidade, provavelmente por serem proteases aspárticas (ANTUNES et al., 2004).

2.3.1.3 Coagulantes vegetais

Um grande número de enzimas de origem vegetal já foi testado como coagulantes do leite. O extrato de *Cyanara cardunculus*, mais conhecido como “cardo”, é muito utilizado para fabricação de queijos artesanais em Portugal. O extrato de “cardo” é pouco conhecido e não disponível comercialmente no Brasil (ANTUNES et al., 2004).

Estes coagulantes são enzimas extraídas de vegetais, possuem alta atividade proteolítica degradando α -lactoalbumina e soroalbumina, causando hidrólise tão rapidamente que produz redução no rendimento e defeitos de sabor

(DORNELLAS, 1997).

2.3.1.4 Quimosina produzida por fermentação (QPF)

Para satisfazer a demanda por substitutos adequados para o coalho de renina, foi produzido um agente coagulante composto de 100% de quimosina utilizando-se das modernas técnicas de engenharia genética. Sua obtenção se dá pela fermentação de microrganismos transgênicos. Este processo, conhecido como FPC (*Fermentation Produced Chymosin*) foi desenvolvido pela empresa Chr. Hansen a partir de *Aspergillus niger var. awamori*, sendo chamado de *CHY-MAX*. Inicialmente foi denominado de coagulante genético e após passou a ser considerado como um coagulante microbiano (BARBANO, 1992).

O *CHY-MAX* é constituído somente por quimosina, tendo assim alta especificidade e excelente desempenho, especialmente com relação ao rendimento na fabricação de queijos (DORNELLAS, 1997).

A QPF é composta exclusivamente por quimosina tipo B, sendo que o coalho de vitelo é composto das quimosinas A, B e C e estruturas protéicas sem atividade enzimática, com proporção de aproximadamente 30:55:15, respectivamente. A quimosina C é um produto de degradação da quimosina A, e esta é ligeiramente, mas não significativamente, mais específica que a quimosina B. A quimosina B é mais estável (DORNELLAS, 1997) e sua utilização vem crescendo nos Estados Unidos e em alguns países europeus que permitem seu uso (GUINEE; WILKINSON, 1992).

As primeiras versões do *CHY-MAX*, foram produzidas através da *Escherichia coli k12*. O gene da pro-quimosina B era isolado do m-RNA de estômago de vitelo e transcrito no c-DNA da pro-quimosina. Este era inserido no vetor de expressão após a região que codificava a glico-amilase. Há incorporação do vetor de expressão da *E.coli k12* e esta passava a integrar seu genoma e secretar as proteínas glico-amilase e pro-quimosina (CRABBE, 2004).

A introdução da quimosina FPC no Brasil ocorreu no ano de 1999 e quando comparada aos outros coagulantes oferece importantes benefícios. Testes de fabricação realizados em escala industrial evidenciaram um ganho de rendimento da ordem de 1,5 a 2,5%, quando comparado com os demais coalhos e coagulantes

disponíveis no mercado brasileiro (ANTUNES et al., 2004). Além disso, possui uma maior resistência a alterações de pH e temperatura, proporcionando regularidade na produção, além de produzir soro mais puro para ser processado em concentrados ou isolados protéicos. Diferente da renina, a quimosina pura não confere sabor amargo e oferece maior vida útil a determinados tipos de queijos, devido à baixa atividade proteolítica (NEVES-SOUZA; SILVA, 2005).

2.4 MATURAÇÃO

Tradicionalmente o queijo Minas Padrão deve ser curado por no mínimo 20 dias para atingir suas melhores características sensoriais (FURTADO, 2005; MINUSSI; FURTADO; MOSQUIM, 1995). A maturação desse queijo envolve uma série de processos microbiológicos, bioquímicos e físico-químicos. Como resultado deste processo, os principais componentes do queijo (proteínas, lipídeos e lactose) sofrem transformações de diferentes intensidades, modificando a textura e o sabor durante o processo de maturação (FOX, 1998; FOX; Mc SWEENEY, 1996; FOX; LAW, 1991).

Dependendo da variedade do queijo maturado, os principais compostos que resultam dessas reações são os peptídeos, aminoácidos, aminas, ácidos, tióis, tioésteres de proteínas; ácidos graxos, metilcetonas, lactonas e ésteres de lipídios; ácidos orgânicos como, o láctico, acético e propiônico; dióxido de carbono, ésteres e álcoois da lactose. Estes compostos, em combinação e concentrações adequadas são responsáveis pelo sabor característico dos queijos (LAW, 1997).

A proteólise é, provavelmente, o mais importante evento bioquímico que ocorre durante a maturação das diversas variedades de queijos, com um impacto importante no sabor e textura. A degradação das proteínas nos queijos (proteólise) resulta da atividade de várias enzimas, sendo que os principais contribuintes são o coalho/coagulante, proteases e peptidases do fermento láctico e/ ou flora natural do leite e enzimas naturais do leite (WALSTRA, 2006).

A quimosina está envolvida na maturação e tem sido associada ao amolecimento da textura dos queijos pela hidrólise da α_{s1} -caseína em α_{s1-I} -caseína (HUI et al, 2004). A atividade da quimosina durante a maturação é influenciada pela quantidade de coagulante retido na massa, a qual depende de etapas do

processamento como o cozimento e a acidificação. Cerca de 90% da quimosina adicionada é perdida no soro e a quantidade retida na massa aumenta com a diminuição do pH antes da dessoragem (SHEEHAN et al., 2007).

Diversos métodos já foram propostos para acompanhar a proteólise de queijos durante a maturação. A identificação e medidas da degradação protéica são usadas como índices de maturação de queijos em razão do grau do processo proteolítico estar relacionado ao desenvolvimento da textura e sabor característicos na maioria dos queijos (LAW; WIGMORE, 1982). Os métodos de separação de proteínas intactas dos peptídeos e aminoácidos (produtos de degradação) são: precipitação fracionada (com ácidos e solventes), eletroforese e cromatografia (CREAMER, 1991). As medidas de triptofano, tirosina e aminoácidos livres também são empregadas (LAW; WIGMORE, 1982).

A intensidade da proteólise dos queijos pode ser medida através dos índices de extensão e de profundidade de maturação. O índice de extensão da proteólise (IEP) se caracteriza pela quantidade de substâncias nitrogenadas solúveis em pH 4,6 acumuladas durante o processo e expressas como porcentagem do nitrogênio total (NT). O coalho é responsável pela produção de grande parte do nitrogênio solúvel em pH 4,6 e somente por uma pequena parcela do nitrogênio solúvel em TCA 12%. Portanto, a extensão da proteólise deve-se principalmente, à ação do coalho sobre as caseínas do leite (VICENTE et al, 2001)

O índice de profundidade da proteólise (IPP) pode ser quantificada através do teor de nitrogênio não protéico (NNP), solúvel em ácido tricloroacético, ou pela determinação direta dos aminoácidos produzidos e expressos como percentual do nitrogênio total (NT). O NNP refere-se aquelas substâncias nitrogenadas de baixo peso molecular que não precipitam na presença de ácido tricloroacético a 12% e que, conseqüentemente, são quantificadas nos respectivos filtrados (WOLFSCHOON-POMBO; LIMA, 1989). As proteinases e peptidases do fermento láctico atuam sobre os peptídeos liberados, principalmente pelo coalho, produzindo aminoácidos e compostos de baixo peso molecular. Logo, o índice de profundidade de proteólise relaciona-se à atividade proteolítica do fermento durante a estocagem refrigerada do queijo (WALSTRA, 2006).

2.5 RENDIMENTO DE FABRICAÇÃO

Cerca de 35% ou mais do leite produzido no mundo é utilizado para a fabricação de queijos, sendo assim o aumento do rendimento durante a fabricação torna-se um fator determinante para o sucesso econômico da indústria láctea (McSWEENEY, 2007).

A composição de um queijo determina de um modo geral o rendimento, ou seja, a quantidade de queijo produzido a partir de uma quantidade de leite com valores de proteína e gordura conhecidos. Vários fatores como composição do leite, espécie, raça e contagem de células somáticas podem influenciar o rendimento dos queijos (WALSTRA et al ., 2006).

De acordo com Siqueira et al (1986) o fator mais importante que afeta o rendimento é a composição do leite, sendo que os valores de gordura e de caseína exercem influencia superior no processo de fabricação do queijo em relação aos outros componentes do leite. Esses mesmos autores estudaram a influência da variação no teor de gordura do leite no rendimento do queijo Minas Padrão e concluíram que o rendimento aumenta no mesmo sentido do aumento do teor de gordura do leite.

As espécies de animais têm grande influência nas concentrações de gordura e caseína. O rendimento de queijo de leite de vaca é inferior ao de ovelha e de búfala e semelhante ao do leite de cabra. A raça da vaca tem uma nítida influencia na composição do leite e no rendimento do queijo. Raças com elevados teores de proteína e gordura no leite tendem a ter níveis mais elevados de rendimento de queijo. O leite de animais saudáveis apresenta baixo número de células somáticas. Alguns fatores como mastite subclínica, estágio de lactação, número de lactações, estresse e má nutrição contribuem para o aumento de células somáticas no leite diminuindo os níveis de caseína e gordura, e conseqüentemente diminuindo o rendimento (WALSTRA et al., 2006; FOX et al., 2000;).

Mudanças sazonais na composição do leite são mais nítidas nos extremos da lactação e resultam em variações no processo de coagulação, recuperação de gordura e caseína, rendimento e qualidade do queijo. Manipulação, armazenamento do leite antes da fabricação de queijo, seleção dos ingredientes, técnicas de manipulação do coágulo durante a fabricação do queijo são fatores que

afetam o rendimento. Resfriamento e agitação provocam alterações físico-químicas no leite que levam a diminuição do rendimento do queijo. A refrigeração do leite por tempo prolongado antes da fabricação do queijo afeta a capacidade de coagulação do coalho, reduz a recuperação de gordura e proteína e o rendimento de queijo (McSWEENEY, 2007).

O rendimento de queijo pode ser expresso como a quantidade de queijo produzida com um determinado teor de matéria seca a partir de uma determinada quantidade de leite com teores de gordura e proteína definidos. O rendimento de queijo aumenta linearmente com o aumento das concentrações de gordura e caseína. O cálculo de previsão de rendimento permite calcular a rentabilidade do produto com antecedência (FOX et al., 2000).

O rendimento real não leva em consideração o teor de sal e umidade do queijo. Para o cálculo de rendimento ajustado utiliza-se valores de umidade e teor de sal desejado. Ajustar o teor de umidade para um valor desejado elimina efeitos de variações no rendimento e permite comparações de rendimento com base na eficiência de recuperação de gordura e proteínas (LAU; BARBANO; RASMUSSEN, 1990).

A recuperação de gordura e proteína pode ser determinada quando suas concentrações são conhecidas tanto na entrada do processo quanto na saída, sendo possível a modificação do teor de gordura do leite através da padronização (McSWEENEY, 2007). As recuperações de gordura e proteína são importantes para a fabricação de queijo, pois além de afetar o rendimento, afetam características funcionais, reológicas e sensoriais (FERREIRA, 2004).

As condições de processamento afetam o rendimento e a perda dos componentes do queijo. Os fatores envolvidos têm um efeito pequeno no rendimento quando individualmente, porém, em grande escala, o efeito custo/benefício torna-se bastante significativo, dentre esses fatores pode ser citado o tipo de coagulante (AUGUSTO, 2003).

A quimosina é a enzima que alia a melhor ação coagulante com a mais alta especificidade, permitindo o melhor aproveitamento dos componentes do leite na coalhada e, portanto, melhor rendimento. A concentração do coagulante utilizado na fabricação do queijo pode afetar a estrutura do coágulo e influenciar na recuperação de gordura e proteína, resultando em variações no rendimento. A

quimosina está presente no estômago de vitelo ou pode ser obtida por fermentação (OLIVEIRA, 2001).

Dornellas (1997) avaliou o efeito do coagulante no rendimento do queijo minas frescal. Queijos fabricados com quimosina obtida por fermentação apresentaram rendimento superior em quilos de leite por quilos de queijo do que para o coalho bovino e microbiano.

Barbano e Rasmussen (1992) avaliaram a influência do tipo de coagulante no rendimento do queijo Mussarela. Os queijos fabricados com quimosina obtida por fermentação apresentaram maior rendimento que os queijos obtidos com coalhos de origem microbiana (*Mucor miehei* e *Mucor pusillus*).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 FABRICAÇÃO DO QUEIJO MINAS PADRÃO

Os queijos foram fabricados na planta piloto do Departamento de Engenharia de Alimentos da UNOPAR. O procedimento de fabricação foi realizado segundo Furtado e Lourenço Neto (1994).

Leite cru integral (40 L) proveniente da Fazenda Experimental (Tamarana/PR, Brasil) foi pasteurizado (65 °C/ 30 min) em tanque de parede dupla (TMS 100, Incomar, Chavantes/SP, Brasil), em seguida padronizado com leite desnatado pasteurizado (20 L) (Cooperativa Central de Matelândia/PR, Brasil) a um teor de gordura igual a 3,0%. O leite padronizado foi resfriado a 32 °C e dividido em duas partes iguais, uma para cada tipo de tratamento.

Para cada tanque de fabricação foram adicionados cultura MA 11 (Danisco, Copenhagen, DK), constituída de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, na proporção de 1% (v/v) e 250 ppm de cloreto de cálcio 50%.

Em um tratamento foi utilizado coalho bovino Renina (Coalho Bela Vista, São Paulo/SP, Brasil) e no outro coagulante de quimosina produzida por fermentação (*CHY MAX* – Chr Hansen, Valinhos/SP, Brasil), ambos na proporção suficiente para coagular o leite em 30 minutos. Dois tanques de queijo foram fabricados por dia, um para cada tratamento, resultando num total de seis ensaios, previamente aleatorizados.

Após a coagulação, a coalhada foi cortada em cubos de 1,0 cm de aresta. Iniciou-se agitação lenta por cerca de 20 minutos (1ª mexedura), seguida do aquecimento da massa a 37 °C (2ª mexedura). Após o ponto de massa, retirou-se aproximadamente 20% do soro e as massas foram então colocadas em formas plásticas de queijo Minas Padrão de 0,5 Kg e prensadas a temperatura ambiente em prensas verticais, com pesos de aço inox que foram colocados gradativamente até se atingir o peso correspondente de 20 vezes o peso da massa. Foram realizadas as seguintes viragens: a primeira após 30 minutos de enformagem e, a segunda após 1h e 30 min, permanecendo os queijos na prensa por 12 h após a última viragem.

Ao saírem da prensa, os queijos foram colocados em salmoura (20% NaCl) por 10 horas em B.O.D. a 5 °C, secos por 48 horas em B.O.D. a 5° C e, então,

embalados a vácuo em sacos plásticos termoencolhíveis e armazenados a 12 °C por um período de 35 dias. O processo de fabricação é mostrado na Figura 1.

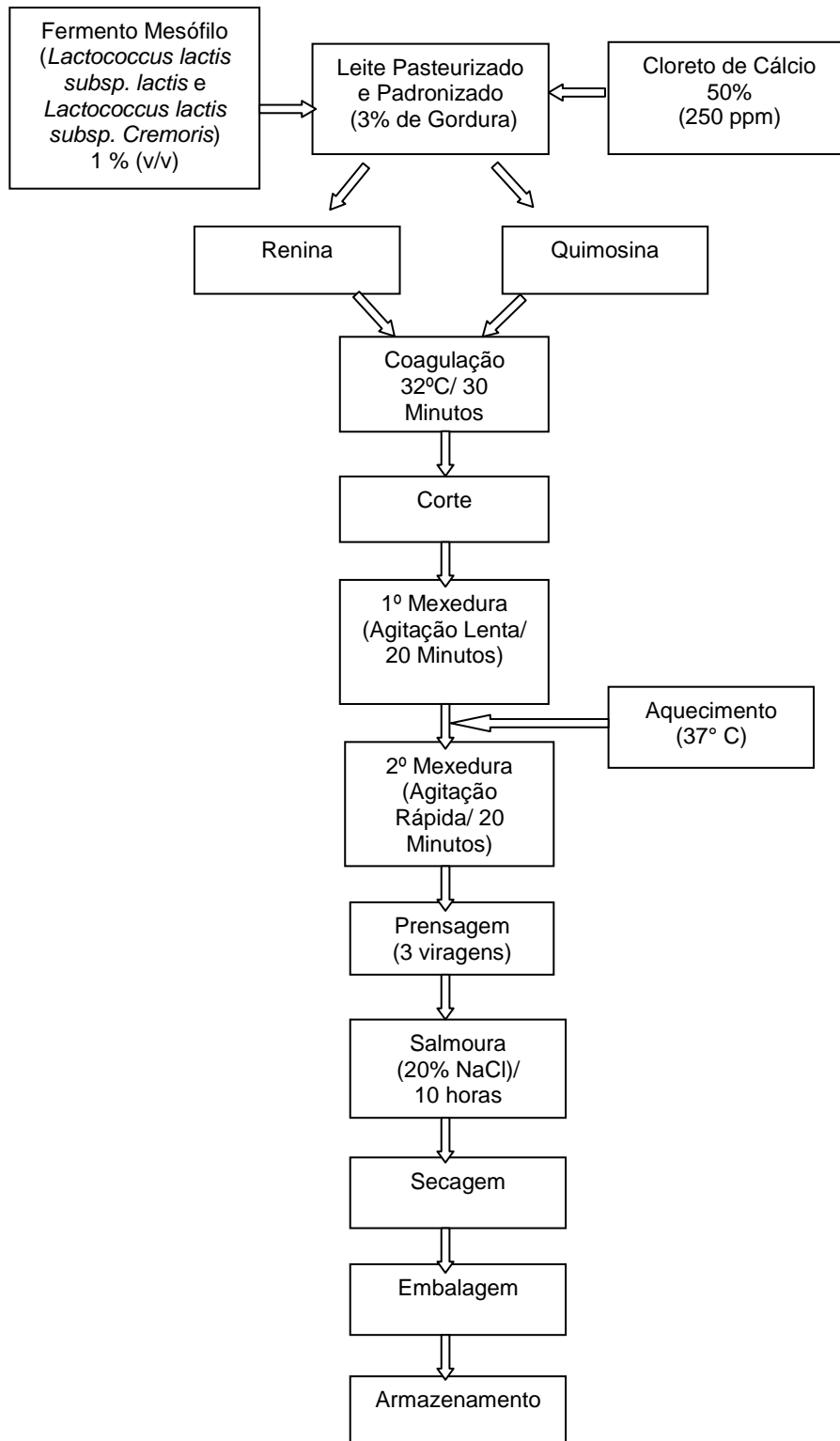


Figura 1 - Fluxograma de fabricação do queijo Minas Padrão

3.2 CALCULO DA FORÇA DO COALHO OU COAGULANTE

Para determinação da força do coalho, foi utilizada a metodologia adaptada de WOLFSCHOON-POMBO (1980).

A força foi determinada pela equação 1

$$F = \frac{L \cdot 1800}{C \cdot T} \quad (1)$$

Em que:

F = força do coalho

L = quantidade de leite (mL)

C = quantidade de coalho (mL ou g)

T = tempo de coagulação (seg)

3.3 AMOSTRAGEM DO QUEIJO

A amostragem do queijo foi realizada após 5, 15, 25 e 35 dias de armazenamento. Para todas as análises, os queijos foram partidos em cunhas. As cunhas foram escolhidas aleatoriamente, cortadas em cubos e trituradas em multiprocessador, até obtenção de partículas pequenas. O material assim obtido foi homogeneizado manualmente, acondicionado em frascos de vidro e mantidos sob refrigeração (12°C) até o momento de cada análise.

3.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE PASTEURIZADO E DO SORO.

A acidez das amostras de leite e soro foi medida utilizando o método de titulação com hidróxido de sódio N/9 (solução Dornic), em presença do indicador fenolftaleína, como descrito por Atherton e Newlander (1981). As medidas de pH foram efetuadas utilizando-se um potenciômetro Tecnal (TEC-2, Piracicaba/SP), previamente calibrado. O teor de umidade foi determinado pelo método gravimétrico, em estufa (Nova Técnica NT - 513) a 105 °C por 16 h (AOAC, 2003). O teor de cinzas foi determinado por incineração em mufla a 550 °C/12 horas (AOAC, 2003). O

teor de gordura foi determinado pelo método volumétrico de Gerber conforme British Standards Institution (1989). O nitrogênio total foi determinado pelo método de semi micro Kjeldahl (AOAC, 2003). Os valores de nitrogênio foram multiplicados pelo fator 6,38 para obtenção dos valores equivalentes de proteína. As frações protéicas foram determinadas de acordo com Bynum; Barbano (2003), seguido por macro Kjeldahl (AOAC, 1995).

3.5 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO QUEIJO

A acidez titulável foi medida através da titulação com hidróxido de sódio seguindo a metodologia AOAC (2003). As medidas de pH foram realizadas diretamente nas amostras trituradas e acondicionadas nos frascos providos de tampa efetuadas utilizando-se um potenciômetro Tecnal (TEC-2, Piracicaba/SP), previamente calibrado. O teor de umidade foi determinado pelo método gravimétrico, em estufa (Nova Técnica NT - 513) a 105 °C por 16 h de acordo com procedimento AOAC (2003). O teor de gordura foi determinado pelo método volumétrico de Gerber conforme British Standards Institution (1989). O teor de sal foi determinado pelo método de Volhard, de acordo com Richardson (1985). O nitrogênio total foi determinado pelo método de semi micro Kjeldahl (AOAC, 2003). Os valores de nitrogênio foram multiplicados pelo fator 6,38 para obtenção dos valores equivalentes de proteína. As frações protéicas foram determinadas de acordo com Bynum; Barbano (1985), seguido por macro Kjeldahl (AOAC, 2003). O Teor de cinzas foi determinado por incineração em mufla a 550 °C/12 horas (AOAC, 2003).

As análises físico-químicas de composição do leite, soro e queijo foram realizadas em triplicata. As análises de leite e soro foram realizadas no dia do processamento dos queijos, e as análises no queijo foram feitas a partir do quinto dia da fabricação, para permitir a estabilização da salga.

3.6 CÁLCULOS DE RECUPERAÇÃO DE GORDURA E PROTEÍNA

O cálculo da porcentagem de recuperação (R) de gordura e nitrogênio foi realizado segundo a equação 1:

$$R (\%) = \frac{\text{massa da amostra} \times \% \text{ componente na amostra}}{\text{massa leite} \times \% \text{ componente leite}} \quad (1)$$

Onde: a amostra foi soro ou queijo, o componente, a gordura ou proteína.

A recuperação total (RT) de gordura ou proteína foi calculada de acordo com a equação 2:

$$RT = \% R \text{ soro} + \% R \text{ queijo} \quad (2)$$

Onde:

% R soro= Porcentagem de recuperação (gordura ou proteína) no soro.

% R queijo= Porcentagem de recuperação (gordura ou proteína) no queijo.

3.7 CÁLCULOS DE RENDIMENTO

O rendimento de fabricação dos queijos foi calculado segundo a equação 3:

$$\text{Rendimento} = \frac{\text{massa de queijo}}{\text{massa de leite}} \quad (3)$$

Como há variações nos teores de umidade e sal dos queijos, o rendimento ajustado (RAJ) foi calculado para efeito de comparação (equação 4). Foram considerados: conteúdo desejado de sal de 1,5% e umidade de 45%.

$$RAJ = \frac{(\text{rendimento}) \times [100 - (\% \text{umidade real} + \% \text{sal real})]}{100 - (\% \text{umidade desejada} + \% \text{sal desejada})} \quad (4)$$

3.8 ACOMPANHAMENTO DA PROTEÓLISE DURANTE A MATURAÇÃO

A proteólise foi acompanhada nos dias 5, 15, 25 e 35. Foram realizadas análises de pH, acidez titulável, nitrogênio total, nitrogênio não caseico e nitrogênio

não protéico conforme descrito no item 3.5. Além disso, também foram determinados os índices de extensão e de profundidade de proteólise de acordo com as equações (5) e (6), respectivamente:

$$\text{Extensão da proteólise} = \frac{(\% \text{nitrogênio solúvel a pH 4,6})}{\% \text{nitrogênio total}} \times 100 \quad (5)$$

$$\text{Profundidade da proteólise} = \frac{(\% \text{nitrogênio solúvel em TCA 12\%})}{\% \text{nitrogênio total}} \times 100 \quad (6)$$

3.9 AVALIAÇÃO SENSORIAL

No teste de Aceitação, os queijos foram analisados por 68 provadores não treinados. A avaliação sensorial foi feita após 35 dias de armazenamento refrigerado a 12 °C. Os testes foram realizados em cabines individuais do Laboratório de Análise Sensorial da UNOPAR, sob luz branca. As amostras codificadas com números de três dígitos foram apresentadas monadicamente em pratos brancos descartáveis, com aproximadamente 15 g do produto. A temperatura de apresentação foi de 12° C. Água e biscoito água/sal foram servidos para o consumo entre a avaliação das amostras. A ordem de apresentação das amostras foi balanceada.

Os atributos aparência, aroma, sabor, textura e impressão global foram analisados com a utilização de uma ficha contendo uma escala hedônica com 9 pontos, onde 1 = desgostei muitíssimo e 9 = gostei muitíssimo.

Para a intenção de compra foi utilizada a mesma ficha contendo uma escala estruturada de cinco pontos, onde 1 = certamente não compraria e 5 = certamente compraria (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1999).

3.10 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

O delineamento experimental para a fabricação dos queijos foi do tipo casualizado em blocos. O fator estudado foi o tipo de coagulante. Esses ensaios foram realizados em triplicata.

Para a avaliação do pH, acidez titulável, índices de extensão e de profundidade da proteólise foi adotado um delineamento do tipo *split-plot*, sendo que a sub-parcela foi obtida pela incorporação do fator tempo de armazenamento refrigerado (t). As análises foram realizadas após os dias 5, 15, 25 e 35, de armazenamento refrigerado. O teste de F-ANOVA foi usado para avaliar as diferenças entre os tipos de coagulante, entre tempos e a interação tempo versus tipo de coagulante. O teste de Duncan ($p < 0,05$) de comparações múltiplas foi utilizado para agrupar tratamentos e/ou tempos com médias cujas diferenças não foram estatisticamente significativas.

Os resultados da análise sensorial foram analisados através da análise de variância (ANOVA) usando-se o Teste de Tukey (5% de probabilidade) para verificar a diferença entre as médias.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 COMPOSIÇÃO FÍSICO QUÍMICA

4.1.1 Leite

A Tabela 1 apresenta a composição média do leite pasteurizado padronizado utilizado nos experimentos

Tabela 1 – Composição físico química do leite utilizado para fabricação dos queijos. (n = 3)

Componente	Média±DP
Acidez Titulável (°D)	18,00 ± 1,53
pH	6,55 ± 0,32
Gordura (%)	3,00 ± 0,06
EST (%)	11,83 ± 0,30
Cinzas (%)	0,69 ± 0,16
Proteína Total (%)	3,88 ± 1,24

Os resultados da composição físico química do leite estão de acordo com padrões exigidos pela Instrução Normativa nº 51 (IN nº 51) para leite pasteurizado (BRASIL, 2002).

4.1.2 Queijos

A Tabela 2 apresenta a composição físico química dos queijos Minas Padrão dos diferentes tratamentos.

De acordo com Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos (BRASIL, 1996) o queijo Minas Padrão é considerado como Gordo (GES entre 45,0 e 59,9%) e de alta umidade (46,0 e 54,9%). A composição média esperada para o queijo Minas Padrão é de 47,5 % de umidade, 24% de gordura (FURTADO 2005). Os resultados encontrados nesse estudo mostram que os queijos experimentais estão de acordo com a Legislação específica.

Tabela 2 – Média (n=3) da composição dos queijos produzidos com coalho bovino e com coagulante produzido por fermentação (5º Dia)

Componente	QPF	BOV
Acidez (% Ácido Láctico)	1,02 ^a ± 0,14	1,06 ^a ± 0,05
pH	4,94 ^a ± 0,03	4,93 ^a ± 0,05
Proteína Total (%)	21,91 ^a ± 1,82	21,37 ^a ± 2,37
Sal (%)	2,33 ^a ± 0,29	2,64 ^a ± 0,35
Cinzas (%)	4,74 ^a ± 0,29	4,99 ^a ± 0,58
Gordura (%)	24,83 ^a ± 0,76	24,17 ^a ± 1,61
GES (%)	47,82 ^a ± 4,18	47,10 ^a ± 2,87

GES = Gordura no Extrato Seco

* Médias com letras em comum, na mesma linha, não diferem significativamente entre si (p>0,05)

Os queijos não apresentaram diferença significativa (p>0,05) em relação à composição química, indicando que a mesma não foi afetada pelo uso de quimosina pura. Em estudos preliminares, Cury (2009), trabalhando com queijo Minas Padrão e utilizando mesmo substituto de renina utilizado nesse estudo, encontrou resultados que mostraram que o tipo de coagulante não alterou a composição físico-química dos queijos.

Oliveira (2001) estudou a influência do uso de diferentes concentrações de quimosina para a fabricação de queijo mussarela e os resultados indicaram que o aumento da concentração de quimosina não influenciou a composição dos queijos. Já Augusto (2003) avaliou a influência do tipo de coagulante e a forma de aquecimento no queijo prato e observou que ambos os fatores influenciaram significativamente (p<0,05) a composição dos queijos.

4.1.3 Soro

Os resultados médios obtidos para a composição físico-química do soro obtido para os diferentes tratamentos são apresentados na Tabela 3.

A composição física química dos soros obtidos na fabricação dos queijos não apresentou diferença significativa (p>0,05). Augusto (2003) trabalhando com queijo prato não observou diferenças significativas na composição química nos soros obtidos na fabricação dos queijos utilizando quimosina e coalho bovino

Tabela 3 – Média (n=3) da composição do soro dos queijos produzidos com coalho bovino e com coagulante produzido por fermentação.

Componente	QPF	BOV
	(Média ± DP)	(Média ± DP)
Acidez (% Ácido Lático)	19,67 ± 0,5 ^a	16,17 ± 5,35 ^a
pH	6,45 ± 0,09 ^a	6,36 ± 0,13 ^a
Proteína Total (%)	1,18 ± 0,06 ^a	1,19 ± 0,56 ^a
EST (%)	6,76 ± 0,47 ^a	7,22 ± 0,27 ^a
Cinzas (%)	0,52 ± 0,08 ^a	0,55 ± 0,14 ^a
Gordura (%)	1,78 ± 0,18 ^a	1,67 ± 0,24 ^a

* Médias com letras em comum, na mesma linha, não diferem significativamente entre si (p>0,05)

4.2 ALTERAÇÕES OCORRIDAS DURANTE O ARMAZENAMENTO REFRIGERADO

4.2.1 Acidez Titulável e pH

A Figura 2 mostra o desenvolvimento da acidez titulável e do pH dos queijos Minas Padrão durante os 35 dias de maturação.

O uso de QPF não alterou a acidez (Figura 2A) e o pH (Figura 2B) dos queijos ao longo do período de armazenamento refrigerado.

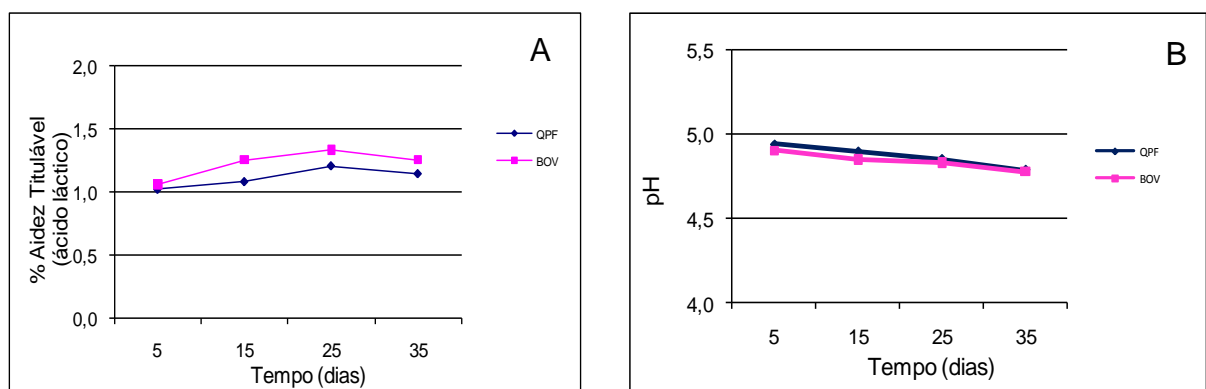


Figura 2 – Evolução da acidez titulável (A) e do pH (B) dos queijos Minas Padrão com queijos produzidos com coalho bovino e quimosina pura durante os 35 dias de armazenamento refrigerado a 12° C.

4.2.2 Índice de Extensão de maturação (IEM)

Tanto os queijos QPF quanto os BOV apresentaram um aumento significativo ($p < 0,05$) do IE ao longo do período de armazenamento refrigerado a 12 °C. No 35º dia (Figura.3) o IE para o queijo QPF foi de 22,15 % enquanto que o do queijo BOV foi de 15,24 %.

De acordo com Vicente et al. (2000), quanto maior a proporção de quimosina contida no coagulante, maior a proteólise dos queijos explicando os resultados encontrados nesse estudo.

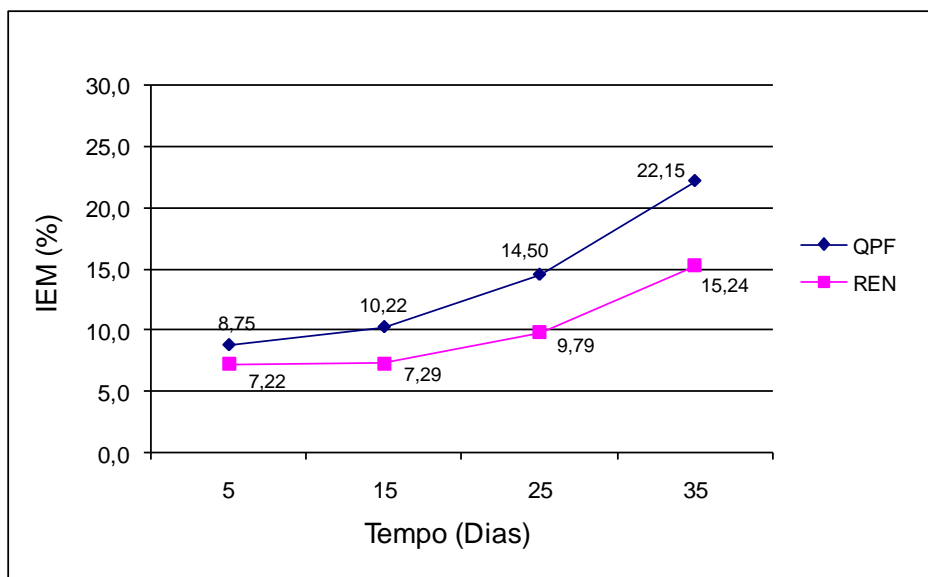


Figura 3 - Evolução do índice de extensão dos queijos Minas produzidos com coalho bovino e com coagulante produzido por fermentação durante os 35 dias de armazenamento refrigerado a 12 °C.

4.2.3 Índice de Profundidade de maturação (IPM)

Para os dois queijos Minas Padrão (QPF e BOV) houve um aumento significativo no índice de profundidade com o tempo de armazenamento ($p < 0,05$) como mostra a Figura 4.

O aumento dos índices de profundidade de proteólise ao longo do tempo de maturação pode ser explicado pela atuação das bactérias do fermento láctico mesófilo, que possuem um sistema de proteinases e peptidases capaz de hidrolisar os oligopeptídeos resultantes da proteólise primária (FOX; SINGH; McSWEENEY, 1995).

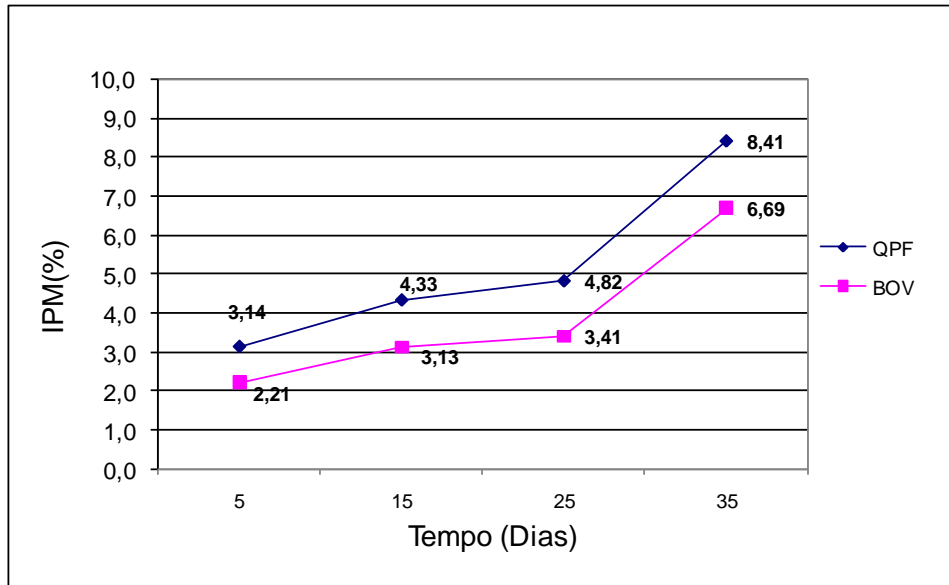


Figura 4 - Evolução do índice de profundidade dos queijos Minas Padrão produzidos com coelho bovino e com coagulante produzido por fermentação durante os 35 dias de armazenamento refrigerado a 12 °C.

4.3 RECUPERAÇÃO DE GORDURA E PROTEÍNA

Perdas de gordura e finos de caseína ocorrem no soro durante o processamento, principalmente nas etapas de corte e agitação da massa, que contribuem para o deslocamento destes componentes para o soro afetando sua recuperação e conseqüentemente o rendimento em queijo (WALSTRA; NOOMEN; GEURTS, 1999). Os valores médios de recuperação de gordura e proteína no soro e nos queijos são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4 - Recuperação média (n=3) de gordura e proteína nos soros e nos queijos produzidos com coelho bovino e com coagulante produzido por fermentação.

Queijo	Recuperação de gordura		Recuperação de proteína	
	Soro %	Queijo %	Soro %	Queijo %
QPF	29,79 ± 2,75 ^a	73,21 ± 2,75 ^a	26,64 ± 2,04 ^a	73,36 ± 2,04 ^a
BOV	24,60 ± 3,70 ^a	75,40 ± 3,70 ^a	28,42 ± 2,29 ^a	71,58 ± 2,29 ^a

* Médias com letras em comum, na mesma coluna, não diferem significativamente entre si ($p > 0,05$)

Não foram verificadas diferenças significativas na recuperação de gordura e de proteína. Entretanto, pode ser verificada (Tabela 4) uma maior tendência de recuperação de proteína nos queijos com o coagulante produzido por fermentação.

Folegatti (1994), avaliando o uso de coalho bovino, coalho de vitelo e quimosina pura em queijo Prato, verificou que as porcentagens de recuperação de gordura obtidas nos queijos para os tratamentos nos quais se empregou coalho de vitelo e quimosina foram idênticas e ligeiramente superiores à do coalho bovino, embora as diferenças só sejam significativas a $p < 0,25$.

Augusto (2003) estudou o uso de coalho bovino e de quimosina na fabricação de queijo Prato não encontrando diferenças na recuperação de gordura e proteína nos queijos.

4.4 RENDIMENTO DO QUEIJO

Os valores de rendimento real e rendimento ajustado dos queijos produzidos com diferentes coagulantes são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Rendimento médio (n=3) dos queijos produzidos com coalho bovino e com coagulante produzido por fermentação.

RENDIMENTO (kg queijo/100kg leite)	QPF (Média ± DP)	BOV (Média ± DP)
Rendimento real	11,49 ± 0,22 ^a	12,13 ± 0,66 ^a
Rendimento ajustado	11,08 ± 0,32 ^a	11,38 ± 0,59 ^a

* Médias com letras em comum, na mesma linha, não diferem significativamente entre si ($p > 0,05$)

Não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) no rendimento real e rendimento ajustado (kg/100 Kg), quando se comparou o queijo Minas padrão processado com renina e com quimosina pura.

Disegna et al (1991) estudaram a ação da quimosina obtida por fermentação do *Kluyveromices lactis* e coalho de vitelo, sobre o rendimento do queijo Grana, não encontrando diferenças significativas entre os queijos utilizando os diferentes coalhos. Barbano & Rasmussen (1992) não verificaram nenhuma diferença significativa no rendimento do queijo Cheddar elaborados com quimosina obtida por fermentação e coalho de vitelo.

Dornellas (1997) comparou o uso de coalho bovino e de coagulante obtido por fermentação em queijo minas frescal e não observou diferenças significativas entre os tratamentos para o rendimento real e rendimento ajustado. Barbano e Rasmussen (1992) avaliaram o uso de quimosina e coalho de vitelo em

queijo Cheddar onde obtiveram rendimentos praticamente idênticos.

4.5 ANÁLISE SENSORIAL

Os resultados apresentados na Tabela 6 demonstram que não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) na aceitação dos queijos QPF e BOV para todos os atributos após 35 dias de armazenamento.

Tabela 6 – Notas médias da análise sensorial dos queijos produzidos com coalho bovino e com coagulante produzido por fermentação.

Atributos	QPF	BOV
Aparência ¹	7,31 ^a	7,59 ^a
Aroma	7,27 ^a	7,25 ^a
Sabor	6,76 ^a	6,89 ^a
Textura	7,18 ^a	7,46 ^a
Impressão Global	7,15 ^a	7,23 ^a
Intenção de Compra ²	3,70 ^a	3,66 ^a

* Médias com letras em comum, na mesma linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

¹ 1 = desgostei muito, 9 = gostei muito

² 1 = certamente não compraria, 5 = certamente compraria

De uma forma geral, os queijos desse estudo apresentaram médias relativamente altas (> 5) indicando uma boa aceitação de ambos os tratamentos.

A Figura 5 mostra o histograma de freqüências para o atributo intenção de compra. Cerca de 60% dos provadores certamente ou provavelmente comprariam os queijos dos dois tratamentos indicando que os mesmos obtiveram uma aceitação similar ao nível de significância de 5%.

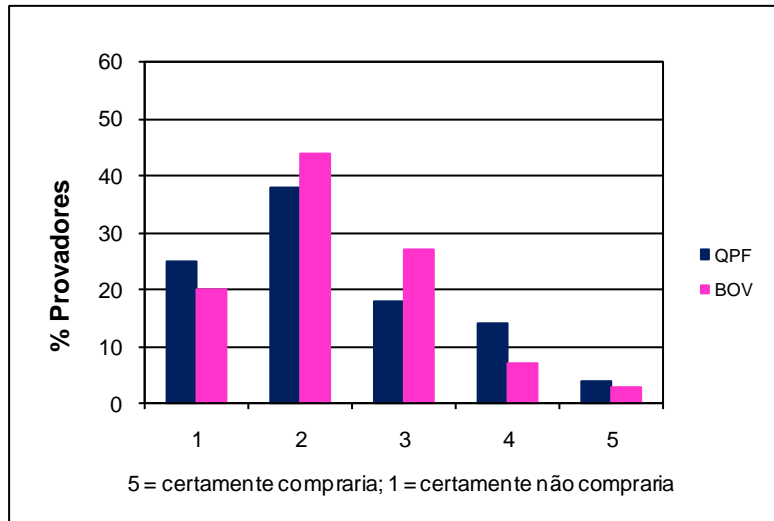


Figura 5 – Histograma de freqüências da avaliação sensorial queijos BOV e QPF em relação à Intenção de Compra.

5 CONCLUSÃO

O uso do substituto de renina não afetou a composição físico química e o rendimento dos queijos Minas Padrão produzidos.

Os queijos QPF apresentaram uma proteólise primária significativamente mais pronunciada quando comparado ao queijo BOV, provavelmente devido à maior porcentagem de quimosina do coagulante utilizado nesse tratamento.

Diferenças sensoriais não foram detectadas pelos provadores provavelmente por serem provadores não treinados.

6 REFERÊNCIAS

ABIQ - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO. **Queijos no Brasil**. 2008. Disponível em: <<http://www.abiq.com.br>>. Acesso em 02 de janeiro de 2010.

ANDRÉN, A. Milk-clotting activity of various rennets and coagulants: background and information regarding IDF Standards. **Bulletin of the International Dairy Federation** n°332/IDF. Brussels, Belgium p. 9 - 14, 1998.

ANTUNES, L. A. F.; VILELA S. C.; CAMPOS, S.; DUTRA, E. R. P.; MUNCK, A. V. Critérios para escolha de um coagulante. In: ALONSO, P. (Ed.). **Ha-la biotec**, ano 14. n. 82 Valinhos: Chr Hansen Ind. e Com. Ltda, 2004.

ATHERTON, H. V.; NEWLANDER, J.A. **Chemistry and testing of dairy products**. 4. ed. Westport: AVI, 1981.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 17 ed. Washington, DC: AOAC, 2003.

AUGUSTO, M. M. M. **Influência do tipo de coagulante e do aquecimento no cozimento da massa na composição, rendimento, proteólise e características sensoriais do queijo prato**. 2003. 217 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

BARBANO, D.M.; RASMUSSEN R.R.. Cheese Yield Performance of Fermentation-Produced Chymosin and Other Milk Coagulants. **J. Dairy Sci.**, v. 75, n. 1, p. 1-12, Jan., 1992.

BARROS, C. M. V. **Influência da cultura láctica, lipase, salga e embalagem nas características físico-químicas e sensoriais do queijo Minas curado**. 2001. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2001.

BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº146. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 07 mar. 1996. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br>. Acesso em 19 de março de 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. **Instrução Normativa nº51 de 18 de setembro de 2002**. Aprova e oficializa o Regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru e refrigerado. Diário Oficial (República Federativa do Brasil), Brasília, set. 2002.

British Standards Institution. **Determination of fat content of milk and milk products (Gerber Method)-Methods**. British Standards 1989

Institution, London, UK. BYNUM, D. G.; BARBANO, D. M. Whole milk reverse osmosis retentates for cheddar cheese manufacturing: chemical changes during ageing. **J. Dairy Sci.**, v. 68, n. 1, p. 1-10, Jan., 1985.

CASTILHO, M. H. **Tipos de coagulação láctea – enzimática e ácida e sua utilidade na produção de queijos**. 2008. 42 p. Monografia (Especialização lato sensu Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal) – Universidade Castelo Branco, Goiânia, 2008

COLLIN, J. C.; MOULINS, I., ; ROLET-RÉPÉCAUD, O. ; BAILLY, C. ; LAGARDE, G. Detection of recombinant chymosins in calf rennet by enzyme-linked immunosorbent assay. **Lait**. v. 77, p. 425 – 431, 1997.

CRABBE, M.J.C. Rennets: General and Molecular Aspects. In: FOX, P.F., ed. **Cheese: chemistry, physics and microbiology**. London: Chapman & Hall, 2004. v.1, 3ed p 47.-70.

CREAMER, L. K. Electrophoresis of cheese. **Bull. IDF**, v. 261, n. 14, 1991. DULLEY, J.R. The utilization of cheese slurries to accelerate the ripening of Cheddar cheese. **Aust. J. Dairy Technol.**, v. 31, n. 143, 1991.

CREAMER, L. K.; OLSON, N. F. Rheological evaluation of maturing cheddar cheese. **J. Food Sci.**, v. 47, p. 631-646, 1982.

CURY, Fernanda Persiani. **Influencia do tipo de coagulante na proteólise do queijo Minas Padrão**. 2009. 40f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) – Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Norte do Paraná, Londrina, 2009.

DESMAZEAUD, M. J.; GRIPON, J. C. General mechanism of protein breakdown during cheese ripening. **Milchwissenschaft**, v. 32, n. 12, p. 731-734, 1977.

DISEGNA, L.; TEALDO, E.; LODDO, A.; SCUDLDO, G.; ANTONELLO, F.; GIACON, D.; FELLIN, A. Impiego di chimosina B da *Kluyvermyces lactis* nella tecnologia indicativa del Montasio. **Il Latte**, Milan, 486-490, 1991.

DORNELAS, J. R. F. **Efeito do tipo de coagulante e acidificante no rendimento, proteólise e “Shelf life” do queijo minas frescal**. 1997. 126p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.

FERREIRA, D. N. **Influência do uso de retentados de baixo fator de concentração no rendimento e na qualidade da mussarela de reduzido teor de gordura produzida por acidificação direta**. – Campinas, SP: 2004. Dissertação

(mestrado) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos.

FOLEGATTI, M. L. S. **Avaliação do uso de quimosina produzida por *Aspergillus niger* (var. awamori) na fabricação do queijo tipo Prato.** 1994. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1994.

FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M. & McSWEENEY, P. L. H. **Fundamentals of cheese science.** Gaithersburg Maryland: Aspen Publishers, Inc. 2000.

FOX, P. F. Developments in the biochemistry of cheese ripening. **Proceedings of 25th International Dairy Federation.** p.11 - 38. 1998.

FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H. Proteolysis in cheese during ripening. **Food Rev. Int.,** v.12, n.4, p. 457 – 509, 1996.

FOX, P. F. Exogenous enzymes in dairy technology: A review. **J. Food Biochemistry,** v.17, p.173-199, 1993.

FOX, P. F.; LAW, J. Enzimology of cheese ripening. **Food Biotech.,** v. 5, n. 3, p. 239-262, 1991.

FOX, P.F. Proteolysis During Cheese Manufacture and Ripening. **J. Dairy Sci.,** v.72, p.1379-1400, 1989.

FOX, P.F.; SINGH, T.K.; MCSWEENEY, P.L.H. Biogenesis of flavor compounds in cheese. In: MALIN, E.L.; TUNICK, M.H. (Eds.). **Chemistry of structure – Function relationships in cheese.** New York, London: Plenum Press, 1995. Cap.6.

FURTADO, M.M. **A arte e a ciência do queijo.** 2ed. São Paulo: Globo, 1991.

FURTADO, M. M.; LOURENÇO NETO, J. P. M. L. **Tecnologia de Queijos: manual técnico para a produção industrial de queijos.** São Paulo: Dipemar, 1994.

FURTADO, M. M. **Quesos típicos de Latinoamérica.** Danisco A/S., 2005.

GUINEE, T. P.; WILKINSON, M. G. Rennets coagulation and coagulants in cheese manufacture. **J. Society of Dairy Techn.** v.45, n. 4, p. 94 – 104, 1992.

HUI, Y. H. ; MEUNIER-GODDIK, L.; HANSEN, A.S.; JOSEPHSEN, J.; NIP, W.K.; STANFIELD, P.S.;TOLDRA,F. **Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology.** Marcel Dekker, inc. 2004.

HULL, M. E. Studies on milk proteins. II. Colorimetric determination of the partial hydrolysis of protein in milk. **J. Dairy Sci.,** v. 30, n. 881, 1947.

KONUKLAR, G.; GUNASEKARAN, S. Rennet-Induced Milk Coagulation by Continuous Steady Shear Stress. **Journal of Colloid and Interface Science** v. 250, p.149–158, 2002.

KOSIKOWSKI, F. V.; MISTRY, V.V. Cheese and fermented milk foods. 3ed. Westport: AVI, 1997.

LAU, K.Y; BARBANO, D.M.; RASMUSSEN, R.R. Influence of pasteurization on fat and nitrogen recoveries and Cheddar cheese yield. **Journal of Dairy Science. Champaign**, v.73, n.3, p.561-570, Mar., 1990.

LAW, B. A.; WIGMORE, A. S. Microbial proteinases as agents for accelerated cheese ripening. **J. Dairy Res.**, v. 49, n. 137, 1982.

LAW, B. A. **Microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk.** 2ed. London: Blackie Academic & Professional, 1997. 365p.

LUCEY, J. A. ; JOHNSON, M. E.; HORNE D. S. Invited Review: Perspectives on the Basis of the Rheology and Texture Properties of Cheese. **J. Dairy Sci.** V.86, No. 9, 2003.

McSWEENEY, P. L. H. The flavour of milk and dairy products: III. Cheese: taste. *International Journal of Dairy Technology*, Huntingdon, v. 50, n. 4, p. 123-128, 1997.

McSWEENEY, P.L.H. **Cheese problems solved.** University College Cork, Ireland, 2007.

MEILGAARD, M. CIVILLE, G. V. CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques.** 3 ed. London: CRC Press. 1999.

MINUSSI, R. C.; FURTADO, M. M.; MOSQUIM, M. A. C. A. V. Avaliação de métodos para a aceleração da maturação do queijo prato. **Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes**, n 291. p. 31 - 42, 1995.

NEVES-SOUZA, R. D.; SILVA, R.S. S. F., Estudo de custo-rendimento do processamento de queijos tipo Minas frescal com derivado de soja e diferentes agentes coagulantes. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** Campinas, v. 25, n. 1, 170 – 174, Jan – Mar, 2005.

O'KEEFFE, A. M.; FOX, P. F.; DALY, C. Proteolysis in cheddar cheese: role of coagulant and starter bacteria. **J. Dairy Res.**, v. 45, p. 465-477, 1978.

OLIVEIRA, J. S. **Queijos: Fundamentos Tecnológicos.** Governo do Estado de São Paulo, 1998.

OLIVEIRA, F. A. **Perfil do queijo Minas curado destinado à fabricação de pão de queijo**. Belo Horizonte, 1999, 125 p. Dissertação, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

OLIVEIRA, A.N. **Influência da concentração de quimosina na composição, rendimento, proteólise e propriedades funcionais do queijo mussarela feito por acidificação direta**. Campinas, SP: 2001, 99 p. Tese, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade estadual de Campinas (UNICAMP).

RAMPILLI. M.; LARSEN, R. ; HARBOE, M. Natural heterogeneity of chymosin and pepsin in extracts of bovine stomachs. **Int. Dairy J.** v. 15, p. 130 –1137, 2005.

RICHARDSON, G.H. **Standard methods for examination of dairy products**. 15.ed., Washington, DC: American Public Health Association, 1985.

ROBINSON, R.K.; WILBEY, R.A. **Cheesemaking practice**: Reg Scott. 3ed. New York: Kluwer Academic, 1998.

ROGELJ I, PERKO B, FRANCKY A, PENCA V, PUNGERCAR J (2001). Recombinant lamb chymosin as an alternative coagulating enzyme in cheese production. **J Dairy Sci.** v. 84, p. 1020-1026, 2001.

SHEEHAN, J. J.; OLIVEIRA, J. C.; KELLY, A. L.; MC SWEENEY, P. L. H. Effect of cook temperature on primary proteolysis and predicted residual chymosin activity of a semi-hard cheese manufactured using thermophilic cultures. **Int. Dairy J.**, v. 17, n. 7, p. 826-834. 2007.

SIQUEIRA, J. F. M. et al. Efeito da variação do teor de gordura do leite no rendimento do queijo minas padronizado. **Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes**. Juiz de Fora, v. 41, n. 245, p. 21-26, 1986.

SOHAL, T. S.; ROEHL, D; JELEN, P. Rennet as a Cause of bitterness development in Quarg. **J. Dairy Sci**, v. 71, n. 12, p. 3188-3196, 1988.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). Agricultural Research Service, **Nutrient Database for Standard Reference**. 2010 Nutrient Data Laboratory. Disponível em: < <http://www.fas.usda.gov> >. Acesso em: 19 de janeiro de 2011.

VICENTE, M.S.; ILBÁÑEZ, F. C.; BARCINA, Y. BARRON, L. J.R. Casein breakdown during ripening of Idiazabal cheese: influence of starter and rennet type. **J.Sci Food Agric.** 81, p. 210 – 215, 2000.

VICENTE, M.S.; ILBÁÑEZ, F. C.; BARCINA, Y. BARRON, L. J.R. Changes in the free amino acid content during ripening of Idiazabal cheese: influence of starter and rennet type. **Food Chemistry.** 72, p. 309 – 317, 2001.

VIEIRA, V.F. **Características físico-químicas e sensoriais de queijo mussarela elaborados a partir de leites com diferentes contagens de células somáticas.** Itapetinga, BA: 2010,71 p. Dissertação – Mestrado em Engenharia de Alimentos - UESB.

WALSTRA, P., NOOMEN, A., & GEURTS, T. J. Dutch – Types Varieties. In: **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology.** 2nd. Ed. Aspen Publishers Inc. Maryland. p.39 - 82. 1999.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J. T. M.; GEURTS, T. J. **Dairy Sci. Technol.** 2 ed, Boca Raton: CRC Press. 2006.

WOLFSCHOON-POMBO, A. F.; LIMA, A. Índice de Extensão e profundidade da proteólise em queijo Minas Frescal. **Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes**, v.44, n.261-266, p.50-54, 1989.