



LAÍS NASCIMENTO BUENO

**DETERMINAÇÃO DO PODER COAGULANTE DE ENZIMAS
PROTEOLÍTIICAS EXTRAÍDAS DE SEMENTES DE GIRASSOL E SUA
UTILIZAÇÃO COMO COALHO VEGETAL NA FABRICAÇÃO DO
QUEIJO MINAS FRESCAL**

INCONFIDENTES-MG

2017

LAÍS NASCIMENTO BUENO

**DETERMINAÇÃO DO PODER COAGULANTE DE ENZIMAS
PROTEOLÍTICAS EXTRAÍDAS DE SEMENTES DE GIRASSOL E SUA
UTILIZAÇÃO COMO COALHO VEGETAL NA FABRICAÇÃO DO
QUEIJO MINAS FRESCAL**

Projeto Final de Curso apresentado como pré-requisito de conclusão do curso de Engenharia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais Campus Inconfidentes para obtenção do título de Engenheira de Alimentos.

Orientadora: DSc. Ana Cristina Ferreira Moreira da Silva

INCONFIDENTES-MG

2017

LAÍS NASCIMENTO BUENO

**DETERMINAÇÃO DO PODER COAGULANTE DE ENZIMAS
PROTEOLÍTICAS EXTRAÍDAS DE SEMENTES DE GIRASSOL E SUA
UTILIZAÇÃO COMO COALHO VEGETAL NA FABRICAÇÃO DO
QUEIJO MINAS FRESCAL**

Data de aprovação: 27 de outubro de 2017

Ana Cristina Ferreira Moreira da Silva: IFSULDEMINAS

Mariana Borges de Lima Dutra: IFSULDEMINAS

Eduardo de Oliveira Rodrigues: IFSULDEMINAS

INCONFIDENTES-MG

2017

RESUMO

A produção leiteira do Brasil é uma das maiores do mundo, gerando empregos nas áreas rurais e urbanas. Grande parte do leite produzido é beneficiada em laticínios, obtendo produtos como iogurte e queijos. A crescente produção de queijos a nível mundial faz com que se diminua a disponibilidade de quimosina, coagulante utilizado na fabricação de queijos devido a sua grande eficácia. Com isso, este trabalho teve como objetivo principal avaliar a força coagulante de enzimas extraídas de sementes de girassol, obtendo um coalho vegetal (CV) a fim de substituir totalmente o coalho animal (CA) na fabricação de queijo Minas Frescal feito com leite de vaca, podendo ser consumido por indivíduos com restrições alimentares (como vegetarianos e na alimentação *kosher*). Os efeitos das enzimas na coagulação foram avaliados no rendimento, no âmbito sensorial e de composição centesimal, comparando os queijos produzidos com CA e CV, verificando se é possível a substituição do CA pelo CV e quais seriam os efeitos causados pelo CV no queijo Minas Frescal, utilizando o mesmo procedimento para ambos os queijos. Encontrou-se a força coagulante de 1:11,11 para o CV, que é um valor inferior quando comparado ao valor da força de 1:90.000 do CA utilizado. O rendimento do queijo fabricado com CV foi 13,3 Kg para 100L utilizados, e para o CA 16,6 Kg; enquanto o queijo produzido com CV obteve um maior custo final com 28,35 R\$/Kg e o com CA 17,25 R\$/Kg. Nas análises centesimais, em relação ao parâmetro cinzas o queijo com CV não apresentou diferença estatística em relação com ao CA, mas apresentou para umidade, proteínas e extrato etéreo. Essas diferenças podem ser explicadas pela atividade proteolítica das enzimas, pelo meio a que foram submetidas e pela quantidade de extrato que foi utilizado. Apesar da grande quantidade de CV que poderia ter apresentado sabor amargo, o queijo com CV não apresentou diferença sensorial em relação ao CA comparando o resultado do teste triangular, ao nível de 5%, onde apenas 27 dos 80 provadores acertaram qual queijo era diferente, mostrando que a alta quantidade de coalho não interferiu nas características principais do Minas Frescal, como sabor, cor e textura. É possível, então, a fabricação de Minas Frescal com a substituição total do CA pelas enzimas proteolíticas extraídas de sementes de girassol.

Palavras-chaves: enzimas proteolíticas, girassol, coagulação, Minas Frescal, lactovegetariano, *kosher*.

ABSTRACT

Brazil's milk production is one of the largest in the world, generating jobs in rural and urban areas. Much of the milk produced is benefited in dairy products, such as yogurt and cheese. The growing cheese production worldwide decreases the availability of chymosin, a coagulant used in the manufacture of cheese because of its great effectiveness. The objective of this work was to evaluate the coagulant strength of enzymes extracted from sunflower seeds, obtaining a vegetable rennet (CV) in order to completely replace the animal rennet (CA) in Minas Frescal cheese made from cow's milk, and can be consumed by individuals with food restrictions (such as vegetarians and kosher food). The effects of the enzymes in the coagulation were evaluated in the sensory and centesimal composition, comparing the cheeses produced with CA and CV, verifying if it is possible to substitute the CA for the CV and what would be the effects caused by the CV in the cheese Minas Frescal, using the same procedure for both cheeses. The coagulant strength of 1: 11.11 was found for CV, which is a lower value when compared to the force value of 1: 90,000 AC used. The yield of the cheese made with CV was 13.3 kg for 100L used, and for the CA 16,6 kg; while the cheese produced with CV obtained a higher final cost with 28.35 R \$ / kg and the one with CA 17.25 R \$ / kg. In the centesimal analyzes, in relation to the ash parameter, the cheese with CV did not present statistical difference in relation to the CA, but presented for moisture, proteins and ethereal extract. These differences can be explained by the proteolytic activity of the enzymes, by the medium to which they were submitted and by the amount of extract that was used. Despite the large amount of CV that could have presented a bitter taste, the CV cheese did not present a sensory difference in relation to the AC comparing the triangular test result, at the level of 5%, where only 27 of the 80 testers agreed which cheese was different, showing that the high rennet amount did not interfere with the main characteristics of Minas Frescal, such as flavor, color and texture. It is possible, then, the manufacture of Minas Frescal with the total substitution of CA by the proteolytic enzymes extracted from sunflower seeds.

Keywords: proteolytic enzymes, sunflower, coagulation, Minas Frescal, lactovegetarian, *kosher*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. JUSTIFICATIVA	2
1.2. OBJETIVO GERAL.....	3
1.3. OBJETIVOS ESPECIFICOS	3
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. LEITE: A MATÉRIA-PRIMA.....	4
2.2. A PRODUÇÃO DE QUEIJOS A NÍVEL NACIONAL.....	6
2.3. ENZIMAS NO PROCESSO DE COAGULAÇÃO (ATUAÇÃO)	6
2.4. GIRASSOL (<i>Helianthus annuus L.</i>).....	9
2.5. ALIMENTAÇÃO VEGETARIANA E <i>KOSHER</i>	10
3. MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1. ORIGEM DAS SEMENTES E PREPARO DO EXTRATO COAGULANTE	13
3.2. ANÁLISE DO PODER COAGULANTE.....	14
3.3. FABRICAÇÃO DOS QUEIJOS MINAS FRESCAL, RENDIMENTO E CUSTO.....	14
3.4. ANÁLISE SENSORIAL.....	15
3.5. ANÁLISES CENTESIMAIS	16
3.5.1. Umidade.....	17
3.5.2. Cinzas	17
3.5.3. Proteínas	17
3.5.4. Extrato etéreo	17
4. ANÁLISE DE DADOS	18
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
5.1. FORÇA COAGULANTE.....	19
5.2. RENDIMENTO E CUSTO	21
5.3. ANÁLISE SENSORIAL.....	22
5.4. ANÁLISE CENTESIMAL.....	23
6. CONCLUSÕES	25
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

DEDICO

Aos meus amados pais, Célio e Jucilene, por serem meu pilar;

À minha irmã, Lívia, pelo companheirismo;

Aos meus familiares, que sempre me deram apoio e torceram por mim;

Ao senhor Luis Gonzaga e sua esposa Magali, que se tornaram minha família de coração.

Ao irmão Ita, que nas incertezas, indicou-me o caminho correto.

AGRADECIMENTOS

Sempre agradeço a Deus, por ter me presenteado com o dom da vida, pela família que tenho e por estar sempre ao meu lado guiando os meus passos.

Agradeço imensuravelmente aos meus pais, Célio Ricardo Bueno e Jucilene Aparecida do Nascimento Bueno, meus exemplos de vida, amor, compreensão, simplicidade e de honestidade. Obrigada por terem colocado suas filhas sempre em primeiro plano, superando todas as dificuldades e obstáculos que apareceram. Esta conquista é nossa!

Agradeço à minha professora e orientadora Ana Cristina Ferreira Moreira da Silva, pela confiança na realização deste trabalho, pelos conhecimentos ministrados em sala de aula e pelo carinho demonstrado durante toda a graduação.

Agradeço à técnica do setor de laticínios, Fernanda Pinheiro Coutinho, pelo auxílio e pelos conhecimentos compartilhados durante a realização da fabricação dos queijos, pelo carinho, dedicação, cuidado e atenção durante todos os períodos em que fui bolsista no setor.

Agradeço ao técnico do laboratório, Eduardo, pela paciência e grande ajuda nas realizações das análises feitas para este trabalho.

Agradeço ao senhor Luis Gonzaga, sua esposa Magali e seus filhos, pelo apoio ao longo da graduação, por terem me acolhido e considerado como parte da família, por cuidarem e olharem por mim. Vocês sempre serão lembrados com muito carinho.

Aos meus colegas de graduação, à Natália dos Reis Rezende pela boa vontade em ajudar no que fosse preciso sem esperar nada em troca, e em especial ao Caio Pereira da Silva, Danilo Tadeu Matos e Lucas Miranda Nunes, que se tornaram meus irmãos pra vida toda. À Ana Clara da Cruz Silva e ao Felipe Liyutaro Horie, por serem amigos para todas as horas, principalmente nas mais difíceis.

Ao IFSULDEMINAS – *Campus* Inconfidentes, por ter sido minha casa durante a graduação, por me proporcionar conhecimentos além de sala de aula, a oportunidade do intercâmbio estudantil no Instituto Politécnico de Bragança em Portugal, a graduação, por fazer parte da construção do ser humano melhor que hoje sou. A minha eterna gratidão a TODOS os professores e funcionários que aqui tive a honra e o privilégio de conhecer e conviver, que passaram pela minha vida, e que além do conhecimento, trouxeram energias salutares.

“Toda boa dádiva e todo dom perfeito vêm do alto” (Tiago 1:17)

*“Disse a flor para o pequeno príncipe: é preciso que eu suporte duas ou três
larvas se quiser conhecer as borboletas.”
(Antoine de Saint-Exupéry)*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Modelo de ficha utilizada para o teste triangular.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Período necessário para a formação dos primeiros coágulos em 1L de leite a 35 °C e a quantidade de coalho vegetal utilizada.

Tabela 2 - Ingredientes utilizados para a fabricação dos queijos com CA e CV e seus respectivos rendimentos.

Tabela 3 - Valores médios encontrados em matéria integral para queijos produzidos com CA e CV em porcentagem e valores de $p(T \leq t)$ bi-caudal encontrados no teste t de *Student* para os parâmetros avaliados e os respectivos coalhos utilizados.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACOES

CA – coelho animal;

CV – coelho vegetal,

vs. – *versus*.

1. INTRODUÇÃO

A produção leiteira do Brasil mantém um grande grupo de indústrias que beneficiam sua matéria-prima em muitos derivados, como iogurtes, manteigas e queijos. O setor de laticínios é responsável por oferecer emprego a um grande grupo de pessoas, antes e depois do beneficiamento, tanto da zona rural quanto da zona urbana, desenvolvendo também o perfil econômico-social das regiões onde são instalados. O consumo de queijos vem crescendo nas últimas décadas, e os queijos já conquistaram seu espaço na mesa do povo brasileiro, tanto pelo sabor quanto pela qualidade nutricional, além de ter fácil acesso econômico, sendo consumido por várias classes sociais em todas as regiões do país (SEBRAE, 2014).

A busca por novas tecnologias e novos produtos vem aumentando a cada dia, onde o consumidor se mostra com papel fundamental com suas novas exigências, fazendo com que o mercado corresponda cada vez mais às expectativas dos consumidores (LAGE et al., 2009).

As enzimas utilizadas na coagulação de queijos são, na sua maioria, de origem animal (quimosina), sendo retiradas da quarta câmara do estômago dos ruminantes por possuírem melhor desenvoltura e resultado no processo de fabricação de queijos. Devida à grande produção de queijos no território brasileiro e mundial, houve a necessidade de se investigar novas possibilidades para o processo de coagulação, já que se diminuiu a disponibilidade quimosina a nível mundial (ANTUNES et al, 2004).

Fontes vegetais de enzimas proteolíticas capazes de coagularem o leite sem alterar bruscamente o produto final se colocam como alternativas ao coalho de natureza animal. As

fontes vegetais são renováveis e muitas vezes de fácil acesso, marcando ponto positivo para sua utilização. A ação das enzimas proteolíticas depende de vários fatores, como o pH e temperatura do meio que se encontram, tipo de substrato e sua origem. Umas apresentam maior atividade proteolítica que outras, e essa diferença caracteriza a qualidade das enzimas, sendo cada grupo de enzimas selecionados para o processo de acordo com o comportamento que apresentarem durante o processo e o resultado no produto final (LIMA, 2006).

Restrições dietéticas influenciam em todo o funcionamento do organismo. Os queijos coagulados com extratos vegetais são classificados como queijos lactovegetarianos e *kosher*, podendo ser consumidos por pessoas com restrições alimentares, sendo estas por fatores psicológicos ou emocionais, econômicos, biológicos, sociais e culturais, aumentando a ingestão energética, evitando com que os indivíduos com restrições alimentares possam ter desnutrição, acarretando outras doenças relacionadas com a má ingestão de nutrientes (VIANA, 2002; VIANA et al., 2008).

1.1. JUSTIFICATIVA

O presente projeto final de curso teve por finalidade avaliar o desempenho da atividade de enzimas proteolíticas obtidas a partir de sementes de girassol (*Helianthus annuus L.*), utilizando-as como coagulante vegetal exclusivo na fabricação de queijo Minas Frescal. No início do trabalho, todo resultado obtido da ação das enzimas não era conhecido, sabia-se apenas que tinham ação proteolítica. Pesquisas realizadas durante o trabalho mostraram que o uso dessas enzimas na fabricação de queijos torna-os lactovegetarianos e *kosher*, que são produtos que seguem as leis judaicas alimentícias, onde o queijo de leite de vaca coagulado pela quimosina não pode ser consumido. Diante disso, substituir a quimosina pelas enzimas proteolíticas obtidas a partir de sementes de girassol foi a principal proposta deste trabalho, visando atender dietas restritas como a *kosher*, introduzindo uma nova proposta de produto que segue padrões religiosos milenares, ampliando as opções de linha de pesquisas que envolvam proteases de origem vegetal na área alimentícia e em outras reações bioquímicas que utilizam enzimas proteolíticas durante o processo.

1.2. OBJETIVO GERAL

Avaliar o poder coagulante de enzimas obtidas a partir de sementes de girassol na fabricação de queijo Minas Frescal, a fim de substituir o coalho animal, obtendo um produto lactovegetariano e também *kosher*.

1.3. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar o poder coagulante de enzimas obtidas a partir de sementes de girassol e utilizar o coalho extraído na fabricação de queijo Minas Frescal substituindo o coalho animal (CA) pelo coalho vegetal (CV) obtido.
- Comparar os queijos produzidos com CA e CV a nível centesimal a fim de obter o rendimento.
- Avaliar sensorialmente o queijo Minas Frescal produzido com o CV em comparação ao produzido com CA através do teste triangular.
- Analisar se o queijo produzido com CV se enquadra na legislação brasileira.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. LEITE: A MATÉRIA-PRIMA

A elaboração de queijos se estende desde a produção do leite até o produto finalizado, onde cada etapa da fabricação tem sua importância para um produto final de qualidade (FURTADO, 1991).

O leite é a matéria-prima necessária para a fabricação de queijos. Sua composição pode variar de acordo com a raça, a idade do animal e do estágio de lactação. O tipo de alimentação e o clima também vão interferir na composição do leite. Quando se trata de fabricação de queijos, os leites caseiros são ideais, pois apresentam quantidade de caseínas superior à quantidade de outras proteínas presente no leite, como o leite de vaca, cabra e ovelha (CORRÊA et al., 2002).

O setor leiteiro do Brasil cresce a cada ano, ocupando, em 2010, a quinta posição no ranking mundial dos países com maiores produções de leite. Em 2011, a produção foi de 32,1 bilhões de litros, e já em 2015 atingiu a casa dos 35 bilhões de litros de leite produzidos no ano. Além disso, é o setor que mais gera empregos no país, com mais de 4 milhões de pessoas atuando no campo e nas indústrias de beneficiamento. O preço do leite para o produtor sofreu um recuo de 4,5% no primeiro trimestre de 2017, quando comparado ao trimestre anterior. Já para o consumidor final, o preço do leite teve um aumento de 1,86% no mesmo período (IBGE, 2017).

Apesar de ser um grande produtor, a qualidade do leite produzido ainda é inferior de outros países, como os Estados Unidos, fazendo com isso impeça a exportação (COSTA, 2011). Como o leite não se encaixa nos padrões europeus e norte americano, grande parte da exportação tem como destino países africanos e sul americanos (LABOISSIÈRE, 2010).

O leite de vaca é um alimento natural com alto valor nutricional, comercializado em larga escala e de fácil acesso, podendo ser encontrado com modificações para enriquecer ou reduzir a quantidade de nutrientes, se adequando a várias dietas (são exemplos: sem lactose, sem colesterol; enriquecidos com cálcio, vitaminas e ferro). No leite *in natura*, cerca de 80% das proteínas totais são as caseínas, que além da principal função estrutural óssea no organismo, elas têm papel fundamental no processamento de derivados como o queijo (LOPEZ, 2003).

O queijo é resultado da separação em partes do soro, presente nos soros lácteos ou no leite, sendo este integral, semi-desnatado ou totalmente desnatado, dependendo das características do produto que se deseja obter. Essa separação é feita de modo físico, onde o coalho, que é constituído por enzimas específicas ou ácidos orgânicos, sendo ou não combinados, faz a coagulação das proteínas presentes no meio. Após a coagulação, tem-se a massa, onde se encontram as gorduras com vitaminas lipossolúveis e as caseínas que foram precipitadas pela ação do coalho; e o soro composto com proteínas solúveis, água, vitaminas hidrossolúveis, lactose e os minerais presentes no leite (DUNKER et al, 2008).

As proteínas de destaque no leite são as caseínas, que estão presentes no leite em vários tipos (alfa, beta, gama, kappa); e as proteínas presentes no soro, sendo algumas delas β -lactoglobulina, α -lactoalbumina, soroalbumina bovina, imunoglobulinas (ANEMA; LEE; KLOSTERMEYER, 2006). Com o aumento do teor protéico, tem-se também aumento da produção total do leite (e isso não é válido quando se tem o aumento do teor de gordura). A concentração de proteínas vai depender, além das características físicas do animal, da fase de lactação em que ele se encontra, sendo menor no início e aumentado após três meses (CARVALHO et al., 2002).

A qualidade e as características do produto final estão diretamente ligadas a dois fatores primordiais: à escolha feita do coalho utilizado no processo e à qualidade da matéria-prima, o leite. O coalho vai agir nas proteínas presentes, através do processo de hidrólise com a quebra das proteínas, formando a rede proteica. Quando a quebra das proteínas é feita em excesso, o queijo pode apresentar um menor rendimento e sabor amargo que não é característico e nem desejado no produto. O excesso da hidrólise também faz com que a vida

de prateleira do queijo seja reduzida, e no caso do Minas Frescal que é um produto com cerca de 10 dias de validade quando não se tem conservantes adicionados, isso se torna um problema (FOX, LAW, 1991; FOX, 1997).

2.2. A PRODUÇÃO DE QUEIJOS A NÍVEL NACIONAL

O setor das indústrias de laticínios tem a produção de queijos como uma das atividades mais importantes, onde um dos tipos mais produzidos e consumidos no Brasil é o queijo Minas Frescal, tendo a produção desse queijo concentrada nas regiões Sul e Sudeste, principalmente nas indústrias de porte pequeno e médio (PINTO et al., 1996).

O queijo Minas Frescal é um produto muito popular, sendo consumido em larga escala por toda a população, e vem ganhando novas formulações no decorrer dos anos, como a versão *light*, por exemplo (ZARBIELLI et al, 2004; SANGALETTI et al, 2009).

Nas últimas décadas, o queijo Minas Frescal tem crescido seu espaço e ocupa o terceiro lugar na produção brasileira, aumentando a produção de 25.900 para 30.000 toneladas entre os anos de 2000 e 2005. Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Queijos (ABIQ), o queijo minas frescal é o terceiro queijo mais produzido no Brasil, atrás apenas dos tipos mussarela e prato (ABIQ, 2014).

O queijo Minas Frescal é um queijo caracteristicamente mineiro que é consumido em todo o território nacional. É um queijo de massa crua, de muita alta umidade, apresentando um teor mínimo de 55% de umidade (FURTADO, 1991), sendo regido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) pela Portaria nº 352 de 04 de setembro de 1997 e é complementada pela Instrução Normativa nº 4, de 01 de março de 2004. Por definição, o queijo Minas Frescal consiste em um produto fresco “obtido por coagulação enzimática do leite com coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não com ação de bactérias lácticas específicas”. É classificado como um queijo semigordo (apresentando entre 25-44,9% de gordura na matéria seca) e como de muita alta umidade (com o mínimo de 55%) pela Portaria nº 352/97 (BRASIL, 1997b; 2004).

2.3. ENZIMAS NO PROCESSO DE COAGULAÇÃO (ATUAÇÃO)

As enzimas são proteínas que são produzidas por todos os organismos vivos, sem exceção. Elas agem como catalisadores seletivos nas reações químicas, acelerando os

processos cruciais na vida, como nos processos de respiração e digestão e na preservação dos tecidos. Agem em condições moderadas, sendo ideais para serem usadas nas tecnologias alimentícias, modificando a matéria-prima sem destruir os nutrientes e compostos de grande importância presentes nos alimentos (FOOD INGREDIENTES BRASIL, 2011).

No setor alimentício, as enzimas proteolíticas são muito utilizadas nos processos de amaciamento de carne e também na clarificação de cerveja (CHAMBERS et al, 1998).

As enzimas são eficazes na reação com alguns substratos presentes nas células, dando formação a complexos ou a compostos que possuem ligações covalentes, apresentando assim, atividade biológica. Tal atividade dependerá de como a proteína se configura, levando em consideração o modo em que as cadeias peptídicas se agrupam na molécula e da origem do substrato (FOOD INGREDIENTES BRASIL, 2009).

O modelo mais aprovado diz que as micelas de caseínas são formadas por submicelas de forma esférica, estando conectadas por pontes de fosfato de cálcio coloidal. Na parte central das submicelas estão as caseínas, agrupadas por interações hidrofóbicas. A k-caseína dispõe-se na parte superficial das micelas com o segmento terminal mais hidrófobo, interagindo com a parte central da submicela, enquanto o segmento do C-terminal, mais hidrófilo, faz interações com o meio aquoso presente ao redor das micelas. As submicelas que possuem menor concentração de k-caseína se situam na parte mais interna da micela, enquanto as que possuem maior concentração se encontram no contorno da micela. Para a estabilidade das micelas são importantes a carga de superfície (potencial Zeta de -15 a -20 mV), a organização e o tamanho dos átomos da parte hidrofílica presentes na k-caseína, a presença de resíduos contendo glicose e a hidratação. A desestabilização das micelas pode ocorrer por fatores físico-químicos, como elevação de temperatura e acidificação, ou por enzimas proteolíticas, de um modo físico. Na primeira fase de produção do queijo utiliza-se mais o processo enzimático. Nesta etapa, k-caseína sofre o processo de hidrólise, liberando a parte que tem compatibilidade com o meio aquoso. A remoção da ligação Phe105- Meti106 da k-caseína, pelo processo de hidrólise, faz com que as micelas se interajam mais facilmente, fazendo com que ocorra o agrupamento delas (BOLETIM DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE QUÍMICA, 1994).

A função primordial de qualquer coagulante é fazer com que haja a coagulação do leite. Os efeitos de tal coagulação podem ser diversos, e vão depender do tipo de coagulante utilizado, que pode ser constituído de diferentes enzimas, isoladas ou agrupadas, e das condições em que o leite se encontra, sendo influenciada por fatores como temperatura e

acidez. Os coalhos encontrados comercialmente são diferenciados pela sua pureza bacteriológica, pelo poder de conservação que apresentam e pela sua força de coagulação (LIMA, 2006).

Os microrganismos proteolíticos têm como função a ruptura das proteínas. Promovem modificações nas características da matéria-prima, sendo desejadas ou não, como mudanças no aroma, no sabor e nas características físico-químicas dos leites e de seus derivados. Apesar de a presença de microrganismos exclusivamente proteolíticos não ser apetecível, algumas bactérias lácticas possuem atividade proteolítica positiva, que é positiva e tem valia na maturação dos queijos. A esse conjunto pertencem os *Bacillus*, *Achromobacter*, *Pseudomonas* e *Flavobacterium*. Junto a esses microrganismos, e normalmente não desejados da mesma forma, são encontrados os lipolíticos (aqueles capazes de realizar a quebra das moléculas de gordura), resultando como principal problema o ranço nos queijos. No grupo dos lipolíticos encontram-se microrganismos como *Alcaligenes* e também alguns fungos, como *Geotrichum* e *Candida* (PERRY, 2004).

A coagulação enzimática é feita utilizando enzimas que agem na parte proteica do alimento, e são encontradas no comércio em forma de soluções que são denominadas de coalho. O coalho é constituído por enzimas, e são elas que fazem a hidrólise das caseínas, mais especificamente, a fração protéica k-caseína, sendo que esta fração é a que estabiliza a formação das micelas e também previne a coagulação do leite. A coagulação do leite corresponde à transformação de um coágulo firme, chamada de coalhada, através de mudanças físico-químicas das micelas de caseína, durante um período. Isso pode ocorrer através da acidificação do meio, por ação de algumas enzimas que podem agir sozinhas ou em misturas que estão presentes no coalho. São dois processos diferentes, e, portanto, podem resultar em queijos totalmente distintos. As enzimas capazes de realizar a coagulação do leite provêm de várias origens, sendo animal e vegetal duas dessas origens (CAVALCANTE, 2004).

Para a fabricação de queijos, o coalho de origem animal mais adequado é o de bezerro ou vitelo, devido à alta quantidade de quimosina presente. As proporções de quimosina e pepsina presentes no abomaso e em outros tecidos do estômago do animal vão variar tanto de acordo com a idade quanto com a alimentação do animal. Em animais mais jovens, a composição é normalmente entre 80 e 90% de quimosina e entre 10 e 20% de pepsina; já em animais adultos, a quantidade de pepsina é em torno de 90% (ANTUNES et al., 2004).

Apesar de a pepsina bovina ser mais proteolítica que a quimosina, ela é menos específica que a quimosina, e em condições favoráveis a pepsina pode fazer de maneira excessiva a hidrólise, tendo como conseqüências menor rendimento e um sabor amargo nos queijos (DORNELLAS, 1997).

A quantidade de quimosina que se consegue obter diretamente dos bezerros é inferior à demanda das indústrias, e como a maioria das enzimas proteolíticas encontradas em outras origens de coalhos não se comportam de maneira adequada para a fabricação de todos os tipos de queijos (por possuírem maior atividade proteolítica e menor especificidade que a quimosina), parte da quimosina consumida é feita em laboratórios utilizando fungos, bactérias e leveduras (com um processo semelhante ao da fabricação de insulina) (BASSO; SEOLIN, s/d).

Um queijo produzido com um coalho constituído totalmente por quimosina apresenta melhores características, pois esse coalho tem especificidade maior e uma atividade proteolítica menor (DORNELLAS, 1997).

Existem muitos extratos vegetais que têm a capacidade de coagular o leite, mas alguns deles são sobejamente proteolíticos, como a papaína e a bromelina (presentes na *Carica papaya* e no *Ananas sativa*, respectivamente). (BASSO; SEOLIN, s/d)

Um dos coagulantes mais utilizados na fabricação de queijos é o extrato de *Cynara cardunculos*, que é composto pela enzima cinarase. Este extrato é amplamente utilizado em queijos artesanais portugueses, como o Serra e o Serpa (ANTUNES *et al*, 2004).

Novos tipos de coalhos vêm sendo investigados e são várias as razões para que novos coalhos sejam empregados na fabricação de queijos. Houve um grande aumento na produção leiteira nos últimos anos e também houve aumento na produção mundial de queijos, conseqüentemente, ocorreu a diminuição da disponibilidade do coalho animal. Além disso, os preparos comerciais de enzimas coagulantes não contém apenas a enzima específica, e sim um conjunto de enzimas produzidas pelo material ou organismo de origem, que podem causar efeitos não desejados nos alimentos (FOOD INGREDIENTES BRASIL, 2011).

2.4. GIRASSOL (*Helianthus annuus L.*)

O girassol (*Helianthus annuus L.*) é um tipo de cultura adaptável desde a região Sul até o hemisfério norte brasileiro, abrangendo quase todo o território nacional. Nos dias de hoje, é cultivado comercialmente nos estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, Minas

Gerais, Rio Grande do Sul e Paraná, Bahia, Ceará e Rondônia, particularmente após a cultura da soja. A produção visa atender a demanda da indústria de óleo comestível ou da agroindústria, o mercado de aves, de silos e também a produção de biodiesel. A região do Nordeste do Brasil vem investindo no cultivo do girassol em pequenas propriedades, com altas chances de êxito. Devido ao alto teor de óleo presente nas sementes, a extração do óleo pode ser feita com prensas simples, sem exigir equipamentos sofisticados, sendo centralizada nas áreas rurais (isso contribui para o desenvolvimento sustentável da agricultura familiar, agregando valor ao óleo extraído, oferecendo um óleo de qualidade elevada). Além disso, a torta de girassol que resulta da extração pode ser utilizada para a alimentação dos animais da pecuária local (é fonte de proteínas, sendo rico também em minerais como cálcio e ferro, além de possuir vitaminas do complexo B com alto valor biológico) (EMBRAPA, 2011).

A média mundial da produção de girassol é 1.300 Kg/ha, tendo a França como país de destaque na produção, com 2.500 Kg/ha. No Brasil, devido á maior oferta no mês de março, o preço médio da saca (60Kg) no início de 2017 foi inferior ao mesmo período de 2016, com redução de 3,5% (CONAB, 2017).

Como fonte de óleo alimentício, o óleo de girassol ocupa o quarto lugar em produção mundial, atrás dos óleos de palma, soja e canola. O óleo de girassol se sobressai por possuir características funcionais e nutricionais relevantes para a dieta do ser humano. Apresenta uma relação ampla entre os ácidos graxos poliinsaturados e os ácidos graxos saturados (uma média de 65%/11%). Quase toda a fração dos poliinsaturados é composta pelo ácido graxo essencial linoleico, que não é sintetizado pelo organismo e precisa ser adquirido pela alimentação. Nos últimos anos, foi adicionado no mercado o girassol alto oléico (que são ricos em ácido graxo oléico). Este ácido graxo também conhecido como ômega-9 traz benefícios à saúde, como a proteção cardiovascular e a diminuição do colesterol ruim, além de transferir para o óleo seu alto grau de estabilidade oxidativa, sendo um fator muito positivo e desejado pela indústria alimentícia, devido ao uso de calor em muitos processos (ROSSI, 1998).

2.5. ALIMENTAÇÃO VEGETARIANA E *KOSHER*

A dieta vegetariana consiste no consumo, em sua maior parte, de produtos de origem vegetal. Dentro desse tipo de alimentação, existem subdivisões. Os vegetarianos

puros, também denominados veganos, não consomem alimentos de origem animal (com exceção, em alguns casos, do mel). Os lactovegetarianos consomem leite e seus derivados, enquanto os ovolactovegetarianos incluem na sua alimentação o ovo além do leite e seus derivados (HADDAD; TANZMAN, 2003).

No Brasil, a parte da população que se diz vegetariana é de 15,2 milhões, correspondendo a 8% da população, e esse número tende a crescer nos próximos anos (IBOPE, 2012).

A alimentação *kosher* ou *kasher* é relacionada à forma de preparação e à composição dos alimentos segundo a *kashrut*, que são as leis alimentícias que os seguidores da religião judaica seguem e praticam independente do lugar onde vivem (REGENSTEIN; REGENSTEIN, 1979, 1991; LÜCK, 1994, 1995).

A religião judaica é muito severa quanto à alimentação. Não só o alimento em si a ser consumido segue às regras estabelecidas, mas também o modo como é preparado, os utensílios utilizados no preparo e algumas datas importantes como o *sabbath* (nome dado ao dia de descanso na semana judaica, que representa o dia após os seis dias da Criação, em Gênesis). Apesar de o processo kosher ser um ritual de cunho religioso, os métodos utilizados são colocados em pauta devido as condições higiênico-sanitárias com que são executados (LÜCK, 1994).

Não são apenas os judeus que consomem alimentos *kosher*, vegetarianos e pessoas alérgicas a alguns ingredientes presentes no alimento também. Muçulmanos e adventistas consomem esse tipo de alimento devido suas crenças religiosas (KOSHER, 1997).

As limitações da alimentação desse conjunto de pessoas são citadas em vários versículos na Bíblia, onde também se tem todo o capítulo 11 do livro de Levítico, titulado “Leis sobre animais limpos e os imundos”, que é citado novamente no capítulo 14 do livro de Deuteronômio entre os versículos 3 e 21, que trazem quais alimentos devem ou não ser consumidos.

Em relação ao leite e derivados na dieta kosher, no livro bíblico de Êxodo consta: “As primícias dos frutos da tua terra trarás à Casa do SENHOR, teu Deus. **Não cozerás o cabrito no leite da sua própria mãe**” (ÊXODO 23:19).

Ou seja, os queijos fabricados com o coalho e leite extraídos do animal da mesma espécie não podem ser consumidos de acordo com as leis alimentícias judaicas. Isso abre portas para que coagulantes de origem vegetal e microbiológica sejam investigados e utilizados para que esse nicho da população composta por vegetarianos e pessoas com

alimentação *kosher* possam consumir queijos de acordo com seus princípios e costumes, aumentando as opções de produtos consumidos por esse grupo, sem deixar de lado as qualidades nutricionais presentes nos queijos que trazem benefícios à saúde e as características sensoriais, que fazem parte das propriedades do produto final.

O único laticínio exclusivo da América Latina, que produz todos os produtos de acordo com os rituais *kosher*, se situa no estado de Minas Gerais (Mil Kosher). Esse laticínio produz muçarela, prato, meia cura, minas tradicional e *light* e ricota, com preços similares aos mesmos queijos não *kosher*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Bromatologia e no setor de Laticínios do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – *Campus Inconfidentes*, localizado no município de Inconfidentes/MG, no período de junho de 2017 a setembro de 2017.

3.1. ORIGEM DAS SEMENTES E PREPARO DO EXTRATO COAGULANTE

As sementes de girassol, já descascadas, foram obtidas em loja de produtos naturais no município de Passos/MG.

Primeiramente, as sementes foram lavadas para higienização com solução de hipoclorito de sódio, contendo 50 ppm de cloro ativo. Posteriormente, foram trituradas em liquidificador industrial e imersas em solução salina (1% NaCl), em uma proporção de 400 g/L. As sementes trituradas e imersas na solução salina permaneceram em descanso a 8° C por um período de 24 horas, sendo em seguida filtradas, utilizando-se filtro de papel (café) (PEREIRA et al., 2010). O extrato obtido da filtração foi utilizado para determinação da atividade coagulante, e posteriormente para a produção do queijo Minas Frescal.

3.2. ANÁLISE DO PODER COAGULANTE

Para os testes de coagulação e para a fabricação do queijo utilizou-se o leite cedido pelo setor de Laticínios do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – *Campus* Inconfidentes.

A força do coalho é determinada, em um primeiro passo, obtendo a quantidade de tempo que 1mL do coalho precisa para formar os primeiros coágulos em 1L de leite a 35 °C.

O queijo fabricado no setor de Laticínios do IFSULDEMINAS – *Campus* Inconfidentes é coagulado por um período de 40 minutos, e para poder compará-lo ao queijo fabricado com CV utilizou-se o mesmo tempo de coagulação para que este tempo não interferisse na atividade das enzimas, interferindo então no processo de coagulação e nas análises dos resultados.

Com isso, partiu-se do experimento feito por PEREIRA et al., 2010, pela Embrapa Caprinos e Ovinos, que encontrou o valor de 75mL do extrato coagulante obtido a partir de sementes de girassol para coagular 1L de leite de cabra em 60 minutos, para estabelecer o poder coagulante das enzimas proteolíticas obtidas de sementes de girassol por um tempo de 40 minutos a 35 °C.

3.3. FABRICAÇÃO DOS QUEIJOS MINAS FRESCAL, RENDIMENTO E CUSTO

Os queijos com CA e CV foram processados no mesmo dia e da mesma forma, com a mesma quantidade de leite, ácido láctico e cloreto de cálcio, substituindo apenas o coalho animal pelo extrato coagulante vegetal obtido das sementes de girassol.

Foram utilizados 100L de leite para cada tipo de coalho, totalizando 200L. Pasteurizou-se o leite (a 72 °C por 15 segundos), a fim de reduzir os microrganismos patogênicos e deteriorantes que poderiam estar presentes na matéria-prima.

Para a produção dos queijos, o leite pasteurizado foi aquecido a 35 °C, em tanque a vapor com capacidade para 500L. Aos 100L de leite, assim que atingiram 35 °C, foram adicionados 25mL de ácido láctico e 40mL de cloreto de cálcio. Agitou-se o leite para que os ingredientes fossem distribuídos de forma homogênea. Em seguida, adicionou-se o coalho, sendo utilizado 2g de coalho animal diluídos em 2mL de água (conforme recomendação do fabricante) para a formulação utilizada pelo laticínio e 9L do extrato coagulante obtido das sementes de girassol (quantidade estabelecida pelo teste de coagulação). Agitou-se

rapidamente para a homogeneização. Após 40 minutos, as massas foram cortadas com o auxílio de uma lira vertical. Em seguida, foram homogeneizadas por aproximadamente 15 minutos, para que o soro saísse da massa (processo de sinérese). As massas foram colocadas em formas plásticas próprias para queijo Minas Frescal (forma redonda com fundo em tela para queijos de até 500g, medidas internas de 102mm de diâmetro e 119mm de altura). Os queijos foram virados nas formas após 10 minutos e aguardaram-se mais 10 minutos para que os queijos fossem salgados. Na salga, os queijos ficaram por 30 minutos e utilizou-se salmoura na concentração de 22% de sal, para compensar as impurezas do sal.

Após a salga, os queijos foram pesados, e em seguida foram embalados unitariamente em embalagens plásticas a vácuo, obtendo assim o rendimento da produção com cada coalho utilizado.

Na parte de custo, somou-se os valores dos ingredientes utilizados nas duas formulações e dividiu-se pelo rendimento, obtendo o valor em R\$/Kg. O custo da produção foi feito com base na diferença entre o valor da fabricação por quilo e o valor que o quilo do queijo Minas Frescal é vendido na COOPEAFI (Cooperativa da Escola Agrícola Federal de Inconfidentes), que é o destino de venda do setor de Laticínios do IFSULDEMINAS – *Campus Inconfidentes*.

O custo da produção foi somado ao valor da formulação com CV, pois foram usados os mesmos equipamentos e utensílios no processamento de ambos os queijos (com CA e CV).

O preço da embalagem foi considerado junto no preço da produção, sendo assim o valor encontrado para a produção+embalagem como preço da produção em R\$/Kg.

Considerou-se que o queijo produzido com CV tem o mesmo valor de mercado que o produzido com CA, não considerando o valor agregado que o CV confere ao produto final.

3.4. ANÁLISE SENSORIAL

Realizou-se a avaliação sensorial das amostras correspondentes ao dia seguinte do dia da produção. No preparo das amostras para realização das análises, os queijos para prova foram cortados em cubos de 1,5 cm de aresta. Depois de cortadas, as amostras de queijo em cubos foram acondicionadas em embalagens a vácuo e estas embalagens foram mantidas resfriadas até o momento da análise.

O teste triangular é utilizado quando se almeja detectar diferenças pequenas entre uma amostra e outra, como na mudança de apenas um ingrediente na formulação, por exemplo. As três amostras foram apresentadas, no mesmo momento, onde duas dessas amostras são iguais e uma diferente. A intenção é que o julgador identifique a amostra diferente, sendo a probabilidade de acerto $p=1/3$. As amostras foram apresentadas alterando a ordem entre elas, a fim de se obter novas combinações: AAB, BAA, ABA, ABB, BBA e BAB. (IAL, 2008).

As amostras foram codificadas em códigos aleatórios de 3 dígitos, servidas em copos plásticos brancos, colocados sobre bandejas brancas de isopor e foram distribuídos palitos de madeira para que os provadores pegassem as amostras. Realizou-se a análise sensorial com um total de 80 provadores, com idades entre 14 e 64 anos, de ambos os sexos.

A análise foi realizada no IFSULDEMINAS – *Campus* Inconfidentes, em cabines individuais, a temperatura ambiente (25 °C). Os avaliadores foram instruídos a realizar a análise das amostras começando da esquerda para a direita, enxaguando a boca com água entre as amostras e a identificar a amostra que diferia entre as demais, como na Figura 1.

Nome:	Idade:	
Por favor, prove as amostras da esquerda para a direita. Faça um círculo em volta do código da amostra que pareça diferente. Enxágüe a boca após cada degustação e espere 30 segundos.		
Amostras: 286	175	493

Fonte: (ABNT, NBR 12995, 1993).

Figura 1. Modelo de ficha utilizada para o teste triangular.

3.5. ANÁLISES CENTESIMAIS

As análises centesimais foram realizadas com o intuito de se comparar o queijo produzido com CV com o queijo produzido com CA no setor de Laticínios do IFSULDEMINAS – *Campus* Inconfidentes.

3.5.1.Umidade

A umidade foi determinada através do método gravimétrico 31.1.02 da AOAC (2005), com o uso de calor, onde parte da matéria integral (água) é perdida pelo aquecimento da amostra, a 105 °C, até a matéria atingir peso constante.

3.5.2.Cinzas

O resíduo mineral fixo (cinzas) foi determinado pelo método 31.1.04 da AOAC (2005), com o emprego de 550 °C, em mufla, até peso constante.

3.5.3.Proteínas

A proteína bruta foi determinada pelo método de Kjeldahl, conforme o protocolo 31.1.08 da AOAC (2005). Após a digestão da amostra com a mistura digestora e ácido sulfúrico, foi realizada a destilação e em seguida a titulação com solução de ácido clorídrico (0,02 M). Utilizou-se o valor de 6,38 como fator de conversão de nitrogênio em proteína, que é o valor utilizado para leite e derivados (CARVALHO et al., 2002; IAL,2008).

3.5.4.Extrato etéreo

Para a obtenção do extrato etéreo, foi utilizado o método 31.4.02 de Soxhlet (gravimétrico), que se baseia na perda de parte de peso do material submetido à extração com éter de petróleo (AOAC, 2005).

4. ANÁLISE DE DADOS

Os cálculos das análises centesimais dos queijos preparados com CA e CV foram feitos com o software Microsoft Office® Excel 2010 e estes resultados foram comparados entre eles pelo teste t de *Student* a 5% de probabilidade. Além disso, os resultados das análises centesimais foram comparados com a legislação, a fim de saber se o queijo produzido com CV está dentro dos padrões já estabelecidos pela legislação brasileira.

Os resultados obtidos nos métodos sensoriais do teste triangular foram analisados a 5% de probabilidade, comparando-se o número de acertos com o valor tabelado referente à 80 provadores.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. FORÇA COAGULANTE

Por meio do método de determinação do poder coagulante, não foi possível estabelecer o tempo necessário para coagular 1 litro de leite utilizando 1mL de coagulante. Com isso partiu-se do experimento feito por PEREIRA et al., 2010 para dar início aos testes de coagulação.

Tabela 1 – Período necessário para a formação dos primeiros coágulos em 1L de leite a 35 °C e a quantidade de coalho vegetal utilizada.

Teste	Quantidade de coalho (mL)	Período para coagulação (minutos)
-	1	Maior que 120
1	75	60
2	80	50
3	85	45
4	90	40

Fonte: próprio autor, 2017.

O primeiro teste foi feito com os valores encontrados PEREIRA et. al, 2010, para verificar se 75mL do extrato coagulante preparado também coagulariam 1 litro de leite de vaca em 60 minutos. Observou-se que ocorreu a coagulação para o leite de vaca, assim como no leite de cabra utilizado no estudo de PEREIRA et. al, 2010. Os testes seguintes foram feitos com o aumento da quantidade do CV, e com isso ocorrendo a diminuição do tempo de

coagulação para 40 minutos, assim como o tempo necessário para a coagulação com CA nas mesmas condições.

O segundo teste foi feito com 80mL do extrato coagulante e o tempo de coagulação encontrado foi de 50 minutos. O terceiro teste foi feito com 85mL do extrato coagulante e o tempo encontrado foi de 45 minutos.

O quarto teste conseguiu a equivalência do tempo, utilizando 90ml do extrato coagulante e se encontrou o tempo de 40 minutos, assim como o tempo utilizado na produção dos queijos Minas Frescal com o CA produzidos pelo IFSULDEMINAS – *Campus Inconfidentes*.

Após o ajuste do binômio quantidade de coalho *vs.* tempo de coagulação, fez-se a análise dos valores obtidos.

Foram necessários 90mL do CV para realizar a coagulação de 1L de leite em 40 minutos a 35 °C, portanto 1mL do CV é necessário para coagular 11,11mL, tendo a proporção 1:11,11; enquanto a proporção para o CA utilizado é de 1:90.000. Isso significa que a força coagulante do CV é menor que a força do CA, pois ele coagula menor quantidade de leite para a mesma quantidade de coalho, sendo que a condição oferecida para ambas as formulações foi a mesma (o leite utilizado nas duas formulações foi do mesmo lote, assim como o cloreto de cálcio e o ácido láctico; as condições de aquecimento e a forma com que foram feitos também foram as mesmas). Com isso, a menor atividade proteolítica do CV em relação ao CA pode ter relação com a falta de conhecimento do meio em que as enzimas têm a sua ação máxima, pois fatores do meio como pH, temperatura e quantidade de água interferem diretamente na atuação das enzimas, afetando o desempenho das enzimas durante o processo de coagulação, e isso faz com o processo tenham menor eficiência que poderia obter se as condições de atuação fossem favoráveis (LIMA, 2006).

5.2. RENDIMENTO E CUSTO

Tabela 2 - Ingredientes utilizados para a fabricação dos queijos com CA e CV e seus respectivos rendimentos.

Tipo de coalho utilizado	Quantidade de leite (L)	Quantidade de cloreto de cálcio (mL)	Quantidade de ácido láctico (mL)	Quantidade de coalho	Rendimento (Kg)
CA	100	40	25	2g	16,6
CV	100	40	25	9 litros	13,3

Fonte: Próprio autor, 2017.

Foram necessários aproximadamente 6L de leite para cada quilo de queijo com CA, enquanto para o queijo com CV foram necessários 7,5L, apresentando assim menor rendimento para o preparado com CV.

De acordo com o valor de p ($T \leq t$) para o rendimento, que é $2,24 \times 10^{-6}$, houve diferença estatística através do teste t de *Student* (para duas amostras presumindo variâncias equivalentes) ao nível de 5% de probabilidade, já que o valor de p é menor que 0,05. Essa diferença pode estar relacionada com a atividade proteolítica das enzimas, e conseqüentemente com a força do coalho, mostrando que a atividade das enzimas contidas no CV é menor que a atividade das enzimas do CA. Além disso, o menor poder coagulante do CV faz com que a rede proteica formada na coagulação também seja menor, e quanto menor for a quantidade da massa formada na coagulação menor será o rendimento do processo de coagulação.

Sabe-se que o extrato utilizado que foi obtido das sementes de girassol possui enzimas que têm poder coagulante baseado no resultado da coagulação que foi positivo. Contudo, não se conhece em quais proteínas específicas elas têm maior ação, se é somente na caseína ou também nas outras proteínas presentes no leite de vaca, o que interfere no processo de coagulação. O meio a que foram submetidas interfere diretamente na atividade proteolítica, e não se conhece o melhor meio para que sua ação seja máxima, o que também pode ter interferido na atividade proteolítica e conseqüentemente diminuindo o rendimento do processo.

O preço do quilo do Minas Frescal já produzido com CA é vendido a R\$ 17,25. Para este queijo, a soma do preço dos ingredientes utilizados foi de R\$ 12,10 para cada quilo.

A diferença entre eles foi tida como o valor de produção para 100L de leite a embalagem do produto, sendo assim R\$ 5,15 gastos para a fabricação e embalagem de cada quilo.

Para o queijo com CV, o preço dos ingredientes utilizados foi de R\$ 23,20 para cada quilo. A este valor foi acrescentado o valor de custo encontrado para a fabricação do queijo com CA. Sendo assim, R\$ 23,20 dos ingredientes usados para cada quilo somados a R\$ 5,15 do valor da fabricação junto com a embalagem por quilo, tem-se R\$ 28,35 por quilo do queijo Minas Frescal produzido com CV.

Apesar do preço final do queijo com CV ser um valor maior que do CA (64% a mais), os consumidores que possuem dietas restritas estão dispostos a pagar um valor maior por produtos diferenciados que atendam suas dietas, e isso faz com haja mercado com capital para o consumo desse queijo.

5.3. ANÁLISE SENSORIAL

Os resultados dos julgamentos obtidos foram verificados de acordo com os dados das fichas preenchidas pelos provadores durante a análise sensorial. Dos 80 julgamentos, foram obtidos 53 erros e 27 acertos. O número de acertos é menor que 35 (o número mínimo tabelado para que as amostras sejam ditas diferentes), portanto, as amostras não diferem ao nível de 5% de probabilidade pelo teste triangular, mostrando que fatores como sabor, cor e textura do queijo produzido com CV foram mantidos muito próximos do queijo produzido com CA, não apresentando diferença sensorial significativa entre eles.

Essa semelhança sensorial é um ponto positivo no resultado da ação das enzimas para a coagulação, pois o sabor amargo pode ocorrer por diversos fatores, como a qualidade do coalho (pela presença de impurezas físicas e/ou bacteriológicas), tipo de coalho (excesso da proteólise), acidez do leite (quanto mais ácido, maior a retenção do coalho na massa), temperatura de pasteurização (se maior que 73 °C, maior a presença de coalho na massa) e a qualidade do leite. O sabor amargo que o produto final apresenta pode ser mais ou menos acentuado, dependendo se foi promovido por um fator isolado ou um combinado deles.

Além desses fatores, a dose do coalho utilizada também pode causar o sabor amargo nos queijos. No queijo com CA foram utilizados 2g de coalho, enquanto no CV foram utilizados 9L. O uso do coalho em excesso faz com que ocorra o acúmulo de peptídeos amargos relacionado ao efeito residual que o coalho provoca no queijo, o que não ocorreu. O teste triangular, além de mostrar que não houve diferença dos quesitos sensoriais, mostrou

também que a quantidade de CV, apesar de ser muito maior que a de CA, não foi empregada em excesso (FURTADO, 1991).

5.4. ANÁLISE CENTESIMAL

Tabela 3 - Valores médios encontrados em matéria integral para queijos produzidos com CA e CV em porcentagem e valores de $p(T \leq t)$ bi-caudal encontrados no teste t de *Student* para os parâmetros avaliados e os respectivos coalhos utilizados.

Parâmetros	Matéria integral		Valores de $p(T \leq t)$ bi-caudal
	CA	CV	
Umidade	61,2	63,7	0,000104
Cinzas	2,9	2,4	0,169799657
Proteínas	18,1	16,5	0,037235
Extrato etéreo	14,8	13,6	0,037235

Fonte: Próprio autor, 2017.

O teor de umidade do queijo Minas Frescal produzido com CV foi maior que o produzido com CA. A quantidade do extrato coagulante utilizado pode explicar essa diferença, já que para o queijo produzido com CA foram utilizados 2g diluídos em 2mL de água enquanto para o queijo com CV foram utilizados 9L. Além disso, o menor poder coagulante do CV faz com que a rede proteica formada na coagulação também seja menor, e quanto menor for a quantidade da massa formada na coagulação maior será a umidade encontrada no produto final.

As médias para cinzas, proteínas e extrato etéreo foram menores na matéria seca para o queijo produzido com CV, provavelmente para compensar o maior teor de umidade encontrado no queijo com CV.

O teste t de *Student* (para duas amostras presumindo variâncias equivalentes) foi aplicado visando analisar se as médias encontradas nos parâmetros avaliados se diferem estatisticamente.

Se o valor de p for menor ou igual a 0,05, a diferença entre as médias analisadas é estatisticamente significativa, ou seja, elas têm diferença entre si. Se o valor de p for maior que 0,05, a diferença entre as médias analisadas não é estatisticamente significativa, ou seja, elas não têm diferença entre si. Analisando os valores de $p(T \leq t)$, não houve diferença estatística ao nível de 5% de probabilidade apenas para cinzas entre os queijos preparados

com CA e CV, enquanto houve diferença significativa para umidade, proteínas e extrato etéreo entre eles ($p \leq 0,05$)

Nas cinzas está presente o cálcio, mineral essencial para várias funções no organismo como nas estruturas óssea e dentária, em forma de fosfato (GUASTALDI; APARECIDA, 2010). O consumo de queijos se dá, no campo nutricional, por fornecer cálcio ao organismo. Como não houve diferença estatística, pode-se dizer que a substituição do CV pelo CV continua fornecendo a mesma quantidade de cálcio, principal motivo de consumo.

O queijo preparado com CV apresentou diferenças centesimais no âmbito estatístico, porém apresentou valor superior a 55% de umidade e valor médio de extrato etéreo entre 25 e 44,9% na matéria seca, tipificando-o como um queijo de muita alta umidade e semi-gordo respectivamente, estando assim nos padrões definidos pela legislação brasileira que regulamenta as características do queijo minas frescal pela Portaria nº 352, de 4 de setembro de 1997, Instrução normativa nº 4, de 1 de março 2004.

Estudos mais aprofundados sobre as enzimas proteolíticas encontradas nas sementes de girassol precisam ser feitos para caracterizá-las, tanto quantitativamente quanto qualitativamente, conhecendo suas estruturas para que processos como centrifugação e emprego de calor possam ser utilizados para concentrar as enzimas no extrato coagulante. Conhecer quais são suas condições ótimas de ação e suas especificidades também é importante para melhorar o desempenho delas e aperfeiçoar o processo de coagulação.

6. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, as enzimas proteolíticas extraídas de sementes de girassol podem ser empregadas como uma nova opção com ação na coagulação de proteínas, apesar de terem apresentado menor atividade ou poder coagulante que o CA, resultando em menor rendimento.

As enzimas presentes no CV mostraram-se com ação similar às enzimas proteolíticas de origem animal já utilizadas na coagulação protéica do leite para a fabricação de queijos, apresentando características físico-químicas semelhantes ao queijo produzido com CA.

Por não ter apresentado diferença estatística sensorial pelo teste triangular entre o queijo produzido com CV e CA, a substituição total do CA pelo CV revela que o CV pode ser utilizado na fabricação de queijo Minas Frescal, e possivelmente em outros queijos.

Apesar da utilização do CV ter mostrado diferença estatística em relação à utilização de CA, as características finais do queijo produzido com CV fazem com que este se enquadre na legislação atual brasileira para queijo Minas Frescal, podendo ser tipificado tanto como um produto lactovegetariano quanto como um produto *kosher* (de acordo com as leis alimentícias judaicas) ofertados pelo mercado, ampliando as opções para esse nicho da população.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIQ – Associação Brasileira das Indústrias de Queijo. Disponível em: <http://www.abiq.com.br.com.br>. Acesso em: 12/ 08/ 2017.

ANEMA, S.G.; LEE, S.K.; KLOSTERMEYER, H. 2006. Effect of protein, nonprotein-soluble components, and lactose concentrations on the irreversible thermal denaturation of β -lactoglobulin and α -lactoalbumin in skim milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.54, p. 7339-7348, 2006.

ANTUNES, L. A. F.; VILELA S. C.; CAMPOS, S.; DUTRA, E. R. P.; MUNCK, A. V., 2004. Critérios para escolha de um coagulante. *Ha-la biotec: Chr Hansen. Valinhos*, n. 82, 4.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. 2005. *Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists*. 18.ed. Gaithersburg, Maryland, 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12995**: Teste triangular em análise sensorial de alimentos e bebidas. Rio de Janeiro, 1993.

BASSO, A., SEOLIN, R., s/d. *Produção de queijos*. Universidade de Santa Catarina: Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos. Disponível em: http://www.enq.ufsc.br/labs/probio/disc_eng_bioq/trabalhos_grad2004/queijos/default.htm. Acesso em: 12/ 07/ 2017.

BOLETIM DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE QUÍMICA. 1994. Lisboa – Portugal p.67

BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Portaria nº 358, de 04 de Setembro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Queijo Prato. *Diário Oficial da República do Brasil, Brasília*, 08 set. 1997b. Seção 1, Página 19690.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 352 de 04 de setembro de 1997. [Aditivos no Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Queijo Minas Frescal]. Instrução Normativa nº 4, de 01 de março de 2004. Diário Oficial da República do Brasil, Brasília, 5 mar. 2004.

CARVALHO, G.F., et al. 2002. Milk yield, somatic cell count and physicochemical characteristics of raw milk collected from dairy cows in Minas Gerais state. In: Congresso Panamericano de Qualidade do Leite e Controle da Mastite. Anais... Ribeirão Preto, 2002.

CAVALCANTE, F. 2004. Produção de queijos gouda, gruyère, mussarela e prato. Trabalho de conclusão de curso, Departamento de Matemática e Física – Engenharia de Alimentos, Universidade Católica de Goiás, Goiás-Brasil, 111 pp.

CHAMBERS, L.; BROWN, A.; PRITCHARD, D. I.; SREEDHARAN, S.; BROCKLEHURST, K.; KALSHEKER, N. A. 1998. Enzymatically active papain preferentially induces an allergic response in mice. Biochemical and Biophysical Research Communications, 253: 837-840.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento – Conjuntura mensal (girassol) 2017. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_04_10_10_06_42_girassol_-_conjuntura_mensal_-_marco_de_2017.pdf. Acesso em: 03/ 09/ 2017.

CORRÊA, M.N.; GONZÁLEZ, F.H.D.; DA SILVA, S.C. 2002. Transtornos metabólicos nos animais domésticos. Pelotas: Editora Universitária, 2002, 520p.

COSTA, G. 2011. Brasil se adapta às normas de controle sanitário para aumentar exportação de laticínios. Agência Brasil, 30 dez. 2011. Disponível em: <http://agenciabrasil.ebc.com.br/noticia/2011-12-30/brasil-se-adapta-normas-decontrole-sanitario-para-aumentar-exportacaodelaticinios>. Acesso em: 11/ 08/ 2017.

DORNELLAS, J.R.F., 1997. Efeito do tipo de coagulante e acidificante no rendimento, proteólise e "*Shelf-life*" do queijo minas frescal. Dissertação - Mestrado em Tecnologia de Alimentos. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/255612>. Acesso em: 15/ 08/ 2017.

DUNKER, K. L. L.; ALVARENGA, M.; MORIEL, P. Grupo do Leite, Queijo e Iogurte. In: PHILIPPI, Sonia Tucunduva (Org). Pirâmide dos Alimentos: Fundamentos Básicos da Nutrição. Barueri/SP: Manole, 2008, p. 97 – 165.

EMBRAPA SOJA. Girassol. 2011. Disponível em: <http://www.cnpqgl.embrapa.br/sistemaproducao/15244-girassol-helianthus-annuus-l>. Acesso em: 23 /08/ 2017.

FOOD INGREDIENTS BRASILE. 2009. Enzimas. Disponível em: <http://www.revistafi.com/materias/113.pdf>. Acesso em: 19/ 07/ 2017.

FOOD INGREDIENTS BRASILE. 2011. Enzimas: Natureza e ação nos alimentos. Disponível em: <http://www.revista-fi.com/materias/166.pdf>. Acesso em: 19/ 07/ 2017.

FOX, P. F. 1997. Advanced dairy chemistry: proteins. London: Blackie Academic & Professional, v. 1.

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

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

GUASTALDI, A.C.; APRECIDA, A. H. 2010. Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. Química Nova. Sociedade Brasileira de Química, v. 33, n. 6, p. 1352-1358, 2010. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/25486>. Acesso em: 14/ 09/ 2017.

HADDAD, H.E.; TANZMAN, S.J. 2003. What do vegetarians in the United States eat? American Journal of Clinical Nutrition.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). 2017. Estatística da Produção Pecuária. Disponível em: ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abate-leite-couro-ovos_201701caderno.pdf. Acesso em: 17/ 09/ 2017.

IBOPE Inteligência. 2012. Dia Mundial do Vegetarianismo: 8% da população brasileira afirma ser adepta do estilo. Disponível em: <http://www.ibopeinteligencia.com/noticias-e-pesquisas/dia-mundial-do-vegetarianismo-8-da-populacao-brasileira-afirma-ser-adepta-do-estilo/> . Acesso em: 07/ 09/ 2017.

KOSHER. 1997. Certification a marketing plus. Food Technology, Chicago, v.54, n.5, p.67, 1997.

LABOISSIÈRE, P 2010. Brasil é sexto maior produtor de leite, mas baixa qualidade compromete exportações. Agência Brasil, 22 set. 2010. Seção de notícias. Disponível em: <http://agenciabrasil.ebc.com.br/noticia/2010-09-22/brasil-e-sexto-maior-produtor-de-leite-mas-baixa-qualidade-compromete-exportacoes>. Acesso em: 10/08/2017.

LAGE, J. F., OLIVEIRA, I. M., PAULINO, P. V. R., & RIBEIRO, F. 2009. Papel do sistema calpaína-calpastatina sobre a proteólise muscular e sua relação com a maciez da carne em bovinos de corte. Revista Eletrônica de Veterinária, 10, 1–19. Retrieved from [htt9.html](http://ht9.html)

LIMA, C. 2006. Coagulantes. Disponível em: <http://luizmeira.com/coalho.txt>. Acesso em: 09/ 08/ 2017.

LOPEZ, F. A., JUSWIAK, C. R. 2003. O uso de fórmulas infantis após o desmame. Temas de Pediatria, Nestlé 74; 2003.

LÜCK, E. 1994. Jüdische Speisegesetze. Ernährungs-Umschau, V. 4 I, n. 10, p. 384-388, 1994.

LÜCK, E. 1995. Zusatzstoffe für Lebensmittel und Bedarfsgegenstände im Lichte der jüdischen Speisegesetze. Deutsche LebensmittelRundschau, v.4,n.1,p.115-117,1995.

PEREIRA, S. C.; SANTOS, K. M. O. dos; BASTOS, M. do S. R.; MORAES, I. V. M. de; PAULA, C. M. de; EGITO, A. S. do. 2010. Utilização de proteases vegetais na fabricação de queijos coalho com leite de cabra. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/879891/utilizacao-de-proteases-vegetais-na-fabricacao-de-queijos-coalho-com-leite-de-cabra> . Acesso em 07/ 06/ 2017.

PERRY, K. 2004. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. Quím. Nova v.27, n. São Paulo Mar/Abr.2004.

PINTO, P. S. A.; GERMANO, M. I. S.; GERMANO, P. M. L. 1996. Queijo minas: problema emergente de Saúde Pública. Revista Higiene Alimentar, São Paulo, v. 10, n. 44, p. 22-27, 1996.

REGENSTEIN, J. M.; REGENSTEIN, C. E. 1979. An introduction to the kosher dietary laws for food scientists and food processors. Food Technology, v. 33, n. I, p. 89-99, 1979.

REGENSTEIN, J. M.; REGENSTEIN, C. E. 1991. Current issues in kosher foods. Trends in Food Science Technology, n. 3, p. 5054, 1991.

ROSSI, R.O. 1998. Girassol. Curitiba: Tecnagro. Curitiba, 1998. 333p.

SANGALETT, N.; PORTO, E.; BRAZACA, S.G.C.; YAGASAKI, C. A.; DEA, R. C. D.; SILVA, M. V. da. (2009). Estudo da vida útil de queijo Minas. Food Science and Technology. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612009000200004. Acesso em: 22/ 08/ 2017.

SEBRAE (Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas). 2014. Técnicas e boas práticas na produção de queijos. Disponível em: http://www.sebraemercados.com.br/wp-content/uploads/2015/12/2014_02_27_RT_Agron_QueijoIN30_pdf.pdf. Acesso em: 10/ 09/ 2017.

VIANA, V. 2002. Psicologia, saúde e nutrição: Contributo para o estudo do comportamento alimentar. Análise Psicológica.

VIANA, V.; LOPES, S.P.; Guimarães, M.J. 2008. Comportamento e hábitos alimentares em crianças e jovens: Uma revisão da literatura (aceite por Psicologia, Saúde & Doença. 2008).

ZARBIELLI, M.; SANTIN, M.; JACQUES, R.; STUART, G.; VALDUGA, E. Formulação e caracterização físico-química e sensorial de queijo minas light enriquecido com fonte de ferro. Revista Alimentos e Nutrição. Disponível em: <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/view/85/98>. Acesso em: 02/ 09/ 2017.