

Avaliação do emprego de transglutaminase em bebida láctea elaborada com leite de cabra

Evaluation of the use of transglutaminase in dairy drinks made from goat milk

Daniela Cristina Faria Vieira^{*}
Cleuber Antonio de Sá Silva^{**}

O objetivo deste trabalho foi avaliar o emprego da transglutaminase em bebida láctea de leite de cabra com 45% de soro e avaliar as características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais dessa bebida durante o prazo de validade do produto. Na primeira etapa foram avaliados os cinco diferentes níveis da enzima transglutaminase (0; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 U/g). Na segunda etapa a bebida que teve a melhor aceitação sensorial foi avaliada durante 30 dias. Observou-se que a bebida láctea tratada com 0,5 U/g de transglutaminase apresentou maior aceitação sensorial em relação à impressão global 7,18. Os valores de cor da bebida láctea tratada com 0,5 U/g não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$). Os valores de bactérias lácticas estão de acordo com a estabelecida pela legislação vigente. Os resultados mostram a viabilidade do emprego da transglutaminase em bebida láctea.

The aim of this study was to evaluate the use of transglutaminase in dairy drinks made from with goat milk with 45% of serum, and the physical, chemical, microbiological and sensory characteristics of these drinks within the expiration date of the product. In the first phase, five different levels of transglutaminase (0, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 U/g) were evaluated. In the second phase, the drink that had the best sensory acceptability was evaluated for 30 days. It was observed that the dairy drink treated with 0.5 U/g transglutaminase showed higher sensory acceptability in relation to the 7.18 overall impression. The color values of the dairy drink treated with 0.5 U/g showed no significant difference ($p < 0.05$). The values of lactic acid bacteria are established according to the legislation. Results show the feasibility of the use of transglutaminase in dairy drinks.

Palavras-chave: Enzima. Soro de leite. Teste de aceitação.

Key words: Enzyme. Whey. Acceptance testing.

Introdução

Nos últimos anos, o Brasil vem apresentando uma crescente produção de queijos, 640 mil toneladas em 2008, sendo superado apenas pelos Estados Unidos (EMBRAPA, 2008). Um dos problemas ainda enfrentados pelas indústrias processadoras de queijo é o grande volume de soro produzido diariamente (BOSCHI, 2006). O soro de leite é um produto da fabricação de queijos que representa em torno de 85 a 95%

^{*} Mestranda na área de Toxicologia de Alimentos. Graduada em Tecnologia em Laticínios. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais - *campus* Rio Pomba - Brasil. E-mail: daniela.vieira@ifsudestemg.edu.br

^{**} Pós-Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos na área de Embalagem de Alimentos. Professor do Departamento de Ciências e Tecnologia de Alimentos. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais - *campus* Rio Pomba - Brasil. E-mail: cleuber.silva@ifsudestemg.edu.br

do volume de leite utilizado e contém 55% dos nutrientes do leite, sobretudo lactose (4,5 a 5% m/v), proteínas solúveis (0,6 a 0,8% m/v), lipídeos (0,4 a 0,5% m/v) e sais minerais (8 a 10% do extrato seco) (OLIVEIRA, 2006). Dessa forma, o soro de queijo é considerado o principal subproduto da indústria de laticínios, possui diversos nutrientes e, portanto, alta carga orgânica poluente. As proteínas do soro são de fácil digestão e apresentam perfil de aminoácidos essenciais que atendem todas as exigências qualitativas e quantitativas estabelecidas pela Food and Agriculture Organization (FAO) e pela World Health Organization (WHO), além disso, o soro de leite representa uma mistura rica e heterogênea de proteínas com atributos nutricionais, funcionais e biológicos (CHATTERTON et al., 2006), podendo ser empregado como: emulsificante, espumante e gelificante, o que o torna um ingrediente de alto valor tecnológico para a indústria de alimentos. Segundo Santos (2008), a produção de bebida láctea no Brasil é uma das principais opções de aproveitamento do soro de leite líquido.

As indústrias de laticínios estão desenvolvendo produtos que empregam o soro de leite, tendo visto a possibilidade de uso dos equipamentos já existentes na usina de beneficiamento de leite, reduzindo custos e simplificando o processo, além da redução de problemas relativos ao seu descarte (CARVALHO; LEITE; SIQUEIRA, 2009). A indústria de alimentos normalmente utiliza estabilizantes na fabricação de produtos lácteos. O enriquecimento da matéria seca e/ou do conteúdo proteico, como também a adição de hidrocolóides são técnicas comuns empregadas para evitar problemas de processamento, como a sinerese em iogurte. Muitos agentes estabilizantes e de polimerização proteica são disponíveis, mas a utilização de enzimas como a transglutaminase para modificar as propriedades funcionais dos alimentos via ligações cruzadas de proteínas apresenta vantagens por possuir alta especificidade e requerer apenas quantidades catalíticas (SINGH, 1991).

A capacidade da enzima transglutaminase em melhorar as propriedades funcionais de proteínas vem sendo explorada com a sua utilização em alimentos preparados como produtos de surimi, produtos cárneos, massas, queijos, entre outros (GAUCH, 2007). Essa enzima pode modificar as proteínas por meio de incorporação de aminas, ligações cruzadas e desaminação (MOTOKI; SEGURO, 1998). Essas reações levam a mudanças nas propriedades funcionais de proteínas vegetais e animais, conferindo-lhes a possibilidade da formação de produtos com melhores propriedades reológicas e sensoriais, assim como a capacidade de gelificação e a força do gel de surimi são melhoradas pelo tratamento enzimático (DONDERO et al., 2006). A transglutaminase adicionada em farinha de trigo permite a formação de pães com maior volume, consistência e menor acidez (COLLAR; BOLLAÍN; ANGIOLONI, 2005, SANCHEZ, 2009). O objetivo deste trabalho foi avaliar o emprego da transglutaminase em bebida láctea com 45% de soro de leite de cabra como agente estabilizante e também avaliar as características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais dessa bebida láctea após a polimerização enzimática com a transglutaminase durante o prazo de validade do produto gerado.

Materiais e métodos

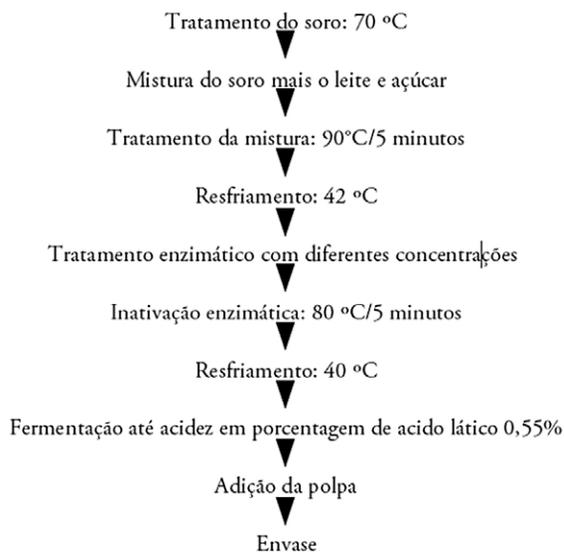
O presente trabalho foi desenvolvido no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais – Câmpus Rio Pomba (IFSUDESTE MG – câmpus Rio Pomba).

Elaboração da bebida láctea de leite de cabra com diferentes concentrações de enzima

O desenvolvimento da bebida láctea teve como ingredientes: leite integral de cabra, soro de leite de cabra, açúcar, preparado de frutas, fermento láctico.

No processamento da bebida láctea, o soro fresco foi obtido da fabricação do queijo Minas Padrão. O soro foi aquecido até 70 °C para inativação do coalho residual, em seguida adicionou-se leite e açúcar, que foram submetidos ao tratamento térmico de 90 °C por 5 minutos. Depois a mistura foi resfriada à temperatura de 42 °C e adicionou-se a enzima transglutaminase nas concentrações de 0; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 U/g, mantendo-se a temperatura por 2 horas. Transcorrido esse tempo, a mistura foi aquecida a 80 °C por 5 minutos para sua inativação e, posteriormente, resfriada para 40 °C, inoculada com a cultura de *Streptococcus salivarius ssp. Thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus*, e incubada por 4 horas. Depois foi quebrada a massa, resfriada e adicionada de 4% de preparado de morango. A Figura 1 apresenta o fluxograma com as etapas de processamento da bebida láctea de leite de cabra com diferentes concentrações de transglutaminase.

Figura 1 - Fluxograma de produção da bebida láctea de leite de cabra com diferentes concentrações de transglutaminase



Fonte: Dos autores

O experimento foi realizado em duas etapas: na primeira etapa foram avaliadas as cinco diferentes concentrações da enzima transglutaminase (0; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 U/g) em uma bebida láctea com 45% de soro de leite e as possíveis alterações na cor, pH e acidez titulável, bem como o teste de aceitação sensorial com 50 provadores não treinados por escala hedônica de nove pontos no primeiro dia de fabricação. A formulação da bebida láctea, dentre os níveis mencionados acima, que apresentou melhor aceitação, foi empregada no desenvolvimento da segunda parte do estudo.

Na segunda etapa foram realizadas três repetições em duplicata das análises físico-químicas de acidez e pH nos tempos (0, 3, 6, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30 dias) de acordo com as metodologias preconizadas pelo Instituto Adolfo Lutz (ZENEBON et al., 2008), bem como os parâmetros de cor (colorímetro de Hunter®) operando no sistema CIELAB de acordo com Malheiros (2007). Os dados foram submetidos à análise estatística utilizando o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. As contagens de bactérias lácteas foram realizadas com três repetições em duplicata seguindo a metodologia da American Public Health Association (APHA) descrito no Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (SILVA et al., 2001).

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e por teste de Tukey para a comparação das médias, ao nível de 5% de probabilidade, caso necessário. O *software* para o processamento e análise estatística foi o SAS (*Statistical Analysis System*) Versão 9.1.

Resultados e Discussão

No processo de produção da bebida láctea de leite de cabra, o leite foi padronizado para 3,0% de gordura. O teor de gordura do leite afeta favoravelmente a qualidade do iogurte, a gordura estabiliza a contração do gel proteico, previne a separação do soro no produto final e afeta a percepção sensorial do produto, que apresenta textura mais macia e cremosa (THOMOPOULOS, TZIZ; MILKAS, 1993).

Na primeira etapa do experimento, quando a bebida láctea com leite de cabra com 0; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 U/g foi avaliada sensorialmente, constatou-se que a bebida láctea com 0,5 U/g de transglutaminase apresentou maior aceitação sensorial em relação à impressão global 7,18, estando entre os termos hedônicos “gostei extremamente” e “gostei muito”. A bebida láctea sem enzima foi a que apresentou menor score médio (6,1) estando entre os termos hedônicos “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”. Em estudos realizados por Faria (2010) com bebida láctea com diferentes concentrações de transglutaminase, constatou-se que as bebidas tratadas com a enzima tinham preferência à controle sem enzima.

Não foi constatada diferença significativa ($p < 0,05$) para os atributos cor nos tratamentos com 0; 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5 U/g. Os tratamentos com 0,4 e 0,5 U/g diferiram significativamente dos demais para os atributos sabor e viscosidade.

Tabela 1 - Valores médios das notas hedônicas de atributos sensoriais da bebida láctea de leite de cabra tratada com diferentes concentrações de enzima

Enzima U/g	Aceitação			
	Cor	Sabor	Viscosidade	Imp. Global
0	7,34 ± 1,47 a	5,33 ± 2,16 a	6,36 ± 1,62 a	6,10 ± 1,90 a
0,2	7,32 ± 1,07 a	5,54 ± 2,09 a	6,46 ± 1,31 a	6,14 ± 1,81 a
0,3	7,38 ± 1,03 a	5,36 ± 1,72 a	6,36 ± 1,43 a	6,16 ± 1,37 a
0,4	7,36 ± 1,15 a	6,78 ± 1,70 b	7,12 ± 1,30 b	6,18 ± 1,22 a
0,5	7,32 ± 1,29 a	6,74 ± 1,70 b	7,18 ± 1,72 b	7,18 ± 1,18 b

Médias de três repetições em duplicata ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

Fonte: Dos autores

Na primeira etapa do estudo verificou-se que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) nos valores de pH e acidez no ponto de quebra da massa das diferentes bebidas lácteas com leite de cabra no primeiro dia de análise (Tabela 2). Os dados obtidos foram similares aos encontrados por Bonisch et al. (2007) em iogurtes tratados com as concentrações de transglutaminase de 0,6 a 3,0 U/g. Também não se obteve diferença significativa ($p > 0,05$) no processo de fermentação quando avaliado o pH e a acidez como parâmetros.

Tabela 2 - Valores médios de acidez e pH da bebida láctea de leite de cabra com diferentes tratamentos enzimáticos durante 4 horas de incubação com 40 °C

Parâmetro	Enzima U/g				
	0	0,2	0,3	0,4	0,5
Acidez (% ácido Láctico)	0,55 ± 0,01a	0,55 ± 0,01a	0,55 ± 0,01a	0,56 ± 0,02a	0,55 ± 0,01a
pH	4,4 ± 0,07a	4,3 ± 0,01a	4,1 ± 0,01a	4,2 ± 0,07a	4,2 ± 0,07a

Médias de três repetições em duplicata ± desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas iguais, na mesma coluna, indicam que não houve diferença significativa ($p > 0,05$).

Fonte: Dos autores

Para os valores de cor L^* , a^* e b^* , não houve diferença significativa ($p < 0,05$) na bebida láctea tratada com 0; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 U/g de transglutaminase. Sendo que os valores de luminosidade variaram de 78,04 a 78,64, estando mais próximo de 100, considerando-se que a luminosidade é de 0 para preto e 100 para branco. Quanto mais próximo de 100, mais luminosas são as amostras. Os parâmetros de a^* (16,31 a 16,48) indicam que a bebida está mais próxima da cor vermelha, que é a cor característica de

bebida láctea de morango, enquanto que os valores de b^* foram positivos (3,91 a 3,95), em direção ao amarelo (Tabela 3). Esses resultados foram similares ao encontrado por Silva (2007) com iogurte simbiótico, quando se verificou um valor positivo de a^* e b^* em função da adição de corante vermelho em pó nas diferentes amostras de iogurtes.

Tabela 3 - Valores de cor instrumental da amostra de bebida láctea de leite de cabra com diferentes tratamentos enzimáticos durante 4 horas de incubação com 40 °C

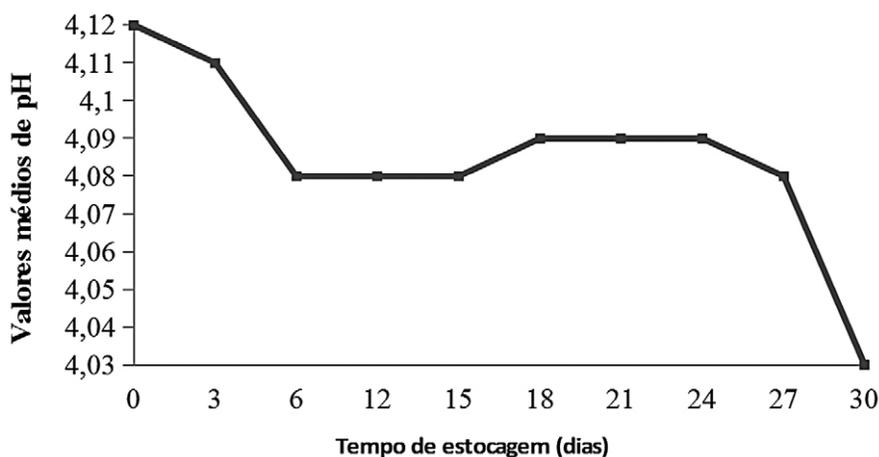
Cor Instrumental	Enzima U/g				
	0	0,2	0,3	0,4	0,5
L*	78,17 ± 0,28a	78,04 ± 0,10a	78,16 ± 0,70a	78,64 ± 0,70a	78,28 ± 0,19a
a*	16,31 ± 0,01a	16,40 ± 0,14a	16,42 ± 0,22a	16,48 ± 0,13a	16,44 ± 0,19a
b*	3,91 ± 0,01a	3,92 ± 0,01a	3,95 ± 0,04a	3,94 ± 0,04a	3,95 ± 0,04a

Médias de três repetições em duplicata ± desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas iguais, na mesma coluna, indicam que não houve diferença significativa ($p > 0,05$).

Fonte: Dos autores

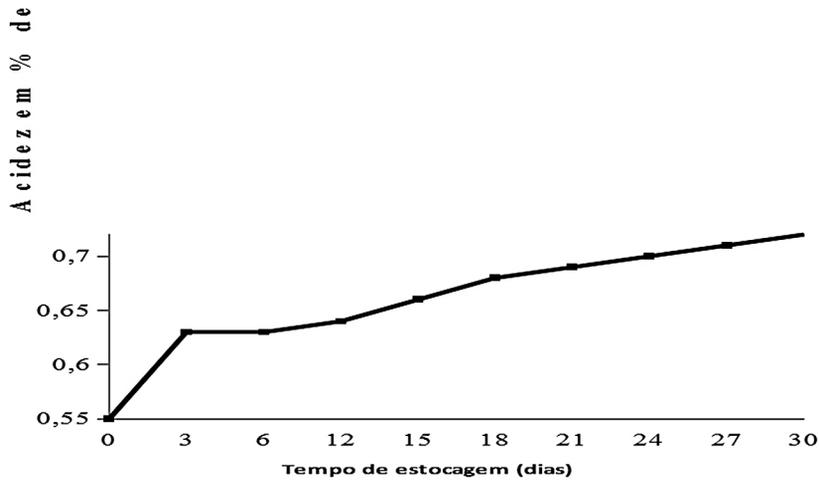
Na segunda etapa deste estudo, foi avaliada a bebida láctea de leite de cabra tratada com 0,5 U/g, a qual obteve a melhor aceitação sensorial. O pH da bebida láctea com 0,5 U/g apresentou valores médios de 4,02 a 4,14 durante o tempo de estocagem (Figura 2). Para os valores de acidez da bebida láctea nos tempos 0, 3, 6, 12, 15, 18, 21, 24, 27 e 30 dias tratada com 0,5 U/g de transglutaminase, aferiu-se valor médio de 0,55 a 0,72 % de ácido lático (Figura 3). Em estudos realizados por Donkor et al. (2006), com avaliação da acidez e do pH em iogurte probiótico, verificou-se um declínio nos valores de pH e aumento nos valores de acidez do produto durante o período de estocagem.

Figura 2 - Valores médios do pH das amostras de bebida láctea de leite de cabra durante os 30 dias de estocagem a 4 °C



Fonte: Dos autores

Figura 3 - Valores médios de acidez das amostras de bebida láctea de leite de cabra durante os 30 dias de estocagem a 4 °C



Fonte: Dos autores

Para os valores de cor L*, a* e b*, não houve diferença significativa ($p < 0,05$) na bebida láctea de leite de cabra tratada com 0,5 U/g de transglutaminase. Sendo que esses dados podem demonstrar a estabilidade do produto mediante o parâmetro de cor tabela 4.

Tabela 4 - Valores de cor instrumental da amostra de bebida láctea de leite de cabra tratada com 0,5 U/g de transglutaminase durante 30 dias de estocagem

Tempo	Cor Instrumental		
	L*	a*	b*
0	78,41 ± 0,11 a	16,41 ± 0,02a	3,39 ± 0,01 a
6	78,25 ± 0,12 a	16,38 ± 0,11 a	3,39 ± 0,01 a
12	78,27 ± 0,01 a	16,34 ± 0,12a	3,36 ± 0,02 a
15	78,11 ± 0,11 a	16,18 ± 0,02 a	3,38 ± 0,01 a
24	78,41 ± 0,11a	16,43 ± 0,11 a	3,37 ± 0,01 a
30	78,39 ± 0,01 a	16,25 ± 0,12a	3,37 ± 0,01 a

Médias de três repetições em duplicata ± desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas iguais, na mesma coluna, indicam que não houve diferença significativa ($p > 0,05$).

Fonte: Dos autores

Os valores médios encontrados para a contagem de bactérias lácticas para a bebida láctea variaram de $2,7 \times 10^6$ a $2,9 \times 10^7$ UFC/ml, respectivamente, durante os 30 dias de estocagem, estando esses valores acima do valor mínimo de 10^6 UFC/g de bactérias lácticas viáveis, preconizado pela Instrução Normativa nº 16, de 23 de agosto de 2005 (BRASIL, 2005). A principal função das bactérias lácticas nos alimentos é a acidificação desses produtos com a produção de ácidos orgânicos, que inibem o crescimento de bactérias indesejáveis (FORSYTHE, 2002).

Conclusão

Conclui-se que o tratamento com 0,5 U/g de transglutaminase em bebida láctea de leite de cabra sem a adição de espessante ou estabilizante não alterou as características de uma bebida láctea fermentada, permanecendo estável durante os 30 dias de estocagem. As bebidas lácteas tratadas com transglutaminase apresentaram melhor aceitação sensorial em relação ao controle. Os resultados mostram a viabilidade do emprego da transglutaminase em bebida láctea com alta concentração de soro líquido como alternativa tecnológica ao uso de espessantes e/ou estabilizantes.

Referências

BONISCH, M.P.; HUSS, M.; LAUBER, S.; KULOZIK, U. Yoghurt gel formation by means of enzymatic protein cross-linking during microbial fermentation. *Food Hydrocolloids*, v.21, n.4, p. 585-595, 2007.

BOSCH, J. R. *Concentração e purificação das proteínas do soro de queijo por ultrafiltração*. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento de Processo) – Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Inspeção de Produto Animal. Instrução Normativa nº 16, de 23 de agosto de 2005. Aprova o Regulamento técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*. Brasília, DF, 24 de agosto de 2005. Seção 1, p. 7.

CARVALHO, G.R. LEITE, J. L. B.; SIQUEIRA K. B. Perspectivas para o mercado mundial de lácteos. In: LEITE, J. L. B. et al. (Ed.). *Comércio Internacional de Lácteos*. 2. ed. rev. E ampl. Juiz de Fora: *Embrapa Gado de Leite*, 2009.

CHATTERTON, D. E. W. et al. Bioactivity of β -lactoglobulin and α -lactalbumin: technological implications for processing. *International Dairy Journal*, v. 16, n. 11, p. 1229-1240, 2006.

COLLAR, C.; BOLLAÍN, C.; ANGIOLONI, A. Significance of microbial transglutaminase on the sensorial, mechanical and crumb grain pattern of enzyme supplemented fresh pan breads. *Journal of Food Engineering*, v. 70, p. 479-488, 2005.

DONDERO, M.; FIGUEROA, V.; MORALES, X.; CUROTTO, E. Transglutaminase effects on gelation capacity of thermally induced beef protein gels. *Food Chemistry*, in press, 2006. LORAND, L. Transglutaminase: Remembering Heinrich Waelsch. *Neurochemistry International*, v. 40, p. 7-12, 2002.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa em Gado Leiteiro. *Informações técnicas. Estatísticas do leite. Produção, Industrialização e Comercialização*. Brasília, DF: EMBRAPA, [20--]. Disponível em: <<http://www.cnpgl.embrapa.br>>. Acesso em: 19 mar. 2012.

FARIA, D dos. S. *Estudos dos efeitos de transglutaminase em bebida láctea fermentada com alto conteúdo de soro*. Dissertação. (Mestrado em Análise e otimização de processo) – Instituto Mauá, São Caetano do Sul, 2010.

GAUCH, C. *Polimerização de proteínas do soro de leite por transglutaminase e propriedades físicas de iogurte elaborado após tratamento enzimático*. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

MALHEIROS, G. C. *Estudo de alteração de cor e de degradação de clorofila durante armazenagem de erva-mate tipo chimarrão*. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Setor de Tecnologia da Universidade Federal de Santa Maria, RS, 2007.

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

OLIVEIRA, V. M. *Formulação de bebida Láctea fermentada com diferentes concentrações de soro de queijo, enriquecida com ferro: caracterização físico-química, análises bacteriológicas e sensoriais*. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2006.

SANCHEZ, D. B. O. *Empenho reológico e entálpico da massa de pão com amido resistente do milho e transglutaminase*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade de São Paulo, SP, 2009.

SANTOS, C.T. et al. Influência da concentração de soro na aceitação sensorial de bebida láctea fermentada com polpa de manga. *Alimentos e Nutrição*, v.19, n. 1, p.55-60, 2008. Disponível em: <<http://200.145.71.150/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/199/204>>. Acesso em: 20 ago. 2013.

SILVA, S. V. *Desenvolvimento de iogurte simbiótico*. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade de Santa Maria UFSM, Santa Maria-RS, 2007.

SINGH, H. Modifications of food proteins by covalent crosslinking. *Trends Food Science & Technology*, v. 2, p. 196-200, 1991.

THOMOPOULOS, C.; TZIA, C.; MILKAS, D. Influence of processing of solids-fortified milk on coagulation time and quality properties of yogurt. *Milchwissenschaft*, v. 48, n.8, p.426-430, 1993.

ZENEON, O.; PASCUCT, N. S.; TIGLEA, P. *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

Artigo recebido em: 22 dez. 2013

Aceito para publicação em: 13 jun. 2014