

FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS E AGRÍCOLA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Tese para obtenção do MESTRADO em Tecnologia de Alimentos

Janeiro de 1978

PROTEÍNAS DO SORO NA FABRICAÇÃO DE

QUEIJO MINAS

Everaldo de Almeida Leite

ORIENTADOR

Dr. José Sátiro de Oliveira

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

À minha esposa

Ivani Teresa

e ao meu filho

Thiago

AGRADECIMENTOS

O autor agradece sinceramente ao Dr. José Sátiro de Oliveira pela atenção e orientação na execução deste trabalho, bem como à Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), pelo material cedido e por permitir a realização da fase experimental no Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", e ao Instituto Tecnológico do Estado de Pernambuco (ITEP) pela bolsa de estudos durante o curso de pós-graduação.

Sinceros agradecimentos também são dirigidos à Ivani Teresa Ranzani Leite, como esposa e pela ajuda nos trabalhos de laboratório, assim como aos demais técnicos e funcionários do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes" pela valiosa colaboração dispensada ao autor.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE QUADROS	V
ÍNDICE DE FIGURAS	VI
RESUMO	1
SUMMARY	2
INTRODUÇÃO	3
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
Queijo Minas Meia Cura	5
Caracterização	5
Composição	5
Fabricação	6
Soro	7
Generalidades	7
Composição	7
Valor Nutritivo	8
Utilização na Alimentação Humana	9
Proteínas do Soro	12
Generalidades	12
Extração	15
MATERIAL E MÉTODOS	19
Matéria Prima	19
Cultura Lática	19
Coagulante	20
Cloro de Cálcio	20
Fabricação do Queijo Minas Meia Cura	20
Fluxograma	21
Informações Técnicas	22
Determinações Analíticas	24
Amostragem	24
pH	24
Umidade	24
Gordura	24
Proteína	25

Sal	25
Cinzas	25
Lactose	25
Índice de Maturação	25
RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
CONCLUSÕES	43
REFERÊNCIAS	45

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro		Página
1	Composição percentual média do queijo Minas Meia Cura, segundo vários autores	6
2	Composição percentual média de soro da fabricação de vários queijos, de queijo Minas e Caseína	8
3	Composição percentual média das frações protéicas do soro de queijo e caseína	13
4	Porcentagem de desnaturação das frações protéicas de soro de queijo, a 70°C/30'	14
5	Composição do concentrado protéico e relação entre proteína e gordura do soro nele retidas	29
6	Composição do queijo Minas Meia Cura, antes e depois da padronização	31
7	Variação de composição entre os queijos padrão e com concentrado protéico (CP), após 20 dias de cura	36
8	Comparação do leite padronizado, do concentrado protéico (CP) e do leite com 0,5% do concentrado protéico	38
9	Variação da composição dos queijos padrão e com concentrado protéico desde a fabricação até o final da cura	39
10	Rendimento do queijo com 0,5% de concentrado protéico (CP)	40
11	Comparação dos índices de maturação dos queijos padrão e com 0,5% de concentrado protéico (CP)	41
12	Teste de preferência entre o queijo Minas Meia Cura padrão e com 0,5% de concentrado protéico (CP)	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
I Porcentagem de proteína no líquido sobrenadante em função do pH	27

RESUMO

Estudos preliminares visando determinar as melhores condições de extração das proteínas do soro de queijo Minas Meia Cura, indicaram que um aquecimento a $95 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por um período mínimo de 10 minutos e acidificação em torno de $\text{pH} = 4,8$, permitiram a recuperação de cerca de 65% das proteínas.

Determinações analíticas da composição do queijo Minas Meia Cura comercial indicaram uma deficiência na padronização do produto uma vez que o teor de umidade variava amplamente. Foi também possível detectar uma tendência ao excesso de sal nos queijos. Estudos visando a padronização da técnica permitiram, com pequenas alterações nas condições de prensagem e de salga, obter um produto bem mais constante com relação à qualidade.

Uma vez padronizada a técnica de fabricação do queijo Minas Meia Cura foi realizada uma série de experiências visando incorporar proteínas do soro a este tipo de queijo. Os resultados finais permitiram concluir que é perfeitamente viável a incorporação de proteína do soro, sob a forma de um concentrado protéico, ao nível de 0,5% na base seca. A incorporação deve ser feita ao leite, sendo necessária uma completa homogeneização das partículas de proteínas visando obter uma suspensão estável durante a coagulação.

A incorporação de proteínas do soro ao queijo Minas Meia Cura, além de propiciar um acréscimo no rendimento da ordem de 13%, reduziu o tempo de cura em aproximadamente 20%. Constituindo portanto, numa alternativa viável sob o ponto de vista tecnológico e econômico.

SUMMARY

Preliminary studies to determine the optimum conditions for the extraction of the proteins from "Minas" cheese whey, indicated that heating the whey to 95 ± 1 C for a minimum of 10 minutes and acidification to a pH around 4.8 permitted to recover 65% of the whey proteins.

Determination of the composition of commercial "Minas" cheese indicated a wide variation in the moisture content and a tendency to excess salting of the cheese. Therefore some experiments were done trying to get a better moisture control and a lower salt content in the final product. Changing the pressing procedure and decreasing the salting time permitted to obtain a final cheese with a better quality.

After the standardization of the processing steps of "Minas Meia Cura" cheese, experiments were initiated trying to incorporate whey proteins in the "Minas" cheese. The final results indicated that it was possible to incorporate 0,5% of whey proteins on dry basis, in the milk before coagulation. The whey proteins were in the form of a concentrated slurry. Therefore it was necessary to homogenize the milk-whey protein concentrate mixture in order to avoid decantation during the coagulation step.

The "Minas Meia Cura" cheese with the whey proteins had similar characteristics to those of the regular cheese. Moreover, the yield was increased 13% and the curing time was reduced by approximately 20%. Therefore the incorporation of whey proteins in Minas cheese revealed to be an economical way for the use of whey proteins.

INTRODUÇÃO

O soro é um sub-produto de relevante importância na indústria queijeira tendo em vista o seu volume e a sua composição. Como qualquer sub-produto, seu aproveitamento está sujeito a um estudo econômico visando ponderar os custos em função dos produtos possíveis de serem obtidos.

No Brasil, a grande maioria das fábricas apenas destina o soro para aproveitar a gordura, podendo uma pequena fração ser devolvida ao produtor de leite que utiliza esse soro na alimentação de suínos, principalmente. Entretanto, a maior parte é normalmente descartada constituindo num sério agente de poluição das águas.

Um exame detalhado da composição do soro permite detectar que contém cerca da metade dos sólidos totais do leite, sendo que a lactose e os sais solúveis praticamente ficam no soro. Já a fração protéica apesar de constituir apenas 15 a 20% do total de proteínas do leite, é de excelente valor nutritivo, cerca de 40% superior ao da própria caseína.

O aproveitamento do soro tem sido, já por vários anos, assunto de grande interesse dos pesquisadores e em função de seu alto valor nutritivo, o aproveitamento das proteínas tem recebido crescente atenção. Dentre as técnicas mais comumente recomendadas na extração das proteínas do soro, encontra-se o emprego da ação conjunta do calor como agente de desnaturação e da acidificação ou adição de sais visando precipitar as proteínas desnaturadas, que são finalmente separadas por decantação ou centrifugação. As proteínas assim obtidas, denominadas comercialmente de lactalbumina, têm aplicações das mais diversas, desde a alimentação animal até o enriquecimento de produ

tos especiais como alimentos dietéticos, infantis, etc; tem sido também advogado e em certos países já empregado industrialmente, a reincorporação dessas proteínas em certos tipos de queijo.

Considerando os aspectos mencionados, o presente trabalho visa, como objetivo principal, estudar o aproveitamento das proteínas do soro, através da sua incorporação ao queijo Minas Meia Cura, procurando manter as características tradicionais do queijo, no sentido de desenvolver uma alternativa de aproveitamento do soro sem interferir, negativamente, na qualidade e na linha de produtos da indústria.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Queijo Minas Meia Cura

Caracterização

O queijo Minas é um legítimo representante do laticínio nacional, uma vez que sua tecnologia foi desenvolvida em nosso país. Trata-se de um produto originário de fabricação caseira passando mais tarde para as queijarias existentes nas próprias fazendas no interior da província de Minas Gerais, hoje Estado de Minas Gerais. Em 1703, foi iniciada sua produção, em escala industrial, sendo que em 1796 já fazia parte integrante da alimentação do mineiro e, pouco a pouco foi se tornando mais apreciado nas outras províncias do império (66).

Com a denominação de queijo Minas podem ser encontradas diversas variedades tais como o Minas Frescal, Minas Semi-Curado, Minas Curado, etc (61). O queijo Minas Meia Cura ou Semi-Curado pode ser definido como sendo um produto fabricado a partir de leite integral ou padronizado, devidamente pasteurizado. É um queijo de massa crua, prensado e maturado durante 20 dias. Apresenta uma massa semi-dura, tendendo a macia, com sabor ácido agradável, textura apresentando pequenas aberturas mecânicas e pouco numerosas. Deve apresentar formato cilíndrico, com faces planas e bordos retos, formando ângulos vivos, além de coloração branco-creme homogênea (11, 61, 62).

Composição

De acordo com o RIISPOA (62), o queijo Minas é tão somente caracterizado quanto à sua forma, peso, crosta, consistência, textura, cor e sabor, não havendo menção alguma no que se

refere à sua composição, nem variedade. Em vista disso, é possível encontrar no mercado produtos, cuja variação na composição deixa muito a desejar em termos de padronização, como pode ser comprovado pela bibliografia, Quadro 1.

Quadro 1 - Composição percentual média do queijo Minas Meia Curra, segundo vários autores.

Componentes	Segundo Castro e Mesquita (12)	Segundo Rogick(65)	Segundo Souza (68)
Umidade	35,85	38,30	43,00
Proteína	30,80	24,40	25,40
Gordura	27,82	32,00	26,80
Sal	2,02	2,45	2,30
Cinzas	4,29	4,10	4,80
Ac. láctico	0,72	1,02	1,60

Fabricação

A primeira tentativa de uniformização do queijo Minas, descrita de maneira bastante detalhada em publicação do Ministério da Agricultura, foi realizada em 1925 por Castro e Mesquita (12). Embora se tratando de uma tecnologia bastante empírica, já demonstrava uma preocupação evidente no sentido de definir, caracterizar e padronizar esse tipo de queijo. Posteriormente, em 1944, Rogick (65) utilizando a metodologia aplicada na Fábrica-Escola "Cândido Tostes", conseguiu resultados satisfatórios na tentativa de padronização do queijo Minas. Mais tarde, em 1946, Souza (68) publicou a técnica utilizada na Fábrica-Escola "Cândido Tostes", sendo que seus dados refletem, aproximadamente, a composição do que é conhecido até hoje como queijo Minas Meia

Cura, como pode ser verificado no Quadro I. O livro sobre "Fabricação de Queijos", de Francisco Assis Ribeiro, publicado em 1961, descreve de uma forma minuciosa a tecnologia do queijo Minas Meia Cura, que ele denominou de Minas Padronizado (61).

Soro

Generalidades

O soro é um subproduto de relevante importância na indústria queijeira tendo em vista o seu volume e a sua composição (5). Como qualquer subproduto, seu aproveitamento está sujeito a um estudo econômico, visando ponderar os custos em função do valor dos produtos finais. Até então não tem sido aproveitado de uma forma extensiva, constituindo-se num efluente a ser descartado (52). Na grande maioria das fábricas, o soro é apenas desnatado, podendo uma pequena fração ser devolvida ao produtor de leite que a utiliza na alimentação de suínos ou como fertilizantes, entretanto a maior parte é destinada aos rios, riachos ou sistemas de esgoto, aumentando sensivelmente o índice de poluição. Bylund (9) e Renaudien (59) citam que a demanda bioquímica de oxigênio para o soro alcança índices de 35 a 40 g/l (35.000 a 40.000 ppm) e se for expresso em equivalente de população, um litro de soro corresponde a aproximadamente 0,5 equivalente de população.

Composição

As variações apresentadas na composição do leite devidas à raça do animal produtor, alimentação, período do ano, etc, bem como dos diferentes tratamentos aos quais o leite é submetido durante seu processamento, irão corresponder às variações de

composição do soro (5). Na fabricação de queijo, cerca da metade dos sólidos totais do leite fica no soro e destes, a lactose é o componente em maior concentração. No Quadro 2 podem ser observados alguns dados de composição do soro proveniente da fabricação de queijo e caseína.

Quadro 2 - Composição percentual média de soro da fabricação de vários queijos, de queijo Minas e de caseína

Componente	Queijos em geral	Queijo Minas	Caseína
Água	93,57	93,25	93,20
Proteína	0,59	0,75	1,00
Gordura	0,31	0,52	0,10
Lactose	4,62	4,99	5,10
Cinzas	0,51	0,49	0,70

Dados das referências 60, 73 e 31

Valor Nutritivo

Ao se examinar o soro com um pouco mais de atenção, pode-se notar que ele é constituído por substâncias importantes, sob o ponto de vista nutricional. Nele é encontrada a lactose, que de certo modo, é o componente mais característico do leite, especialmente, no que se refere à sua elevada concentração. Tem sido demonstrada a sua importância na formação dos tecidos nervosos, na ossificação dos esqueletos, no favorecimento da absorção do cálcio e do fósforo pelo intestino, na síntese das vitaminas do Grupo B, etc (71).

As proteínas presentes no soro representam cerca de 15 a 20% do conteúdo total das proteínas do leite. Pela sua elevada solubilidade em ampla faixa de pH, apresenta uma digestibili

dade mais fácil que a caseína. Seu valor nutritivo é também mais elevado; segundo a Comissão de Alimentação e Nutrição dos Estados Unidos, as necessidades médias de um homem pesando 70 kg, no que se refere à ingestão diária de aminoácidos essenciais, são completamente cobertas com 24,4 g de caseína, ou com somente 14,5 g de lactalbumina (3). A este fato pode-se adicionar o alto teor de cistina presente nessas proteínas, cujo conteúdo oscila entre 1,9 e 6,5%, o que supre a deficiência desse aminoácido apresentada pela caseína. A presença do triptofano também é bastante significativa; com exceção das soro-albuminas todas as frações protéicas do soro apresentam este aminoácido, em quantidades muito elevadas, sendo que as lactalbuminas ocupam posição destacada, apresentando cerca de 7% de triptofano. Outra característica importante das proteínas do soro é a sua riqueza em lisina; várias frações contêm mais de 10% deste aminoácido, cifra esta bastante elevada, uma vez que as necessidades para o crescimento são de 7% e taxas ainda mais baixas são requeridas para a manutenção (1).

Utilização na Alimentação Humana

Variando de acordo com o tipo de queijo, somente 10 a 15% do conteúdo do leite é aproveitado na formação de queijo, sendo que os 85 a 90% restantes constituem o soro, que até então somente uma pequena porcentagem é aproveitada (19). Na alimentação humana, o soro pode ser utilizado sob a forma líquida, concentrada, ou os seus componentes separadamente.

A fabricação de bebidas a partir do soro integral tem sido desenvolvida nos Estados Unidos, União Soviética, Alemanha, Japão, etc. Visando a produção de refrescos e imitações de leite, ao soro têm sido adicionados aromas, sucos de frutas, grãos de Kefir, iogurte, leite desnatado, estabilizantes, etc (22,44).

Nos países escandinavos são, tradicionalmente, fabricados produtos à base de soro concentrado sob a denominação de queijo de soro em pasta (Whey cheese) e manteiga de soro; a esses produtos frequentemente se adiciona açúcar na etapa final do processamento (10).

Nos Estados Unidos, certos produtos de confeitarias são produzidos a partir de soro concentrado por osmose e depois açucarados. Nesses casos, a lactose é um elemento de suma importância, pois é utilizada para fornecer uma estrutura cristalina ao produto final (5).

Até recentemente, a utilização mais comum do soro era na produção de soro em pó integral, cuja aplicação nas indústrias de alimentos é bastante diversificada. Seu uso é comum na fabricação de sopas, molhos, salsichas (35), leite maternizado, sorvetes, glaces, bebidas, produtos de panificação (5, 42), etc. A secagem do soro, contudo, requer pesados investimentos, envolvendo custos de operação elevados em relação ao rendimento obtido, uma vez que é necessária a remoção de, aproximadamente, 90% de água. Especialmente os custos de operação são elevados devido ao recente aumento dos combustíveis, o que não justifica economicamente o processo para pequenas plantas (14, 18, 70).

Lactose

A lactose extraída do soro por cristalização, filtração em gel, por processos de membrana, etc, é utilizada em inúmeros produtos de confeitaria, onde apresenta vantagens como possuir menor poder edulcorante e maior capacidade de retenção de aromas que a sacarose; favorecer as reações de Maillard, impedir a desidratação excessiva dos produtos, principalmente no caso da lactose amorfa que é bastante higroscópica (5). Pode ainda ser utilizada no preparo de leite materno, incorporada a sopas, alimentos dietéticos e infantis, etc (10).

Proteínas

Como as proteínas do soro representam a parte mais importante sob o ponto de vista nutricional, seu isolamento e utilização têm sido objeto da crescente atenção dos pesquisadores (22). São utilizadas industrialmente na produção de "Lactalbumina", que é constituída basicamente por alfa-lactalbumina e beta-lactoglobulina, além de pequenas quantidades de outras proteínas do soro. Seu emprego tem sido comum como fonte suplementar de proteínas, principalmente em produtos cárneos, de panificação e na fortificação de cereais (15, 72).

Na própria indústria de laticínios, as proteínas do soro têm sido, tradicionalmente, utilizadas na fabricação de Ricota ou queijo de albumina (38, 61). A possibilidade do uso de proteínas do soro, desnaturadas, em misturas com queijos duros para a fabricação de queijos fundidos ou em pasta já foi demonstrada por Babad e outros (6); da mesma forma, sua aplicação visando aumentar o rendimento de queijos de massa mole como o Camembert e massa semi-dura como o St. Paulin tem apresentado excelentes resultados (39, 55, 56, 69).

Mais recentemente, com o desenvolvimento dos processos de ultrafiltração, foi desenvolvido por Humphries (29), um processo para a obtenção de um concentrado protéico na forma líquida ou em pó, cuja aplicação em sobremesas, confeitos e bebidas ácidas tem sido recomendada. Moretti (48), trabalhando com soro de queijo Minas, desenvolveu um produto protéico solúvel em bebidas ácidas tipo refrigerantes de baixo custo, indicado para crianças em idade escolar. Ainda pelo emprego da ultrafiltração, Maubois (5, 22) desenvolveu um processo de fabricação de queijo que visa evitar a perda de proteínas no soro. Através da ultrafiltração do leite as proteínas do soro são retidas juntamente com a caseína em um concentrado protéico

denominado "pré-queijo líquido" que, praticamente, apresenta a mesma composição do queijo.

Soro Desproteínizado

O soro desproteínizado, proveniente da ultrafiltração ou da extração das proteínas por desnaturação e precipitação, é um excelente substrato de fermentação. Entretanto, sua utilização como meio de cultura é limitada a microrganismos capazes de utilizar a lactose como substrato e, mesmo assim, é necessário adicionar nitrogênio inorgânico ao meio, pois o soro é muito pobre nesse componente. Com isso, além da limitação provocada pelo carboidrato em questão, o aumento da concentração de sais pode se tornar um fator limitante ao crescimento (5). Podem ser produzidas por esse processo proteínas celulares, bebidas fermentadas com e sem álcool, vinagre, etc (10, 43).

Proteínas do Soro

Generalidades

O soro é constituído por uma mistura de proteínas que apresentam apenas aminoácidos e outras que contêm também glicídios em sua estrutura. Em geral, apresentam peso molecular baixo, sendo solúveis em seu ponto isoelétrico (2). Os principais componentes, bem como a porcentagem aproximada em que cada fração entra na composição das proteínas do soro são apresentadas no Quadro 3.

Quadro 3 - Composição percentual média das frações protéicas do soro de queijo e de caseína.

Frações Protéicas	Soro de Queijo (20)	Soro de Caseína (63)
Beta-lactoglobulina	58	44-52
Alfa-lactalbumina	21	20-24
Imunoglobulina	10	13-16
Soro-albumina	5-8	5-7
Proteose-Peptona	5-6	19

O calor é um dos mais importantes agentes de desnaturação dessas proteínas, que sofrem inúmeras modificações em sua estrutura ao serem submetidas a temperaturas iguais ou maiores que 70°C. Os enlaces que asseguram as estruturas secundárias e terciárias das moléculas se rompem e, como consequência do rearranjo das moléculas desnaturadas, as proteínas se agrupam e precipitam (13, 21, 50). As proteínas presentes no soro são desnaturadas pelo calor em intensidades diferentes, como se pode verificar no Quadro 4.

Quadro 4 - Porcentagem de desnaturação das frações protéicas de soro de queijo, a 70°C/30' (41).

Frações Protéicas	% de Desnaturaçãõ
Beta-lactoglobulina	32
Alfa-lactalbumina	6
Imunoglobulina	89
Soro-albumina	32
Proteose-Peptonas	0

A desnaturaçãõ destrói a configuraçãõ nativa das proteíνας e em vista destas profundas modificações em sua estrutura várias de suas propriedades sãõ totalmente transformadas , sendo que as principais alterações sãõ (37, 54):

- . Decréscimo da solubilidade no ponto isoelétrico
- . Aumento da reatividade dos grupos sulfidrilas
- . Reduçãõ do potencial de óxido-reduçãõ
- . Produçãõ de sabor de cozido.
- . Reduçãõ da digestibilidade

Sendo altamente sensíveis ao calor, as proteíνας do soro sãõ facilmente desnaturadas, sendo que as frações protéicas mais afetadas sãõ as globulinas e soro-albuminas (2, 71). Estudos realizados com leite desnatado demonstraram que as imunoglobulinas sãõ as primeiras a serem completamente desnaturadas a 70°C e que a alfa-lactalbumina é a menos sensível, não sendo completamente desnaturada a temperaturas menores que 91°C (41). Esses resultados no tratamento do soro pelo calor, foram confirmados por Nakaniski e outros (51). Segundo Jenness (36), quando a alfa-lactalbumina e beta-lactoglobulina sãõ a-

aquecidas juntas em uma solução, a presença da beta-lactoglobulina acelera a desnaturação da alfa-lactalbumina, possivelmente pela ocorrência de alguma copolimerização.

Extração

As proteínas constituem o componente mais nobre do soro, no entanto não representam mais do que 10 a 14% dos sólidos totais do soro. Tendo em vista sua excelente qualidade e sua pequena quantidade, diversos processos têm sido desenvolvidos com o objetivo de separá-las do soro, em níveis tão elevados quanto possível, de maneira a utilizá-las posteriormente, no enriquecimento de alimentos de baixo teor protéico (10, 30, 72).

As técnicas normalmente empregadas para a recuperação das proteínas são de dois tipos: as que utilizam calor como meio de desnaturação das proteínas, em particular da beta-lactoglobulina, uma vez que é a mais sensível ao calor, além de ser a presente em maior quantidade no soro e, as que ao contrário, evitam todo e qualquer tratamento térmico para conservar ao máximo as propriedades das proteínas, em particular seu caráter de solubilidade (5).

Existem diferenças consideráveis no grau de precipitação das proteínas do soro na sua forma desnaturada, em função do tipo de soro empregado (40, 64); desta forma, as condições para sua extração têm sido exaustivamente estudadas: Robinson e outros (63) fizeram referência à investigação de Irvine e Sproule, com relação à precipitação das proteínas do soro de queijo Cheddar utilizando valores de pH na faixa de 4,6 a 6,85 e aquecimento a temperaturas entre 66 e 80°C e chegaram à conclusão que em pH mais baixo e maior período de aquecimento, era maior a quantidade de proteína precipitada. Burkey e Walter (8)

recomendaram que, inicialmente, se fizesse a desnaturação a temperaturas próximas da ebulição a $\text{pH} \approx 6,4$ e, a seguir, fosse feita a redução do pH para valores entre 4,8 a 5,3 para a precipitação. Já Prodanski (58) sugeriu que a maior precipitação deveria ocorrer entre pH 4,55 a 4,7. Gonzalez (23) ajustou o pH do soro na faixa de 6,3 a 6,6 com hidróxido de sódio, efetuando o aquecimento à temperatura de 90°C , e, em seguida, reduzindo o pH para 4,95 a 5,35 para a precipitação das proteínas. Pien (55), inicialmente ajustou o pH para 6,25, aqueceu, em seguida, a $95-96^{\circ}\text{C}$ e reajustou o pH para 4,5-4,6; já Marshall (45) preparando lactalbumina a partir de soro de queijo Cheddar, propôs a utilização de $\text{pH} = 4,5$ à temperatura de 93°C .

No que se refere ao rendimento, a variação dos resultados é também diversificada. Robinson e outros (63) citam trabalhos onde 70% das proteínas do soro foram extraídas, já Guy (24) conseguiu precipitar 80% das proteínas do soro de Cottage Cheese. Em soro proveniente da fabricação de caseína a $\text{pH}=4,5$, o tempo mínimo de 10 minutos à temperatura de 93°C foi determinado como necessário para um maior rendimento na precipitação das proteínas, da ordem de 75% (63).

A técnica de desnaturação e precipitação é, tradicionalmente, aplicada para a produção industrial de lactalbumina na Nova Zelândia e o produto obtido, depois de purificado, apresenta cerca de 80% de proteínas (63). O processamento empregado pode ser dividido nos seguintes estágios:

1. Aquecimento do soro ácido para desnaturar, coagular e precipitar a proteína.
2. Separação do precipitado por decantação ou centrifugação.
3. Lavagem com água para a remoção do excesso de sais e lactose.

4. Secagem.
5. Trituração, mistura e embalagem.

Baseado ainda nesse princípio, existe o procedimento conhecido por Centry-Whey, onde as proteínas do soro são obtidas na forma de um "leite de proteínas", onde a alfa-lactalbumina e a beta-lactoglobulina apresentam-se concentradas, em uma suspensão homogênea com partículas muito finas (menores que 1 micron) e altamente hidratadas (9, 53, 55); as etapas compreendidas pelo processo são:

1. Ajuste do pH do soro para 6,25.
2. Pré-aquecimento a 70°C
3. Injeção de vapor até a temperatura atingir 95 °C , com agitação.
4. Reajuste do pH para 4,5.
5. Aquecimento a 96°C.
6. Esfriamento a 40 °C.
7. Separação do "leite de proteínas" em centrífuga clarificadora com descarga contínua.

De um modo geral, o precipitado obtido do soro por qualquer dos processos acima apresenta em sua composição um elevado teor de umidade, proteínas, gordura, lactose e sais minerais. Tem uma textura arenosa e uma coloração que pode ir do branco ao castanho, de acordo com as condições de tempo e temperatura empregadas (15). Trata-se de um produto de valor nutritivo bastante elevado (26), cujo uso tem sido frequente na fortificação de cereais (15, 72), na fabricação de produtos de panificação, de produtos cárneos, queijos em pasta (35, 65) e de massa mole (56).

A remoção da fração protéica do soro pode ser efetuada baseando-se na capacidade de interação das proteínas com vários agentes precipitantes e sequestrantes como o hexametafos-

fato de sódio (27), carboximetilcelulose (25, 28), álcool etílico (49), cloreto férrico (47), etc, sob diversas condições de temperatura e pH, de modo a evitar a desnaturação. Em geral sua separação do meio líquido, após a precipitação, é realizada por centrifugação, podendo ser, posteriormente, purificadas por diversos processos como a liofilização (49), filtração em gel (26), etc.

Com a aplicação da ultrafiltração, também é possível a extração das proteínas do soro na forma hidrossolúvel; o processo consiste no bombeamento do soro, a alta velocidade, através de uma série de membranas cujos poros permitem a passagem de moléculas menores como a água, lactose, sais e impedem a passagem de moléculas maiores como as proteínas. As moléculas menores vão constituir o permeado ou ultrafiltrado, enquanto que as maiores vão formar o concentrado protéico, retendo parte da umidade, contendo sais e lactose. Da unidade de ultrafiltração, o concentrado protéico pode alimentar um secador, do qual se obtém um pó com proteínas não desnaturadas e de elevada pureza (22, 45, 46).

De acordo com o grau de pureza desejado, o processo de filtração em gel pode ser utilizado. Trata-se de uma técnica cromatográfica fundamentada nas diferentes propriedades físicas das substâncias a separar. São empregadas diversas camadas de uma substância denominada Sephadex para separar as moléculas do soluto baseada na diferença dos tamanhos moleculares. As moléculas maiores que os poros de Sephadex, como é o caso das proteínas, são separadas primeiro e as menores têm sua progressão retardada, sendo posteriormente retiradas pela lavagem da coluna. Esse processo permite a obtenção de proteínas com elevada pureza (16, 21).

MATERIAL E MÉTODOS

Matéria Prima

Na fabricação dos queijos foi utilizado leite tipo "C" proveniente da unidade industrial do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes. O leite encontrava-se em bom estado de conservação, possuindo acidez entre 16 a 18^oD (pH~6,6) e um teor de gordura entre 3,5 e 4,0%. O leite era filtrado, padronizado e pasteurizado.

Cultura Láctica

A cultura láctica ou fermento empregado era constituído por um cultivo misto contendo microrganismos acidificantes e aromatizantes, preparada pelo Chr. Hansen's Laboratory A/S - Dinamarca, representado no Brasil pela DANILAC Indústria e Comércio Ltda. (R. Victor Brecheret, nº 36 - São Paulo - SP). Dentre as linhagens acidificantes encontravam-se S. lactis e S. cremoris; já as aromatizantes eram L. citrovorum e/ou L. dextranicum.

Uma vez que se tratava de um produto liofilizado, foi necessário, inicialmente, efetuar a reativação da cultura através de inoculações sucessivas em meio de leite em pó desnatado, reconstituído a 10% (p.v.) e autoclavado a 121^oC durante 15 minutos. O conteúdo do envelope que continha o liofilizado (~2g) era asepticamente adicionado em 100 ml do meio esterilizado e incubado a 21 - 22^oC até a coagulação. Repicagens sucessivas foram efetuadas utilizando como inóculo 1% da cultura recém coagulada, até completa reativação. A cultura era considerada ativa quando a coagulação se processava em 16 a 24 horas.

A cultura industrial era preparada empregando-se leite comum aquecido a 100°C por 1 hora, em autoclave com vapor fluente. Após resfriado a 21 - 22°C era inoculado com 1% de cultura, e incubado a 21 - 22°C. Ao atingir 75 - 80°C, a cultura era resfriada até próximo de 5°C e mantida nessas condições, até o momento da utilização, que normalmente ocorria dentro de 24 horas.

Coagulante

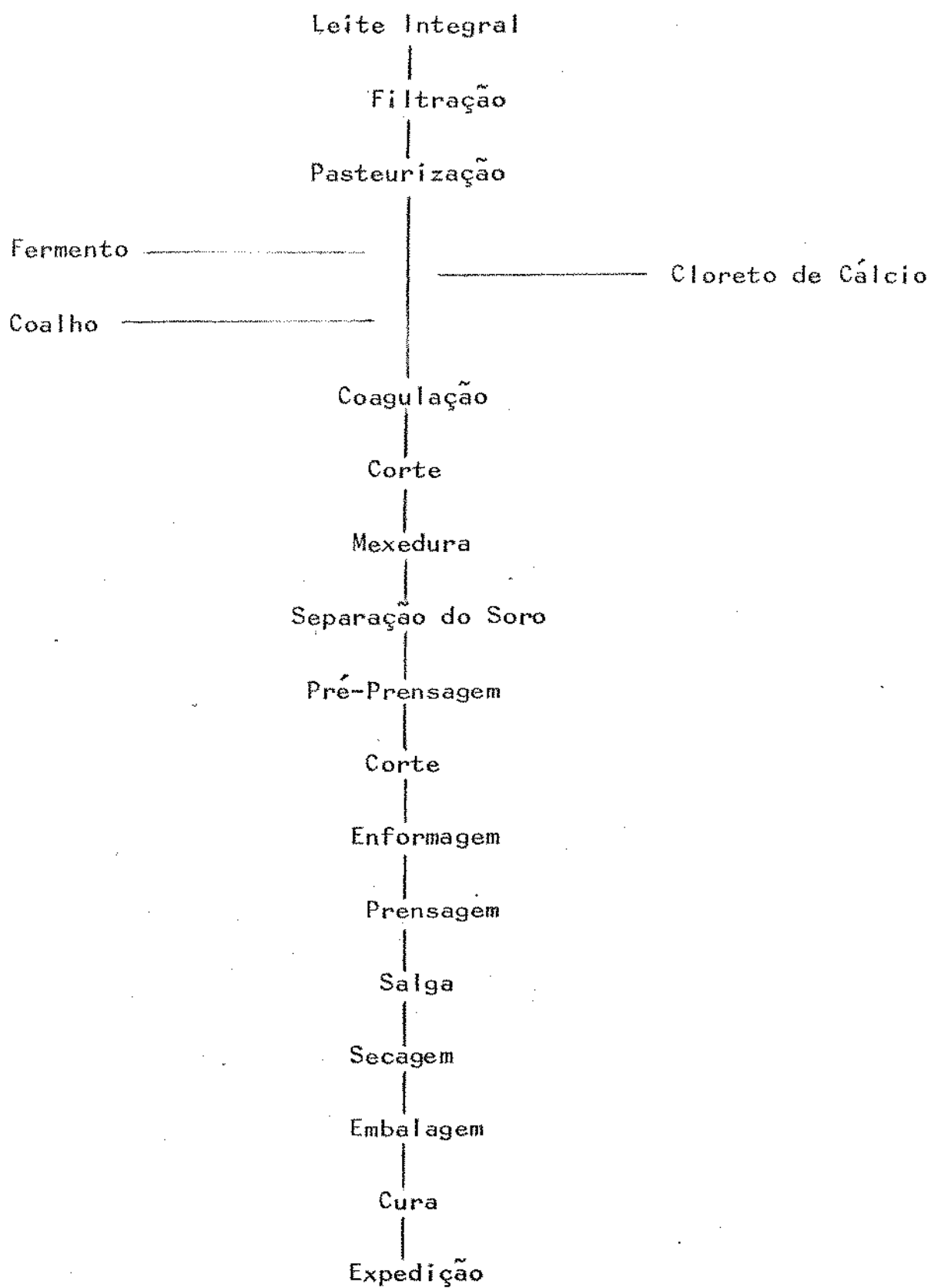
Para se efetuar a coagulação do leite, empregou-se coelho em pó Ha-La, fabricado pelo Chr. Hansen's Laboratory A/S Dinamarca. Na ocasião de sua adição ao leite, este coelho era dissolvido na proporção de 1:100 (p.v.) em água destilada contendo 5% de NaCl.

Cloreto de Cálcio

Foi empregada uma solução a 50% de cloreto de cálcio, fornecida pela Biolacto Indústria e Comércio (Rua Domingos Lopes, 121 - Loja - Juiz de Fora - MG). Antes da utilização, esta solução era diluída na proporção de 1:4 (v.v.) com água destilada.

Fabricação do Queijo Minas Meia Cura

Uma vez que foi seguida a tecnologia básica empregada no Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", são apresentados, a seguir, o fluxograma e informações técnicas do processo de fabricação para o queijo Minas Meia Cura.

Fluxograma

Informações Técnicas (33)

- . Leite: acidez máxima 19^oD, pasteurizado e padronizado para 3,4% de gordura.
- . Cloreto de Cálcio: 50 ml de uma solução a 50%, para cada 100 litros de leite (250 ppm).
- . Fermento: cultura associada de S. lactis, S. cremoris L. dextranicum e/ou L. citrovorum, na base de 1,0 a 1,5% em relação ao volume de leite.
- . Temperatura do leite na adição do coalho: 32^oC.
- . Coalho: 2,5 g de pó para cada 100 litros de leite, para coagulação em 50 - 60 minutos.
- . Corte: lento, grãos tamanho n^o 1, ou seja, com 1 cm de aresta.
- . Mexedura: iniciada 5 minutos após o corte com interrupções de 3 minutos a cada 3 minutos de agitação, realizada cuidadosamente na fase inicial.
- . Ponto de Massa: quando os grãos apresentarem consistência ligeiramente elástica e não quebradiça, isto é, quando os grãos ao serem levemente forçados na mão unirem-se, sendo no entanto separados com certa facilidade; além dessa característica, o ponto de massa pode ser verificado pelo brilho apresentado pelos grãos e pela coloração amarelada do soro.
- . Obs: tempo de corte ao ponto aproximadamente 1 hora.
- . Dessoragem: após o ponto de massa todo o soro deve ser escoado; a massa deve ser revolvida no próprio tanque para que o soro retido seja eliminado.
- . Pré-prensagem: coloca-se a massa em canudos de plástico, cujo diâmetro (~ 15 cm) é ligeiramente menor que o da forma de queijo (16 cm) e com capacidade para 12 unidades, sendo então prensada dentro do ca-

nudo com 10 kg. Esta etapa deve ter a duração de 30 a 60 minutos.

- . Corte e enformagem: o cilindro de massa é cortado visando obter queijos de aproximadamente 1 kg depois de prensados; estes queijos são colocados dois a dois em cada forma, envolvidos em pano dessorador e separados entre si por discos de aço inoxidável.
- . Prensagem: tem a duração de 14 horas, utilizando-se 20 kg de peso por quilo de queijo.
- . Salga: realizada em salmoura a 18 - 20% durante 24 horas a 12°C.
- . Cura: com duração de 18 - 20 dias em câmara a 12°C e 85% de umidade. Depois dos primeiros 7 dias os queijos são raspados, lavados se necessário e embalados retornando à câmara de cura até completar 18 a 20 dias (contados a partir da fase inicial de fabricação).

Determinações Analíticas

Amostragem

As amostras do leite, do leite com concentrado protéico e soro eram retiradas diretamente dos recipientes, após uma pequena agitação visando homogeneizar o produto. Para o concentrado protéico eram retiradas do recipiente de armazenamento ; já no caso dos queijos, o sistema de amostragem usado é o recomendado pelas Normas Britânicas (7). Amostras em forma de cunha com aproximadamente 150 g eram picadas e maceradas até que formasse uma pasta bem uniforme, que era utilizada nas diversas de terminações.

pH

O pH do leite, soro, queijo e concentrado protéico era determinado através de um potenciômetro Radio Meter (pH - Meter 26), sendo que no caso dos queijos e do concentrado protéico em pregava-se eletrôdos de superfície (57).

Umidade

As determinações de umidade dos queijos e do concentra do protéico eram realizadas em estufa atmosférica a 100 - 110°C segundo o método de secagem até peso constante (57).

Gordura

Para as determinações do teor de gordura presente no leite e no soro, no queijo e no concentrado protéico foi empregado o aparelho Milko - Tester M K III e o método volumétrico Gerber-van Gulik (17, 57).

Proteína

A metodologia empregada para a determinação das proteínas do leite e soro (32), bem como do queijo e concentrado protéico (38), era baseada no método de Kjeldahl. O fator empregado para a conversão da porcentagem de nitrogênio encontrada, em porcentagem de proteína, era 6,38.

Sal

A porcentagem de sal no queijo foi determinada pela titulação com tiocianato de potássio, do excesso de nitrato de prata adicionado, seguindo-se uma modificação do método de Vollard (17, 57).

Cinzas

As cinzas do concentrado protéico foram determinadas em mufla, regulada para a temperatura de $550 \pm 5^{\circ}\text{C}$ (4 e 17).

Lactose

A porcentagem de lactose no concentrado protéico foi determinada pela titulação do Licor de Fehling, usando azul de metileno como indicador (17).

Índice de Maturação

O índice de maturação (I.M.) dos queijos foi obtido em função do teor de proteínas totais (P_t) e proteínas solúveis (P_s), relacionados por $I.M. = P_s / P_t \cdot 100$ (17).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Extração das Proteínas do Soro

O processo normalmente recomendado pela literatura para a obtenção das proteínas do soro baseia-se na ação conjunta do calor e acidez. Entretanto, não existe uma técnica rígida bem definida, principalmente em relação ao pH e, o grau de precipitação das proteínas varia consideravelmente em função do tipo de soro empregado, especialmente com relação ao conteúdo de sais. Assim sendo, o presente trabalho se iniciou em escala de laboratório visando definir uma técnica para a extração das proteínas do soro de queijo Minas Meia Cura. Foram realizados testes para determinar o pH a ser empregado, a fim de que a extração em proteínas apresentasse o maior rendimento possível. No que se refere à temperatura de aquecimento foi empregada a faixa de $95 \pm 1^{\circ}\text{C}$, uma vez que este é o tratamento adotado tanto no processo Centry-Whey (55), já utilizado industrialmente, como na produção industrial de lactalbumina (63).

Amostras de 100 ml de soro de queijo Minas Meia Cura desnatado foram aquecidas a $95 \pm 1^{\circ}\text{C}$, a seguir o seu pH era ajustado com ácido clorídrico para valores entre 4,0 e 5,0 com variações de 0,2 unidades de pH e a temperatura era mantida por 10 minutos, no mínimo, visando promover um bom rendimento em proteínas precipitadas. Após isto, o soro era esfriado até próximo de 30°C , centrifugado em centrífuga comum de laboratório (~ 3.000 rpm/10 minutos) e o líquido sobrenadante teve seu conteúdo de proteínas determinado. Foram testadas 20 amostras de soro provenientes de 20 partidas industriais de queijo Minas Meia Cura e os valores estão na Figura 1, onde são indi-

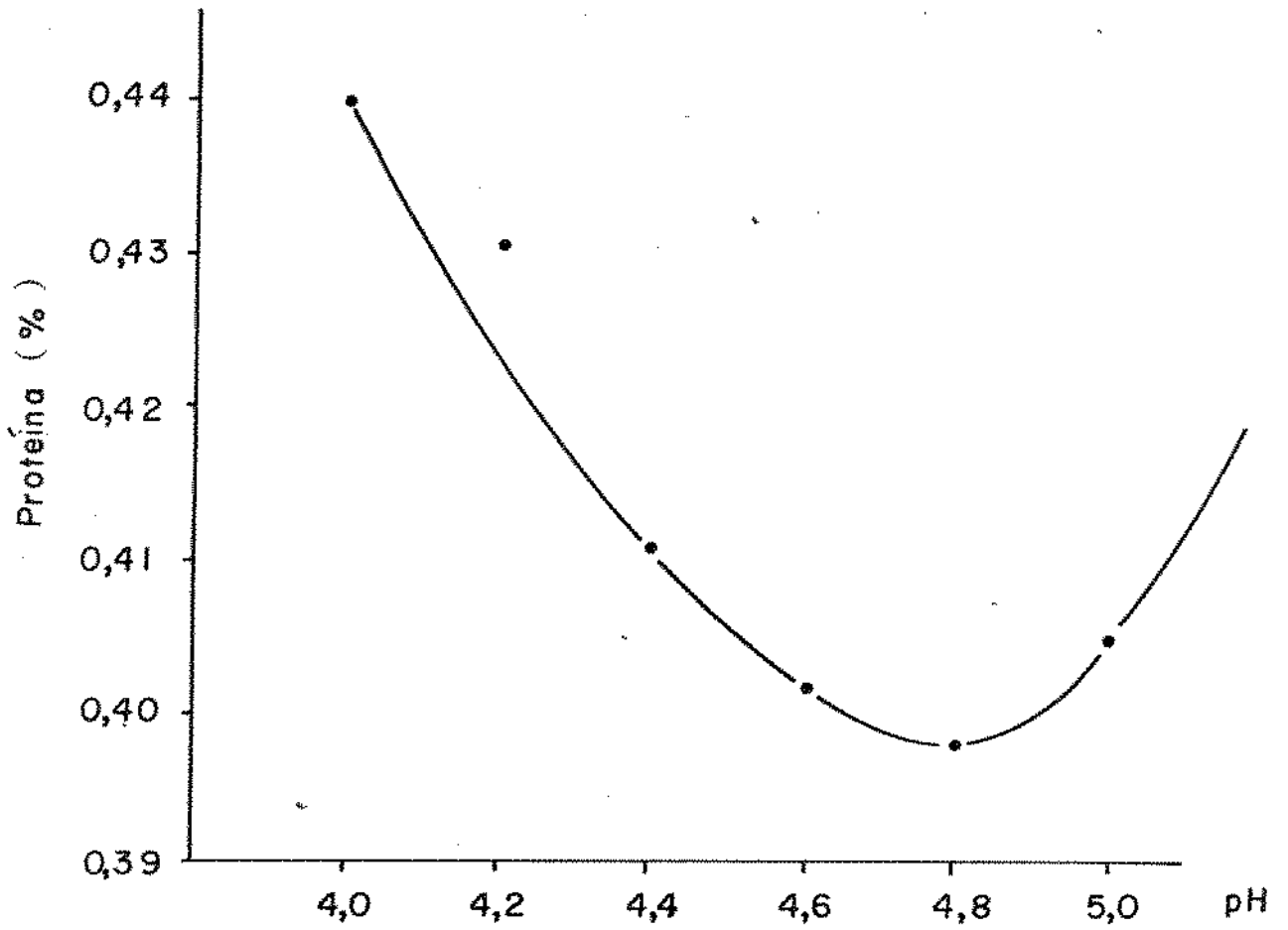


Figura 1 - Porcentagem de proteína no líquido sobrenadante em função do pH.

casas as porcentagens médias de proteínas não precipitadas em função do pH.

Como se pode observar, no pH em torno de 4,8 obteve-se uma maior precipitação das proteínas do soro, desta forma, ao se passar para a escala semi-industrial, esta foi a faixa de pH empregada. Nesse caso, o soro proveniente da fabricação do queijo Minas Meia Cura, depois de desnatado em centrífuga desnatadeira (≈ 7.000 rpm), conforme procedimento normal na indústria de laticínios, era bombeado para um tanque de aço inoxidável onde a temperatura era elevada por injeção direta de vapor a $95 \pm 1^\circ\text{C}$. A essa temperatura o soro doce, que apresentava $\text{pH} = 6,3 \pm 0,1$, tinha seu pH ajustado para 4,8, mediante a adição de ácido clorídrico (reagente para a indústria de alimentos) sob agitação contínua. Depois dessa adição, a temperatura era mantida por um período mínimo de 10 minutos, após o que o esfriamento era iniciado. Uma vez esfriado a aproximadamente 30°C , a suspensão das proteínas do soro precipitadas era bombeada para uma centrífuga clarificadora "De Laval" (≈ 6.000 rpm), onde era separado uma espécie de concentrado protéico que ficava retido no bojo da centrífuga, cuja composição se encontra no Quadro 5. Este concentrado protéico era acondicionado em cubas de aço inoxidável, tampadas e armazenadas em câmara fria ($t = 4-6^\circ\text{C}$), onde permanecia até o momento de sua utilização. Foi determinado experimentalmente que o concentrado protéico pode ser normalmente utilizado até 15 dias depois de sua extração, desde que sejam obedecidas as condições de estocagem mencionadas acima.

A centrífuga "De Laval" utilizada nesta fase do trabalho apresentava praticamente o dobro da velocidade da centrífuga empregada nos testes de laboratório, por isto, a extração das proteínas do soro foi bem mais eficiente, conseguindo-se, portanto um maior rendimento em concentrado protéico.

Quadro 5 - Composição do concentrado protéico e relação entre proteína e gordura do soro nele retidas.

Produto	Umidade (%)	Proteína (%)	Gordura (%)	Lactose (%)	Cinzas (%)
Soro Desnatado	-	0,72	0,02	-	-
Concentrado Protéico	75,32	18,31	1,83	1,16	0,30
Soro Desproteïnizado	-	0,25	0,01	-	-

O concentrado protéico extraído por esse procedimento representou 65% de aproveitamento das proteínas do soro e foi mais concentrado que o obtido pelo processo Centry-Whey; enquanto que o primeiro apresentava aproximadamente 75% de umidade e 25% de sólidos totais, dos quais cerca de 74% são proteínas, o segundo continha, de acordo com Pien (55), em torno de 80-85% de umidade e 15-20% de sólidos totais, dos quais 65% são proteínas. Embora os resultados obtidos tenham sido melhores no que se refere à concentração de proteínas, o procedimento de extração utilizado no presente trabalho não é muito prático, porque a remoção das proteínas não foi feita automaticamente, como no caso do processo Centry-Whey.

Padronização da Tecnologia do Queijo

Minas Meia Cura

A tecnologia empregada na fabricação experimental do queijo Minas Meia Cura foi, em linhas gerais, a mesma adotada na unidade industrial do Instituto de Laticínios "Cândido Tos

tes", trabalhando-se na fase inicial com volumes de 100 litros de leite.

Os queijos obtidos nas 3 primeiras partidas experimentais foram analisados após 20 dias de cura. Os resultados indicaram variações relativamente grandes, especialmente no que se refere aos conteúdos de umidade e de sal. Análises efetuadas em queijos comerciais normalmente fabricados na unidade industrial do Instituto também revelaram essas variações, como pode ser observado no Quadro 6, nas partidas de 4 a 7.

Foi determinado experimentalmente que um dos principais fatores responsáveis pela excessiva variação na umidade dos queijos era o sistema de prensagem, uma vez que eram utilizadas prensas verticais coletivas; além disso a pressão aplicada era inferior à recomendada. No que se refere ao teor de sal, depois de alguns testes comparativos junto com a equipe técnica do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", foi possível observar que os queijos cujo conteúdo de sal estava acima de 2,0%, recebiam críticas de salgados. Sabe-se, também, através da literatura (34), que concentrações de sal acima de 2,0% podem provocar uma inibição parcial da cultura lática, o que é bastante indesejável.

Tendo em vista esses aspectos, algumas alterações na tecnologia tradicional tornaram-se necessárias visando a padronização do produto. Assim, no que se refere ao controle da umidade, foi utilizado um conjunto de prensas individuais para melhor controlar a pressão exercida em cada queijo, usando a pressão correta. Partindo do tempo de prensagem de 14 horas recomendado pela técnica tradicional, reduziu-se o tempo gradativamente até cerca de 6 horas, que foi o necessário para que o produto final apresentasse um teor de umidade de $43 \pm 1\%$, como pode ser verificado no Quadro 6, partidas padronizadas. A umidade de $43 \pm 1\%$ foi fixada em função da literatura (68) e tam

Quadro 6 - Composição do queijo Minas Meia Cura, antes e depois da padronização.

Partidas	Umidade (%)	Gordura (%)	Sal (%)	pH
<u>Antes da Padronização</u>				
1	45,20	28,00	2,52	5,30
2	42,40	27,00	2,20	5,20
3	41,00	27,50	2,10	5,30
4	43,50	26,00	2,10	5,40
5	44,01	27,50	2,40	5,30
6	47,00	27,00	2,35	5,30
7	40,06	27,50	2,24	5,40
Média	43,39	27,21	2,25	5,31
<u>Depois da Padronização</u>				
1	42,43	28,00	1,62	5,35
2	42,10	29,00	1,57	5,40
3	43,42	27,50	1,55	5,40
4	42,36	27,50	1,70	5,30
5	43,60	28,00	1,60	5,40
Média	42,78	28,00	1,61	5,37

bém por ser o valor médio da umidade dos queijos antes da padronização.

Depois da padronização do teor de umidade considerado como satisfatório para o queijo, experimentos foram efetuados visando a determinação do tempo ideal de salga, para que o

teor de sal no produto final permanecesse entre 1,5 a 2,0%; assim, a partir de 8 horas de salga em salmoura a 20%, foram retirados 2 queijos a cada 2 horas e, depois de 20 dias de cura, foram analisados quanto ao teor de sal. Verificou-se com isto que o tempo necessário para que os queijos atingissem o teor de sal desejado, situou-se em torno de 12 horas, como pode ser verificado no Quadro 6, partidas padronizadas.

Incorporação das Proteínas do Soro ao Queijo

Minas Meia Cura

Duas foram as possibilidades que se apresentaram para a incorporação do concentrado protéico ao queijo; dentre elas a incorporação à massa parecia ser a mais indicada em função de ser uma operação fácil e prática, entretanto, a distribuição na massa, além de causar o resfriamento dos grãos, o que dificulta a sua união, proporciona heterogeneidade no queijo, tanto na sua coloração como no sabor. A segunda possibilidade, que é comumente recomendada pela literatura (39, 55, 69), sugere a incorporação do concentrado protéico diretamente ao leite. Para isso, as proteínas do soro têm que estar desnaturadas, caso contrário, sua incorporação ao leite se traduzirá numa nova perda no soro da fabricação seguinte.

O concentrado protéico obtido no presente trabalho apresentava-se relativamente compacto, o que dificultava sua incorporação ao leite. Assim sendo, foram efetuados alguns experimentos com o objetivo de obter uma distribuição, de tal forma que as partículas permanecessem em suspensão durante o período de coagulação, a fim de que fossem retidas homogeneamente.

Inicialmente tentou-se a distribuição do concentrado

protéico no leite por meio de agitação manual, utilizando-se para isso agitadores de uso comum na indústria queijeira. Os resultados obtidos não foram satisfatórios, pois as proteínas permaneceram parcialmente agregadas e, em função de sua maior densidade, depositaram no fundo do tanque assim que cessou a agitação, não sendo portanto retidas pelo coágulo. Em seguida foi efetuada uma nova experiência empregando um tanque provido de agitador mecânico. Embora a agitação tivesse sido mais eficiente que a manual, também não foi satisfatória e os resultados foram semelhantes aos do experimento anterior.

Uma terceira tentativa foi realizada utilizando um liquidificador comum onde o concentrado protéico foi homogeneizado juntamente com pequena quantidade de leite. Com esse procedimento o concentrado protéico foi incorporado ao leite de forma bem mais homogênea, mas mesmo assim foram notados pequenos grumos que decantaram rapidamente. Esta operação permitiu resultados relativamente satisfatórios, entretanto o rendimento foi abaixo do esperado e alguns queijos apresentaram-se muito heterogêneos, por incluírem as partículas decantadas antes da coagulação.

Visando obter uma dispersão ainda mais estável do que a conseguida com o liquidificador, foi experimentado um pequeno homogeneizador de pistão (Gaulin, 500 l/hs) comumente empregado na homogeneização da gordura do leite. Para reduzir os efeitos negativos da homogeneização sobre o leite destinado à fabricação de queijos, o concentrado protéico foi homogeneizado em apenas 5% do volume total do leite. A fim de reduzir ao mínimo o fracionamento dos glóbulos de gordura, o que afeta a consistência do coágulo além de aumentar a perda de gordura, empregou-se uma pressão de homogeneização entre 1500 e 1800 psi, com o que a incorporação do concentrado protéico foi bastante satisfatória. O leite contendo as proteínas do soro foi devolvi-

do aos 95% restantes, sendo então pasteurizado a 65°C por 30 minutos em pasteurizador lento (St. Regis, 200 l) provido de agitação mecânica. Após a pasteurização, foi esfriado à temperatura de 34°C aproximadamente e enviado ao tanque de coagulação.

Partindo-se do leite ao qual o concentrado protéico foi incorporado conforme o procedimento acima descrito, foram efetuadas partidas experimentais com o objetivo de definir uma tecnologia de fabricação para o queijo Minas Meia Cura. Inicialmente a fabricação se processou segundo a técnica tradicional, entretanto na temperatura de 32°C a coagulação do leite se desenvolvia muito lentamente, chegando a atingir por vezes, até 1,5 horas. Além disso, a consistência do coágulo formado era bastante diminuída, dificultando o corte pelo seu aspecto muito mole e quebradiço. Devido a essa fragilidade, durante a mexedura da massa os grãos se fragmentaram em demasia e, consequentemente, a perda de massa era grande durante a dessoragem; da mesma forma a perda de gordura no soro aumentava consideravelmente, chegando a atingir valores da ordem de 1,0%, enquanto que o normal para o queijo Minas Meia Cura situa-se na faixa de 0,3 a 0,5%. A esses aspectos pode-se também acrescentar o fato de que o "ponto de massa" era alcançado num período bem maior, o que retardava ainda mais o processo.

Procurando aumentar a consistência do coágulo e diminuir o tempo de coagulação foram realizadas várias experiências aumentando gradativamente a temperatura de coagulação. Ao atingir 36°C conseguiu-se resultados bastante satisfatórios, uma vez que a coagulação se processou em 60 minutos e o coágulo obtido apresentou-se bem mais consistente. Pode-se notar, entretanto, que a consistência ainda era ligeiramente inferior à do coágulo obtido com o leite comum. Isto pode ser explicado pelo fato que as proteínas do soro incorporadas ao leite são retidas apenas mecanicamente pelo coágulo, causando assim um en

fraquecimento do mesmo.

Além da elevação na temperatura de coagulação, ainda objetivando a redução das perdas de massa no soro, o período de repouso dos grãos após o corte e no intervalo das mexeduras foi aumentado, sendo a agitação efetuada com mais cuidado, principalmente na fase inicial do tratamento da massa. As operações subsequentes foram efetuadas sem qualquer alteração, salvo no que se refere aos tempos de prensagem e salga, onde foram seguidas as modificações para 6 e 12 horas, respectivamente, conforme as conclusões no trabalho de padronização do queijo.

Os queijos com proteína do soro permaneceram na fase de secagem após a salga, pelo período de 7 dias antes de serem embalados em "Cryovac" conforme a técnica tradicional. Entretanto, após os 20 dias de cura os queijos apresentaram um problema de sabor que foi atribuído ao excesso de umidade, causando condensação no interior da embalagem. Isto propiciou o desenvolvimento de sabor indesejável devido à própria embalagem e ao crescimento de microrganismos. Este defeito foi eliminado em partidas posteriores, quando se aumentou o período de secagem para 10 dias.

Uma vez definidas as modificações a serem efetuadas, foram realizadas experiências usando diferentes níveis de concentrado protéico no leite, visando determinar a melhor porcentagem a ser adicionada em função das características finais do queijo. Assim, ao leite foram incorporados, respectivamente, 0,5%, 0,75% e 1,0% do concentrado protéico, na base seca, em relação ao volume de leite utilizado (p/v), sendo os queijos julgados sensorialmente e analisados quanto a sua composição básica após os 20 dias de cura, Quadro 7.

Quadro 7 - Variação de composição entre os queijos padrão e com concentrado protéico (CP), após 20 dias de cura.

Determinações	Queijo Padrão*	Queijo + CP*		
		0,5%	0,75%	1,0%
Umidade (%)	42,92	46,50	48,30	49,65
Gordura (%)	28,50	23,00	22,00	21,00
Sal (%)	1,59	1,68	1,58	1,65
pH	5,45	5,35	5,30	5,25

* média de 2 partidas

Considerando-se que as proteínas do soro são retidas mecanicamente pelo coágulo, era de se esperar que a consistência final do queijo fosse enfraquecida na proporção em que se aumentasse o teor de concentrado protéico incorporado. E isto foi verificado ao se efetuar a avaliação sensorial dos produtos obtidos, cuja textura dos queijos com 0,75% e 1,0% era seca e quebradiça, muito embora a umidade fosse mais elevada que a do queijo padrão; foi também observado nesses produtos a presença do sabor das proteínas do soro, o qual foi mais intenso no queijo com 1,0%. Foi notado também que à medida que a adição do concentrado protéico aumentava, a cor do produto tornava-se mais esbranquiçada, distanciando-se bastante da coloração branco-creme, característica desse tipo de queijo.

Os resultados analíticos indicaram um progressivo aumento no teor de umidade dos queijos, à medida que aumentava a porcentagem de incorporação, embora a técnica de fabricação tenha sido rigorosamente a mesma. Isto pode ser explicado pela maior capacidade de retenção de umidade pela proteína do soro incorporada, resultando num rendimento ainda maior.

Em face das alterações verificadas nas características do queijo Minas Meia Cura em consequência da adição do concentrado protéico e, como o objetivo do presente trabalho era a incorporação das proteínas do soro sem promover grandes modificações nas características finais do queijo, uma vez que o produto obtido deverá ser comercializado, indistintamente, como queijo Minas Meia Cura, a incorporação ao nível de 0,5% apresentou os resultados que satisfizeram as exigências acima.

Fabricação do Queijo Minas Meia Cura Incorporado de 0,5% de Concentrado Protéico

Uma vez definido que a incorporação do concentrado protéico ao queijo Minas Meia Cura é viável e que o nível de 0,5% de adição apresentou resultados satisfatórios, uma série de partidas foi realizada usando apenas esse nível de incorporação.

Leite padronizado a cerca de 3,3% de gordura era incorporado da proteína do soro utilizando o homogeneizador de pistão, conforme a técnica já descrita. A seguir pasteurizado e esfriado à temperatura de coagulação, que nesse caso passou a ser 36°C, de acordo com os resultados obtidos na modificação da técnica de fabricação. O Quadro 8 mostra a composição básica e a acidez do leite padronizado, do concentrado protéico e do leite com concentrado protéico, que foram as matérias-primas utilizadas nessa série experimental.

Quadro 8 - Comparação do leite padronizado, do concentrado proteico (CP) e do leite com 0,5% do concentrado proteico.

Produto	Proteína (%)	Gordura (%)	Lactose (%)	pH
Leite	3,05	3,27	-	6,6
C.P.	18,31	1,83	1,16	4,0
Leite + CP	3,39	3,40	-	6,5

Os queijos obtidos nesta fase foram julgados sensorialmente e analisados quanto à sua composição logo após a salga (aproximadamente 48 horas da fase inicial da fabricação), no momento de serem embalados (após 7 dias na fabricação tradicional e 10 dias na técnica padronizada) e após 20 dias de fabricados, ou seja, no final da cura. Os resultados apresentados no Quadro 9 confirmaram os resultados preliminares, de que os queijos com concentrado proteico retêm mais umidade que o queijo padrão e isto, fez com que aqueles queijos perdessem bem mais umidade durante a secagem. Os demais componentes estão de acordo com o fator de diluição devido ao maior teor de umidade dos queijos com concentrado proteico, entretanto a proteína foi compensada em função do concentrado proteico adicionado, ao passo que a gordura apresentou um decréscimo ligeiramente inferior ao esperado.

A incorporação da proteína do soro ao queijo Minas Meia Cura, além de ser uma forma de aproveitamento de um material proteico de excelente valor nutritivo, que normalmente é descartado na indústria queijeira, indicou uma grande perspectiva sob o ponto de vista econômico e tecnológico. O fato dos queijos reterem um maior teor de umidade, o que determinou um rendimento acima do esperado, e uma cura ligeiramente mais acelerada.

Quadro 9 - Variação da composição dos queijos padrão e com concentrado protéico, desde a fabricação até o final da cura.

Determinações	Após a Salga (2 dias)		Na Embalagem (7 e 10 dias)		Depois da Cura (20 dias)	
	P	CP	P	CP	P	CP
Umidade (%)	45,19	50,04	43,36	46,81	42,92	46,52
Proteína (%)	-	-	-	-	26,08	26,11
Gordura (%)	27,50	21,00	28,00	23,13	28,50	23,25
Sal (%)	1,54	1,69	1,48	1,51	1,59	1,70
pH	5,25	5,20	5,35	5,30	5,45	5,35

P - queijo padrão - média de 6 partidas.

CP - queijo com concentrado protéico - média de 6 partidas.

Pelo fato dos queijos com concentrado protéico apresentarem um teor de umidade cerca de 3,6% a mais, foi possível obter um aumento no rendimento da ordem de 13% e, apesar da maior umidade, os queijos apresentaram praticamente as mesmas características do queijo padrão. Pode ser levado a pensar, sob o ponto de vista nutritivo, que o rendimento não é verdadeiro, em função do fator de diluição, entretanto, os resultados no Quadro 9 indicam que o teor de proteínas é praticamente o mesmo devido ao concentrado protéico incorporado, havendo um pequeno decréscimo no teor de gordura.

O Quadro 10 mostra a relação do rendimento obtido em função da incorporação do concentrado protéico. Com os 3,6% de umidade a mais foi possível obter um rendimento da ordem de 13% a mais, entretanto se considerar o rendimento em função dos sólidos totais ou da umidade corrigida, o rendimento real é da ordem de 6%.

Quadro 10 - Rendimento do queijo com 0,5% de concentrado protéico (CP).

Produto	Litros de Leite	Rendimento	
		Bruto	Com Umidade Corrigida
Queijo Padrão	9,94	1,00	1,00
Queijo + CP	9,94	1,13	1,06*

* peso corrigido para a umidade do queijo padrão (\approx 43%)

Ao se degustar os queijos pode-se observar que após 15 dias de cura o queijo com concentrado protéico apresentava praticamente o mesmo sabor que o queijo padrão com 20 dias de cura, havendo portanto uma redução no tempo de maturação da ordem de 20%. Entretanto, ao se empregar o método comumente usado para a determinação analítica do índice de maturação, através da relação entre as proteínas solúveis e totais (17), os resultados apresentando no Quadro 11 indicaram que o queijo padrão apresentava maior índice que o queijo com concentrado protéico. Uma possível explicação para isto pode ser o fato de que a constituição protéica do queijo foi alterada ao se incorporar as proteínas do soro na forma insolúvel que, possivelmente, apresentavam distinto comportamento ou interferiam no comportamento da caseína durante a cura.

Conforme já mencionado, tanto o queijo padrão como o com concentrado protéico processado de acordo com a tecnologia desenvolvida no presente trabalho, apresentaram um teor protéico aproximadamente igual. Isto, permite considerar que o queijo com concentrado protéico apresenta um valor alimentício superior ao do queijo padrão, uma vez que as proteínas do soro possuem um valor nutritivo aproximadamente 40% acima da caseína.

Quadro 11 - Comparação dos índices de maturação dos queijos padrão e com 0,5% de concentrado protéico (CP).

Produto	Proteína Total (%)	Proteína Solúvel (%)	Índice de Maturação
Queijo Padrão*	26,08	3,39	13,00
Queijo + CP *	26,11	2,53	9,67

* média de 6 partidas.

Com o objetivo de conhecer a aceitação do queijo com concentrado protéico em comparação com o queijo padrão, foi realizada na fase final dos trabalhos, junto a seção comercial do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", uma avaliação sensorial incluindo, aleatoriamente, 50 pessoas que normalmente consomem o queijo Minas Meia Cura, das quais 11 eram do sexo feminino, vide Quadro 12.

Quadro 12 - Teste de preferência entre o queijo Minas Meia Cura padrão e com 0,5% de concentrado proteico (CP).

Provadores	Preferência pelo Queijo Padrão	Preferência pelo Queijo + CP
Sexo Masculino	17	22
Sexo Feminino	9	2
Total	26	24

Embora esse número não comportasse um cálculo estatístico, os resultados indicaram que as preferências se equilibraram, havendo uma ligeira tendência para o lado do queijo padrão

com relação aos provadores do sexo feminino; isto pode ser explicado pelo fato de que o queijo com concentrado protéico apresentava um sabor ligeiramente mais acentuado, devido a diferença de cura.

CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos no presente trabalho foi possível retirar as seguintes conclusões:

- 1 - Partindo-se do soro desnatado do queijo Minas Meia Cura foi possível aproveitar cerca de 65% das proteínas do soro, adotando um aquecimento a $95 \pm 1^{\circ}\text{C}$, durante no mínimo 10 minutos e uma acidificação a um pH em torno de 4,8.
- 2 - O concentrado protéico, obtido através da centrifugação, apresentava cerca de 75% de umidade, 18% de proteína e pequena quantidade de gordura, lactose e cinzas.
- 3 - Estudos sobre composição do queijo Minas Meia Cura comercial indicaram uma grande variação no teor de umidade e uma tendência para o excesso de sal. Pequenas alterações na tecnologia permitiram padronizar o queijo Minas Meia Cura a cerca de 43% de umidade e 1,6% de sal.
- 4 - A incorporação das proteínas ao queijo Minas Meia Cura só foi possível através de uma homogeneização do concentrado protéico ao leite antes da pasteurização e coagulação.
- 5 - A proteína do soro ao ser incorporada ao leite altera, ligeiramente, as condições de coagulação, tendendo a enfraquecer o coágulo; diminui a coesão da massa, dando um queijo de textura mais aberta. E proporções acima de 0,5% de concentrado protéico na base seca, interferem sensivelmente no sabor final do queijo.

- 6 - Os resultados permitiram um conclusão final indicando que é tecnologicamente possível incorporar proteínas de soro, ao nível de 0,5% do concentrado protéico, ao queijo Minas Meia Cura sem alterar praticamente suas características.
- 7 - A incorporação de proteínas do soro ao queijo Minas Meia Cura, além de propiciar um acrécimo no rendimento na ordem de 13% reduziu o tempo de cura em aproximadamente 20%.

REFERÊNCIAS

1. Adrian, J. 1973. Valeur Alimentaire du Lait. La Maison Rustique. Paris, França, 229 p.
2. Alais, C. 1970. Ciencia de la Leche: Principio de Tecnica Lechera. 1ª ed. Cia. Comercial e Editorial Continental S.A., Barcelona, Espanha, 594 p.
3. Amieva, M. R. 1973. El aprovechamiento del suero de queceria. Revista Española de Lecheria, 88:61.
4. A.O.A.C. 1975. Official Methods of Analysis. 12ª ed. Association of Official Agricultural Chemists. Washington, D.C., Proc. 16223.
5. APRIA. 1973. Les Lactoserums - Traitements et Utilisations. Association pour la Promotion Industrie - Agriculture. Paris, França, 262 p.
6. Babad, J., J. Avidon, N. Sharon-Shtrikman e A. Grumpeter. 1952. The use of whey proteins in process cheese production. Food Technology, 3:143.
7. British Standards Institution. 1974. Sampling of cheese. British Standards Institution, BS: 809, p. 12.
8. Burkey, L. A. e H. E. Walter. 1946. Isolation of whey proteins and their conversion into food products. J. Dairy Science, 29(8): 503.
9. Bylund, G. 1975. Tratamento e utilização do soro. Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", 179:27.
10. Casalis, J. 1974. Consideraciones sobre la utilización de lactosuero en la industria de alimentación. Revista Española de Lecheria, 94:221.
11. Castro, I. F. e M. Z. Mesquita. 1925. Typo de queijo Minas Annaes da 1ª Conferência Nacional de Leite. Sociedade Nacional de Agricultura, 354 p.

12. Castro, I. F. e M. Z. Mesquita. 1940. Uniformização do queijo Minas. 3ª ed. (Separata). Serviço de Informação Agrícola, Ministério da Agricultura, 7 p.
13. Cheeseman, G. C. 1975. Milk Proteins: form and functions of milk proteins. *J. Society of Dairy Technology*, 28(4): 181.
14. Christensen, V. W. 1976. Whey utilization in the United States. *Dairy Industries International*, (3): 84.
15. Delaney, R. A. M. 1976. Composition, properties and uses of whey protein concentrates. *J. Society of Dairy Technology*, 29(2): 91.
16. Forsum, E., L. Hambraeus e I. H. Siddigi. 1974. Large scale fractionation of whey protein concentrates. *J. Dairy Science*, 57(6): 659.
17. Furtado, J. P. 1975. Análises Bromatológicas. (Apostila). Universidade Federal de Juiz de Fora - MG., Brasil, 97p.
18. Gac, A., J. Delaunay e F. Bertrand. 1975. Les Valorisations Industrielles des Lactoserums. Centre Technique du Génie Rural des Eaux et des Forêts. Ministère de L'Agriculture. Paris. França, 65 p.
19. Génin, G. 1963. L'utilisation du sérum de fromagerie dans production des levures. *Le Lait*, 421 e 422: 35.
20. Godina, A. L. 1974. Proteínas de origem lácteo em preparados alimentícios. *Via Lactea*, 23: 15.
21. Godina, A. L. 1974. Proteínas de origem lácteo em preparados alimentícios. *Via Lactea*, 24: 19.
22. Godina, A. L. 1975. Utilización de las proteínas del suero en alimentación humana. *Via Lactea*, 25: 21.
23. González, M. 1969. Some modifications in the manufacture of lactose and whey proteins. *Dairy Science Abstracts*, 31(5): 244.
24. Guy, E. J., E. Vettel e M. J. Pallansch. 1967. Denaturation of cottage-cheese whey proteins by heat. *J. Dairy Science*, 50(6): 828.

25. Hansen, P. M. T., J. Hidalgo e I. A. Gold. 1971. Reclamation of whey protein with carboxymethylcellulose. *J. Dairy Science*, 54(6): 830.
26. Henry, K. M. 1957. The nutritive value of milk proteins. *Dairy Science Abstracts*, 19(8): 605.
27. Hidalgo, J., J. Kruseman e H. V. Bohren. 1973. Recovery of whey proteins with sodium-hexametaphosphate. *J. Dairy Science*, 52(8): 988.
28. Hill, R. D. e J. G. Zadow. 1974. The precipitation of whey proteins by carboxymethylcellulose of differing degrees of substitution. *J. Dairy Research*, 41: 373.
29. Humphries, M. A. e K. R. Marshall. 1974. Food of soluble whey proteins. XIX International Dairy Congress. India, 1 E: 767.
30. Humphries, M. A. e E. E. Lorey. 1976. The protein quality of some New Zealand milk products. *N. Z. J. Dairy Science and Technology*, 11(3): 147.
31. Hynd, J. E. 1970. Utilization of milk proteins. *J. Society of Dairy Technology*, 23(2): 95.
32. International Dairy Federation. 1962. Determination of the total nitrogen content of milk by the Kjeldahl method, FIL-IDF: 20, 3 p.
33. Instituto de Laticínios Cândido Tostes. 1976. Tecnologia da Fabricação de Queijo. (Apostila). Instituto de Laticínios Cândido Tostes. Juiz de Fora-MG., Brasil, 217 p.
34. Irvine, D. M. e W. V. Price. 1961. Influence of salt on the development of acid by lactis starters in skim milk and curd submerged in brine. *J. Dairy Science*, 2(44): 243.
35. Jelen, P. 1974. New uses for the heat-acid whey fractionation products. Whey Products Conference. Agricultural Research Service U. S. Department of Agriculture, USA, 128 p.
36. Jenness, R. 1958. Heat denaturation of milk proteins. *Dairy Science Abstracts*, 20(7): 606.

37. Jenness, R. e S. Patton. 1959. Principles of Dairy Chemistry. John Wiley & Sons, Inc. New York, N.Y., USA, 446 p.
38. Kosikowski, F. 1970. Cheese and Fermented Milk Foods. 3^a ed. Edwards Brothers, Inc., Ann Arbor, Michigan, USA, 429 p.
39. Krasheninina, P. F., U. P. Tabachnikov, U. K. Nebert e E.U. Kononova. 1974. Effect of denatured whey proteins on the structure and consistency of cheese. XIX International Dairy Congress. India, I E: 822.
40. Kuwata, T., T. Kobayashi e K. Miyazawa. 1974. Recovery and solubility of whey proteins separated from whey by heating. XIX International Dairy Congress. India, I E : 823.
41. Larson, B. L. e G. D. Roller. 1955. Heat denaturation of the specific serum proteins in milk. J. Dairy Science , 38(4): 351.
42. Mann, E. J. 1968. Tratamiento e utilización del suero. Revista Española de Lechería, 70: 241.
43. Mann, E. J. 1976. Whey utilization. Dairy Industries International, (1): 21.
44. Mann, E. J. 1976. Whey utilization. Dairy Industries International, (2): 51.
45. Marshall, K. R., J. L. Short e R. K. Doughty. 1976. The use of cation exchange in the production of traditional lactalbumin from cheddar cheese whey. N. Z. J. of Dairy Science and Technology. 11(1): 69.
46. McDonough, F. E., W. A. Mattingly e J. H. Vestal. 1971. Protein concentrate from cheese whey by ultrafiltration J. Dairy Science, 54(10): 1406.
47. Modler, H. W. e D. B. Emmons. 1977. Properties of whey protein concentrate prepared by heating under acidic conditions. J. Dairy Science, 60(2): 177.

48. Moretti, R. H. 1976. Contribuição ao desenvolvimento de uma Mistura Protéica Solúvel em pH Ácido para Crianças, em Idade Escolar. Tese de Livre Docência. Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, UNICAMP. Campinas, S.P., Brasil, 111 p.
49. Morr, B. V. e S. H. C. Lin. 1970. Preparation and properties of an alcohol-precipitated whey proteins concentrates. *J. Dairy Science*, 53 (9): 1162.
50. Moor, C. V. 1975. Milk proteins in dairy and food processing. *J. Dairy Science*, 58(7): 977.
51. Nakaniski, T., K. Takahashi e T. Itoh. 1968. Changes in whey protein on heating. I - Changes in whey protein solution and skim milk. *Dairy Science Abstracts*, 30(1):59.
52. Nieto, F. J. 1974. Sueros de quesería: orientaciones sobre su aprovechamiento y revalorización. *Via Lactea*, 6(21): 23.
53. Olsen, H. S. 1975. Le traitement du lactosérum. *Le Technicien du Lait*, (5): 7.
54. O'Sullivan, A. C. 1971. Whey protein denaturation in heat processing of milk and dairy products. *J. Society of Dairy Technology*, 24(1): 45.
55. Pien, J. 1976. Étude de la récupération des protéines dans le serum de fromagerie. *La Technique Laitière*, 884: 17.
56. Pien, J. 1976. Étude de la récupération des protéines dans le serum de fromagerie. *La Technique Laitière*, 887: 17.
57. Pinto, M. E. e A. Houbraken. 1976. Metodos de Analises Químicas de Leche e Productos Lacteos. Centro Regional de Capacitación en Lecheria de FAO. Santiago. Chile, 345p.
58. Prodanski, P. G. 1968. Optimal acidity for complete coagulation and separation of whey proteins. *Dairy Science Abstracts*. 30(6): 315.
59. Renaudin, M. 1975. Comment lutter contre la pollution en industries laitières. *Le Technicien du Lait*, (11):5.

60. Reyna, R. D., O. Sbodio, E. Castelao, R. Baccheta e O. Perin. 1975. Sueros de queseria: determinación de parámetros físico-químicos. Universidad Nacional del Litoral, Santa Fé, Argentina, 1: 129.
61. Ribeiro, J. A. 1961. Fabricação de Queijos. Serviço de Informação Agrícola, Ministério da Agricultura, Brasil, 207 p.
62. RIISPOA. 1962. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Serviço de Informação Agrícola, Ministério da Agricultura, Brasil, 342 p.
63. Robinson, B. P., J. L. Short e K. R. Marshall. 1976. Traditional lactalbumin manufacture, properties and uses. N. Z. J. Dairy Science Technology, 11(2): 114.
64. Roeper, J. 1970. La precipitation de proteines de serum a partir du serum. XVIII International Dairy Congress. Australia, 1 F: 444.
65. Rogick, F. A. 1944. Estudos sobre a tecnologia do queijo Minas. Boletim da Indústria Animal, 7 (3 e 4): 81.
66. Rogick, F. A. 1954. O queijo Minas. Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo. Notas Agrícolas, IX: 330.
67. Sinnamon, H. J. 1974. The heat coagulation of cottage cheese whey proteins and their incorporation into macaroni. Whey products Conference. Agricultural Research Service, U.S. Depto. of Agriculture. U.S.A., 128 p.
68. Souza, E. A. 1946. Queijo Minas. Felctiano - Revista do Leite e Derivados. 4:5.
69. Szabo, G., A. Knasz. 1974. Utilization of whey protein precipitate in cheesemaking. XIX International Dairy Congress, India, 1 E: 831.
70. Townend, R. e D. M. Gyruicsck. 1974. Heat Denaturation of whey and model protein systems. J. Dairy Science, 57(10): 1152.
71. Webb, B. H. e A. H. Johnson. 1965. Fundamentals of Dairy Chemistry. The AVI Publishing Co., Inc. Westport, Connecticut, USA, 827 p.

72. Wingerd, W. H. 1971. Lactalbumin as a food ingredient. J. Dairy Science, 54(8): 1234.
73. Wolfschoon, A. F. e M. M. Furtado. 1977. Composição dos soros de queijo Prato e Minas. Nota Prévia. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, 194: 21.