



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO TECNOLÓGICO  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E  
ENGENHARIA DE ALIMENTOS  
CURSO ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Maria Clara Caldas Duda

**Efeitos da transglutaminase na textura e sinérese do iogurte natural integral**

Florianópolis

2024

Maria Clara Caldas Duda

**Efeitos da aplicação da transglutaminase na textura e sinérese do iogurte natural integral**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Engenharia de Alimentos do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharela em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Cristiano José de Andrade  
Coorientadora: Me. Rejane de Oliveira Ramos

Florianópolis

2024

Ficha cartográfica gerada por meio de sistema automatizado gerenciado pela  
BU/UFSC.

Dados inseridos pela própria autora

Duda, Maria Clara Caldas

Efeitos da aplicação da transglutaminase na textura e sinérese do iogurte natural integral / Maria Clara Caldas Duda ; orientador, Cristiano José de Andrade, coorientador, Rejane de Oliveira Ramos, 2024.

37 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Graduação em Engenharia de Alimentos, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Engenharia de Alimentos. 2. Iogurte. 3. Enzima. 4. Transglutaminase. 5. Fermentação. I. de Andrade, Cristiano José. II. Ramos, Rejane de Oliveira. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Engenharia de Alimentos. IV. Título.

Maria Clara Caldas Duda

**Efeitos da aplicação da transglutaminase na textura e sinérese do iogurte natural integral**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Bacharela e aprovado em sua forma final pelo Curso Engenharia de Alimentos.

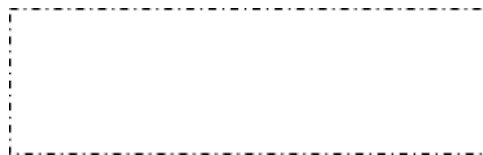
Florianópolis, 17 de dezembro de 2024.



Patrícia Poletto

Coordenação do Curso de Engenharia de Alimentos

**Banca examinadora**



Prof. Cristiano José de Andrade, Dr.

Orientador

Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC



Profa. Débora de Oliveira, Dra.

Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC



Prof. Acácio Antonio Ferreira Zielinski Dr.

Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC

Florianópolis, 2024.

Meus sinceros agradecimentos à minha família. Com eles,  
fui capaz de chegar até aqui.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à minha mãe Luziane Caldas Duda, ao meu pai, Laercio Luiz Duda e ao meu irmão, João Luiz Caldas Duda, que estiveram comigo por toda a minha vida. Foram eles os meus principais motivadores para entrar em Engenharia de Alimentos em 2019, e tenho certeza que consegui chegar ao desenvolvimento desse trabalho graças ao apoio que me deram durante a vida, além dos últimos 5 anos.

Agradeço ao meu Professor Orientador, Cristiano José de Andrade, e à minha Coorientadora, Rejane de Oliveira Ramos, pelo auxílio constante que me deram ao longo do ano. Sou grata pela oportunidade de desenvolver esse trabalho e pela confiança nas minhas habilidades para isso.

Por fim, agradeço a todos os outros Professores e amigos que me ensinaram e estiveram presentes durante esses anos da graduação. Minha experiência não teria sido a mesma sem cada um.

“O começo de todas as ciências é o espanto de as coisas serem o que são”

(Aristóteles)

## RESUMO

Para atender à crescente demanda do consumo de iogurte, o uso de enzimas surge como alternativa à tradicional adição de sólidos totais para aprimorar a textura e separação de soro. Neste trabalho, investigou-se o efeito da transglutaminase, enzima que atua na formação de ligações covalentes entre proteínas, na viscosidade e sinérese de iogurte natural. Diferentes concentrações de mTGase (transglutaminase microbiana de 0,5, 1,5, e 2,5 U/g de proteína) foram adicionadas ao leite antes da fermentação. Os iogurtes resultantes foram avaliados quanto à viscosidade por meio de um reômetro variando em diferentes taxas de cisalhamento de 1 a 1000 s<sup>-1</sup> e sinérese por centrifugação a 2035 RCF por 10 min, em 7 e 15 dias de armazenamento. Os resultados demonstraram que a adição de mTGase, principalmente nas concentrações de 1,5 e 2,5 U/g de proteína, reduziu significativamente a sinérese e aumentou a viscosidade do iogurte, conferindo uma textura mais firme e estável. Contudo, a viscosidade da amostra com 1,5 U/g de proteína apresentou maior redução após 15 dias de armazenamento, parâmetro influenciado por uma variedade de componentes do iogurte, enquanto não houve redução significativa de sinérese com o tempo. Conclui-se que a mTGase apresenta potencial para melhorar as propriedades texturais do iogurte, sendo uma alternativa para a indústria de laticínios.

**Palavras-chave:** iogurte natural integral; transglutaminase; enzima; fermentação; produto lácteo.

## ABSTRACT

To meet the growing demand for yogurt, the use of enzymes has emerged as an alternative to the traditional addition of total solids to improve texture and whey separation. This study investigated the effect of transglutaminase, an enzyme that acts to form covalent bonds between proteins, on the viscosity and syneresis of natural yogurt. Different concentrations of mTGase (microbial transglutaminase of 0.5, 1.5, and 2.5 U/g of protein) were added to the milk before fermentation. The resulting yogurts were evaluated for viscosity using a rheometer varying at different shear rates from 1 to 1000 s<sup>-1</sup> and syneresis by centrifugation at 2035 RCF for 10 min, at 7 and 15 days of storage. The results showed that the addition of mTGase, especially at concentrations of 1.5 and 2.5 U/g of protein, significantly reduced syneresis and increased the viscosity of the yogurt, giving it a firmer and more stable texture. However, the viscosity of the sample with 1.5 U/g of protein showed the greatest reduction after 15 days of storage, a parameter influenced by a variety of yogurt components, while there was no significant reduction in syneresis over time. It can be concluded that mTGase has the potential to improve the textural properties of yogurt and is an alternative for the dairy industry.

**Keywords:** whole natural yogurt; transglutaminase; enzyme; fermentation; dairy product.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Reações catalisadas pela transglutaminase	20
Figura 2 – Sinérese após 7 dias de armazenamento	27
Figura 3 – Sinérese após 15 dias de armazenamento	28
Figura 4 – Comparação da sinérese entre 7 e 15 dias de armazenamento	29
Figura 5 – Viscosidade após 7 dias de armazenamento	30
Figura 6 – Viscosidade após 15 dias de armazenamento	31
Figura 7 – Comparação da viscosidade entre 7 e 15 dias de armazenamento	32
Figura 8 – Taxa de cisalhamento e viscosidade após 7 dias de armazenamento	33
Figura 9 – Taxa de cisalhamento e viscosidade após 15 dias de armazenamento	34

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Aplicação da mTGase em alimentos	17
Tabela 2 – Sinérese após 7 dias de armazenamento	28
Tabela 3 – Sinérese após 15 dias de armazenamento	29

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

mTGase	Transglutaminase microbiana
Riispoa Animal	Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
TG	Transglutaminase

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>18</b>
2.1	OBJETIVO GERAL	18
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>18</b>
3.1	ENZIMAS NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS	18
<b>3.1.1</b>	<b>Transglutaminase</b>	<b>19</b>
<b>3.1.2</b>	<b>Potenciais aplicações da mTGase na indústria de laticínios</b>	<b>22</b>
3.2	IOGURTE	23
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>25</b>
4.1	MATERIAL	25
4.2	PREPARAÇÃO DO MATERIAL	26
4.3	ANÁLISES DAS AMOSTRAS DE IOGURTE	26
4.4	SINÉRESE	26
4.5	VISCOSIDADE	26
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>27</b>
5.1	SINÉRESE	27
5.2	VISCOSIDADE	30
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>34</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>36</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A evolução da produção leiteira no Brasil está diretamente ligada ao desenvolvimento tecnológico e à modernização do setor. Desde a implementação do Riispoa em 1952, que estabeleceu padrões de qualidade e segurança para o leite, o setor lácteo brasileiro passou por diversas transformações como o fim do tabelamento do leite pela Portaria 43 em 1990 que induziu a modernização e a profissionalização da atividade no país. A partir da década de 1990, a chamada "revolução tropical" impulsionou um crescimento expressivo na produção, resultado de avanços tecnológicos, aumento da produtividade e expansão do rebanho (Vilela et al., 2017). Alves et al. (2012), comparando o período de dez anos da série histórica do IBGE (1996–2006), evidenciaram que a adoção de tecnologias é responsável por 68% do incremento da produção, reforçando a importância da inovação para o setor lácteo brasileiro.

A demanda por produtos lácteos tem impulsionado a indústria a desenvolver e aprimorar uma variedade de opções, entre as quais o iogurte se destaca. O iogurte é um produto lácteo resultante da fermentação realizada por *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* e *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus* (Brasil, 2007), existindo na alimentação humana desde que a fermentação era uma ferramenta para conservar o leite (Fernandes, 2011). Com sua qualidade e atributos nutricionais, rico em micronutrientes, com quantidades significativas de riboflavina, vitaminas B-6 e B-12, cálcio, potássio, zinco e magnésio (Tremblay e Panahi, 2017) o iogurte conquistou um espaço significativo na dieta dos brasileiros, tornando-se um alimento popular (Silva e Pandolfi, 2020), além de ser agradável sensorialmente, prático e de rápido consumo. Logo, a valorização do leite como matéria-prima tem contribuído para a popularização do iogurte, refletindo de modo positivo em questões econômicas e produtivas. Com isso, surgiram inúmeras possibilidades de alternativas e aprimoramento do produto (Silva e Pandolfi, 2020).

Visto que o iogurte é o produto resultante da fermentação do leite pelas bactérias *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* (Brasil, 2007), uma das principais características do produto é sua consistência cremosa gerada pela coagulação das caseínas na produção de ácido láctico das cepas supracitadas nesse processo. Simultaneamente à formação da coalhada, há um efeito chamado sinérese, que consiste na separação do soro de

leite do produto (Lee e Lucey, 2010). Para reduzir a sinérese, que é indesejada no iogurte, a indústria de laticínios habitualmente recorre a práticas como aumentar o teor de sólidos adicionando produtos em pó com o leite ou soro de leite, além de espessantes (Tamime e Robinson, 1991), resultando em um iogurte com textura mais firme, menor sinérese e maior aceitabilidade.

Com a crescente demanda de derivados lácteos no Brasil e busca da população pelo iogurte, uma das alternativas à adição de sólidos no produto para diminuir a sinérese é o uso de enzimas. Uma delas é a TG (EC 2.3.2.13), uma transferase (Marx et al., 2008; Trespalacios e Pla, 2007) que catalisa a formação de ligações isopeptídicas entre resíduos de glutamina e lisina em proteínas (Buettner et al., 2012). Essas ligações cruzadas alteram significativamente as propriedades físico-químicas das proteínas, como viscosidade e estabilidade térmica (Kashiwagi et al., 2002). A enzima possui diferentes fontes na natureza, como animais, plantas e microrganismos (Yu et al., 2008), estando envolvida em diversos processos biológicos. A mTGase destaca-se por ser independente de cálcio e possuir processos de purificação mais simples, além de demonstrar alta eficiência em promover ligações cruzadas em diversas proteínas, como caseínas e globulinas de soja (Marx et al., 2008). Por atuar na formação de ligações covalentes entre proteínas, a TG é uma das enzimas que vem sendo exploradas na indústria alimentícia por demonstrar um grande potencial para conferir ao iogurte uma textura mais firme e reduzir a separação do soro de leite (Hong et al., 2005). Na Tabela 1 são apresentadas diferentes aplicações da TG em alimentos e seus efeitos.

Tabela 1: Aplicação da TG em alimentos

Fonte	Produto	Efeito	Referência
Carne	Carne reestruturada	Aumento da dureza, melhoras na textura	Trespalacios e Pla (2007)
Peixe	Patês de peixe, peixe reestruturado	Aumento da dureza	Téllez-Luis et al. (2002)
Leite	Sobremesas, bebidas lácteas, cremes	Melhora da textura e qualidade	Lauber et al. (2000), Sanl et al. (2001)
Caseína	Proteína reticulada	Redução de potencial alergênico	Ozer et al. (2007), Lauber et al. (2000)
Trigo	Produtos panificados	Melhora na textura e aumento do volume	Gerrard et al. (2001)

Fonte: Kieliszek e Misiewicz, (2013)

Dessa forma, com base nas referências existentes sobre a aplicação da TG na fabricação de iogurte exploradas neste trabalho, é possível concluir que a mTGase é uma enzima com alto potencial de redução da sinérese e melhora da viscosidade em produtos lácteos. Assim, será abordado neste estudo a modificação da proteína do leite com mTGase preparada com variação de concentração da enzima na fabricação de iogurte natural antes da fermentação, para avaliar os efeitos na viscosidade e sinérese.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

- Aplicação da enzima mTGase antes da fermentação do iogurte natural para avaliar alterações na textura e sinérese.

### **2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Obter resultados de viscosidade e quantidade de soro da aplicação da enzima em concentrações de 0,5 U/g proteína do leite 1,5 U/g proteína do leite e 2,5 U/g proteína do leite;
- Obter resultados da aplicação da enzima com aquecimento a 45 °C e posterior inativação a 75 °C e resfriamento a 45 °C no preparo do leite para recebimento da cultura microbiana.

## **3 REVISÃO DE LITERATURA**

### **3.1 ENZIMAS NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS**

As enzimas, proteínas que assumem o papel de catalisadoras em reações químicas, são elementos indispensáveis ao metabolismo de todos os organismos vivos. Sua importância se manifesta em diversos processos biológicos, desde a degradação de matéria orgânica até a defesa contra patógenos e a preservação de alimentos (Lehninger et al., 1995).

Essas macromoléculas são compostas principalmente por cadeias polipeptídicas, podendo apresentar outros componentes, como carboidratos e lipídeos, formando heteropolímeros (Hartmeier, 1988). A sequência de aminoácidos em cada enzima define sua estrutura primária, sendo a base para as demais conformações espaciais.

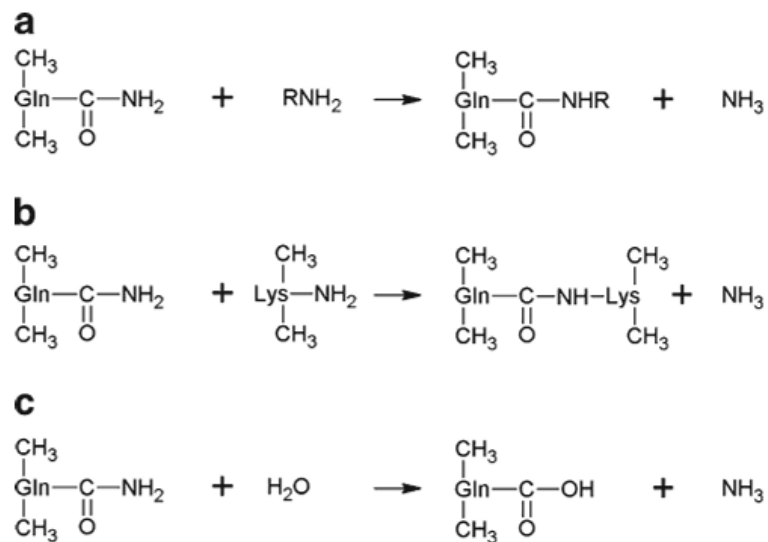
A indústria de alimentos, é uma das maiores demandantes de enzimas (Garg et al., 2016). As enzimas são empregadas em vários segmentos da produção de alimentos como panificação, bebidas, suplementos dietéticos, produção de açúcar, laticínios entre outros (Xie; Zhang; Simpsom, 2022; Souza et al., 2017; Morshed et al., 2021; Denti, 2021). Essa alta demanda por enzimas na indústria de alimentos se dá por sua alta especificidade em relação ao substrato, pH, temperatura e pressão, além de alta atividade e graus de conversão em produtos de interesse (Fernandes, 2010). Em relação à indústria de laticínios, as enzimas desempenham um papel de alta significância, influenciando tanto a obtenção de efeitos benéficos quanto a degradação de produtos derivados do leite. Este fenômeno se atribui à complexa composição do leite, a qual proporciona condições ótimas para a ocorrência de reações biológicas, como aquelas que são catalisadas por enzimas (Jacob et al., 2011).

### **3.1.1 Transglutaminase**

A TG (EC 2.3.2.13), conhecida como proteína-glutamina  $\gamma$ -glutamyltransferase, pode ser classificada como transferase (Marx et al., 2008; Trespalacios & Pla, 2007). Esta enzima catalisa a formação de uma ligação isopeptídica entre o grupo de  $\gamma$ -carboxamidas de resíduos de glutamina (doador) e os grupos  $\epsilon$ -amina de primeira ordem de diversos compostos, incluindo proteínas (aceitadores de um resíduo de acilo) (Buettner et al., 2012; Abd-Rabo et al., 2010; Ozer et al., 2007). Quando a lisina atua como receptora de acilo, uma molécula de proteína é enriquecida com este aminoácido. A transferência de acilo para um resíduo de lisina ligado à cadeia polipeptídica induz o processo de ligação cruzada, resultando na formação de ligações cruzadas inter ou intramoleculares  $\epsilon$ -( $\gamma$ -Glu)Lys (Kashiwagi et al., 2002). Além disso, a TG catalisa a reação de desaminação quando há uma ausência de grupos amina livres, neste caso, a água atua como aceitador de acilo (Motoki & Seguro, 1998; Kuraishi et al., 2001).

As reações catalisadas por esta enzima podem alterar significativamente as propriedades físicas e químicas das proteínas, bem como, produtos alimentícios contendo as enzimas modificadas, tais como viscosidade, estabilidade térmica, elasticidade e resiliência. Na Figura 1 são apresentadas as reações catalisadas pela TG.

Figura 1: Reações catalisadas pela TG: a. Reação de transferência de acila; B. reação de reticulação entre resíduos Gln e Lys de proteínas ou peptídeos; C. desaminação



Fonte: Kieliszek e Misiewicz, 2013

Estão amplamente distribuídas na natureza (Kashiwagi et al., 2002), sendo encontradas em tecidos de mamíferos (Yasueda et al., 1994), em diversos invertebrados e em células microbianas (Yu et al., 2008; Griffin et al., 2002), assim como em tecidos vegetais como soja, topinambour, beterraba forrageira e maçã de pomar (Falcone et al., 1993), estando envolvidas em vários processos fisiológicos, incluindo coagulação, reações imunitárias antibacterianas e fotossíntese (Kashiwagi et al., 2002).

As TG de origem animal foram isoladas do fígado de porquinho-da-índia na década de 1970 (Folk e Chung 1973). Embora pioneira, sua aplicação industrial foi limitada devido ao alto custo de produção e à dependência de cálcio, o que resultava na precipitação de proteínas em determinados alimentos, como aqueles contendo caseína ou proteínas de soja. Essa enzima de origem animal, apesar de ser a única

disponível no mercado por um período, não despertou grande interesse industrial devido a essas limitações (Faria 2010; Serafini-Fracassini e Del Duca 2008).

A TG microbiana tem sido alvo de interesse na indústria alimentícia devido à sua capacidade de promover ligações cruzadas entre proteínas, modificando propriedades texturais e funcionais de diversos alimentos. Isolada inicialmente de microrganismos como *Streptoverticillium sp.* (Ando et al. 1989; Folk e Cole 1966) e *Bacillus sp.* (Marx et al. 2008), a mTGase, particularmente a proveniente de *Streptoverticillium S-8112*, apresenta a vantagem de ser independente de cálcio e de possuir processos de purificação mais simples, tornando-a economicamente atrativa. Essa enzima demonstra alta eficiência em promover ligações cruzadas em uma ampla gama de proteínas, incluindo caseínas, globulinas de soja e proteínas do ovo, se assemelhando com a eficiência das TG de origem animal.

A TG vegetal, embora menos estudada que a animal e microbiana (Carvajal et al. 2011), tem desde os anos 1980, sua pesquisa concentrada nos mecanismos moleculares que a envolvem na formação de ligações cruzadas entre proteínas e poliaminas (Brunner et al. 2002; Serafini-Fracassini e Del Duca 2008), influenciando o crescimento e desenvolvimento das plantas. A enzima vegetal está envolvida na fotossíntese e fertilização, resposta a estresses e senescência celular (Beninati et al. 2013).

Apesar das semelhanças funcionais com as TG animais, como a formação de derivados glutamyl-poliamina e a dependência de cálcio, as sequências de aminoácidos das TG vegetais apresentam baixa homologia. Essa divergência dificulta a obtenção de informações sobre as TG vegetais por meio de comparações com outras fontes. Conseqüentemente, muitas das características e propriedades das TG vegetais ainda são desconhecidas. No entanto, sabe-se que as TG vegetais estão amplamente distribuídas em diversos tecidos e órgãos, sugerindo um papel fundamental na modificação de proteínas e na regulação de processos celulares (Serafini-Fracassini e Del Duca 2008).

As formulações que incorporam a TG apresentam um vasto leque de potenciais aplicações. Tradicionalmente atraem interesse devido à sua utilização na indústria alimentícia para a reticulação de proteínas (Buettner et al., 2012; Giosafatto et al., 2012). A mTGase também é empregada na produção de películas comestíveis proteicas ou compostas (Porta et al., 2011), entre outras aplicações. Trata-se de uma enzima que catalisa a formação de ligações cruzadas tanto dentro de uma

molécula de proteína como entre diferentes moléculas de proteínas (Mahmood & Sebo, 2009), tendo assim impacto nas modificações das funcionalidades das proteínas, tais como solubilidade, capacidade emulsificante, propriedades espumantes e gelificação (Giosafatto et al., 2012).

### **3.1.2 Potenciais aplicações da mTGase na indústria de laticínios**

A estrutura dos geis de leite é primariamente estabilizada por interações fracas, não covalentes. A introdução de ligações covalentes nesses sistemas, por meio da ação de enzimas como a mTGase, pode induzir a formação de redes proteicas com propriedades distintas dos geis convencionais de proteína de leite (Schorsch et al. 2000). A mTGase é uma enzima de ligação cruzada que catalisa a formação de ligações covalentes entre moléculas de proteína, promovendo a reticulação das proteínas e resultando em estruturas mais coesas e estáveis (Imm et al., 2000; Jaros et al., 2006; Özrenk, 2006).

A polimerização das proteínas presentes no leite através da ação da mTGase resulta na formação de uma película proteica que aprimora as propriedades funcionais dos produtos lácteos (Rossa et al., 2011). Conforme destacado por Hiller e Lorenzen (2009), o processo de reticulação é preponderante, promovendo a formação de ligações específicas, como as  $\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamil)lisinas, tanto dentro das cadeias polipeptídicas quanto entre elas. Na esfera da indústria de laticínios, a utilização da mTGase foi implementada na produção de uma vasta gama de produtos, incluindo iogurtes, visando evitar a sinérese ou conferir-lhes uma textura mais firme e cremosa (Lorenzen et al., 2002).

A modificação da caseína por meio da mTGase viabiliza a fabricação de produtos lácteos com estrutura e consistência aprimoradas. Este método é empregado na produção de iogurtes a partir de leite incubado com mTGase (Ozer et al., 2007), os quais apresentam uma consistência homogênea, firme e cremosa, acompanhada por uma superfície de coalhada lisa e seca, resultando em uma redução significativa da sinérese (Lorenzen et al., 2002). Tais iogurtes servem como base para a elaboração de cremes, sobremesas congeladas, sorvetes, bebidas lácteas e molhos (Lauber et al., 2000; Şanlı et al., 2011).

A mTGase também é empregada na fabricação de queijo, demonstrando um aumento no rendimento da coalhada comparando à produção sem ela. Três

abordagens são sugeridas para a produção de queijo natural com mTGase: (1) adição de mTGase ao leite, seguida de aquecimento para pasteurização e subsequente desativação da enzima, após o que o coalho é adicionado ao leite; (2) adição de coalho ao leite seguida de adição de mTGase; (3) adição simultânea de mTGase ao leite e ao coalho (Kuraishi et al., 2001). Investigações conduzidas por Mahmood e Sebo (2009) e Cozzolino et al. (2003) sobre a otimização do rendimento e das características do queijo demonstraram que a adição de mTGase antes do coalho resultou na prevenção da coagulação do leite. Em contrapartida, a adição simultânea da enzima e do coalho resultou em uma significativa redução da resistência e dureza do queijo, bem como na alteração dos níveis de proteínas e teor de gordura no soro.

Dessa forma, pode-se concluir que a mTGase desempenha um papel fundamental no desenvolvimento de produtos inovadores, além de estar sendo adotada em diversas vertentes da indústria como uma modificadora de proteínas principalmente pelas películas proteicas empregadas para revestir vegetais, frutas frescas e alimentos processados, com o intuito de estender sua vida útil e manter sua frescura (Di Pierro et al., 2011). Existe também na literatura, casos onde whey protein modificado com mTGase produz essa película e demonstra potencial de aplicação em outros produtos para melhorar sua qualidade (Marquez et al., 2013).

### 3.2 IOGURTE

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), define iogurte, como o produto resultante da fermentação do leite, em natureza ou reconstituído, pasteurizado ou esterilizado, adicionado ou não de outros produtos de origem láctea, bem como de outras substâncias alimentícias recomendadas pela tecnologia atual de fabricação, por cultivos protosimbióticos de *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus* viáveis e *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus*, ativos e abundantes no produto final e durante seu prazo de validade, aos quais se podem acompanhar, de forma complementar, por outras bactérias ácido-lácticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final (Brasil, 2000).

A indústria de laticínios desenvolveu diversos tipos de iogurte para atender ao extenso mercado consumidor. Esses produtos se diferenciam por seus

ingredientes, sabores, consistências, texturas, valor calórico, processos de elaboração e natureza da pós-incubação (Rasic e Kurmann, 1978). A qualidade do produto final se destaca como crucial para sua aceitação pelos consumidores. Essa qualidade, por sua vez, está diretamente ligada à consistência e à viscosidade do iogurte.

A fermentação do ácido láctico realizada pelas bactérias é o processo base para a produção de iogurtes, pois é com a formação dele que as caseínas coagulam e dão a textura característica do produto. Porém, as propriedades físicas e estruturais do gel resultante são determinadas por diversos outros parâmetros do processo (temperatura, tempo, fatores mecânicos como agitação, bombeamento e aeração) e alterações nas proteínas do leite nas etapas anteriores e posteriores à fermentação (Lucey, 2004). Além disso, cada um destes fatores pode contribuir para uma redução da estabilidade da coalhada nos produtos acabados. Isto leva à separação da coalhada e do soro, que é um efeito desagradável para os consumidores.

A separação do soro da coalhada é um efeito chamado sinérese, e a quantidade está diretamente relacionada com a acidez do leite fermentado. Quanto menor o valor do pH, maior será o grau de sinérese (Lee e Lucey, 2010). Para aumentar a viscosidade e reduzir a sinérese, a indústria de laticínios recorre principalmente à prática de aumentar o teor de sólidos. Isso pode ser feito através da adição de leite ou soro de leite em pó (Tamime e Robinson, 1991) ou de espessantes, resultando em um iogurte com textura mais firme, menor sinérese e maior aceitabilidade.

Em busca de alternativas, a indústria vem explorando o uso de enzimas como a mTGase para prevenir a sinérese, pois com sua atuação na formação de ligações covalentes entre proteínas, tem potencial para promover textura mais firme e com menor separação do soro, atingindo efeito semelhante aos métodos empregados na indústria (Hong et al., 2005).

Em um estudo da aplicação da mTGase em iogurte conduzido por Ziarno e Zareba (2020), os autores prepararam três tipos de amostra; S1 - leite com leite desnatado em pó e mTGase adicionados 12 horas antes da fermentação e armazenado a 6 °C até a fermentação. Depois, leite com aditivos foi aquecido a 45 °C imediatamente antes da fermentação e uma cultura *starter* foi adicionada. S2 - leite com leite desnatado em pó adicionado 12 horas antes da fermentação e

armazenado a 6 °C até a fermentação. Depois, o leite foi aquecido a 45 °C imediatamente antes da fermentação, mTGase e uma cultura starter foi adicionada. E S3 - leite com leite desnatado em pó e mTGase adicionado 12 horas antes da fermentação e armazenado a 6 °C até fermentação. Em seguida, o leite com aditivos foi aquecido até 80 °C imediatamente antes da fermentação e depois resfriado até 45 °C e uma cultura starter foi adicionada. Nenhuma correlação foi observada entre as populações de bactérias lácticas ou valores de pH e os atributos texturais que foram medidos. Com o tempo, observou-se um aumento significativo no valor de dureza entre 7 e 14 dias dos experimentos. As menores alterações foram observadas nas amostras de iogurte S3 e S2, enquanto as maiores alterações foram relatadas nas amostras S1. As alterações observadas podem ser explicadas pelas diferenças na duração da atividade da mTGase no leite utilizado para preparar diferentes tipos de iogurtes. De acordo com estes resultados, permitir tempo suficiente para a reação enzimática com as proteínas do leite resultou em alterações significativas na textura de iogurtes durante um período de armazenamento de 56 dias. Portanto, concluíram que o mais importante para a reação completa da mTGase com as proteínas do leite é o tempo de armazenamento antes da fermentação.

A sinérese nas amostras dependeu da presença de mTGase e do tempo de armazenamento das amostras. Em todas as amostras de iogurte produzidas a partir de leite tratado com mTGase, a separação do soro diminuiu significativamente. As amostras S3 foram caracterizadas por um menor valor de sinérese do que as outras, com 25,4–27,8% enquanto a amostra S1 apresentou 36,9%. Isto indica que o momento da adição de mTGase e o método de preparação do leite após atividade enzimática são significativas para os parâmetros testados dos iogurtes obtidos.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 MATERIAL**

Leite de vaca integral UHT com 3,2% de proteína foi a matéria-prima para obter as amostras. O iogurte foi preparado usando iogurte comercial como cultura inicial, contendo *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*. A cultura starter foi utilizada no valor de 2% do volume da amostra (Moreira, 1999). ACTIVA

WM mTGase com atividade de 100 U/g de proteína (Ajinomoto, Brasil) foi utilizada na produção de iogurtes no valor de 0, 0,5, 1,5 e 2,5 U/g de proteína (de acordo com o protocolo do produtor). As amostras foram avaliadas quanto à sinérese e viscosidade.

#### 4.2 PREPARAÇÃO DO MATERIAL

As amostras de iogurte foram produzidas em escala laboratorial. Leite foi aquecido a 45 °C em banho-maria seguido por adição de mTGase nas diferentes concentrações e colocadas em um shaker a 45 °C e 100 rpm por 4 horas. Então, as amostras foram colocadas em banho-maria a 75 °C por 15 minutos para inativação da enzima (Gharibzahedi e Altintas 2024). Após resfriamento até 45 °C, o iogurte comercial contendo a cultura starter foi adicionado a 2% e amostras armazenadas a 45 °C durante a fermentação por 10 a 12 horas em frascos com capacidade de 200 mL. Após o término da fermentação, todas as amostras de iogurte foram separadas em triplicata e armazenadas em geladeira a 16 °C, sendo mantidas nessas condições por 7 e 15 dias.

#### 4.3 ANÁLISES DAS AMOSTRAS DE IOGURTE

A análise das amostras de iogurte incluiu: sinérese e análise de textura (viscosidade). O pH das amostras foi conferido ao longo da preparação do iogurte para concluir a fermentação. Cada determinação foi realizada em três repetições paralelas para cada análise, com três replicações dentadas de cada experimento.

#### 4.4 SINÉRESE

A sinérese das amostras de iogurte foi determinada com modificações de Farnsworth et al. (2006). As amostras foram centrifugadas a 2035 RCF por 10 min a temperatura ambiente, o sobrenadante foi coletado e pesado. A capacidade de retenção de água foi calculado por:  $\text{Sinérese (\%)} = (m_1/m_2) \cdot 100$ , onde  $m_1$  é a massa de sobrenadante após centrifugação (g), e  $m_2$  é a massa da amostra de iogurte (g) (Keogh e O'Kennedy, 1998).

## 4.5 VISCOSIDADE

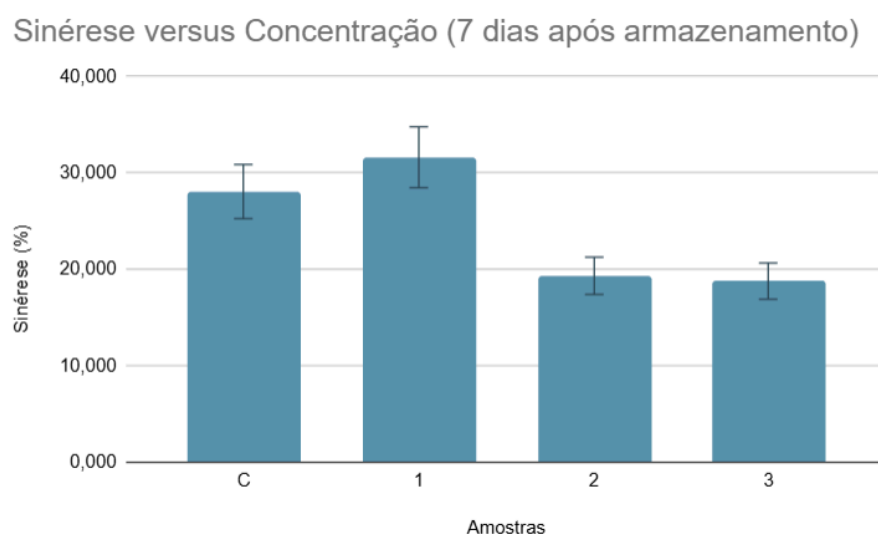
Medições de viscosidade com agitação nas amostras de iogurte foram realizadas em temperatura ambiente ( $22 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ) usando um reômetro da Anton Paar de modelo MCR 72, funcionando em diferentes taxas de cisalhamento variando de 1 a  $1000 \text{ s}^{-1}$  (coleta em log, 30 pontos sem duração definida) (Lin et al. 2024). Todas as medições de viscosidade foram realizadas em triplicata.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 SINÉRESE

A capacidade de retenção de água no iogurte pode ser avaliada através da separação do soro de leite, denominada sinérese, um dos indicadores de qualidade do iogurte. A sinérese é analisada conforme a quantidade de soro separado; quanto mais soro se separar, maior a sinérese, ao mesmo tempo que quanto maior a sinérese, menor a quantidade de água que o produto retém. Os resultados de sinérese obtidos no experimento podem ser visualizados na Figura 2 e Tabela 2 abaixo.

Figura 2 - Sinérese após 7 dias de armazenamento. Amostra C (0 U/g de proteína), 1 (0,5 U/g de proteína), 2 (1,5 U/g de proteína), 3 (2,5 U/g de proteína)



Fonte: Autora

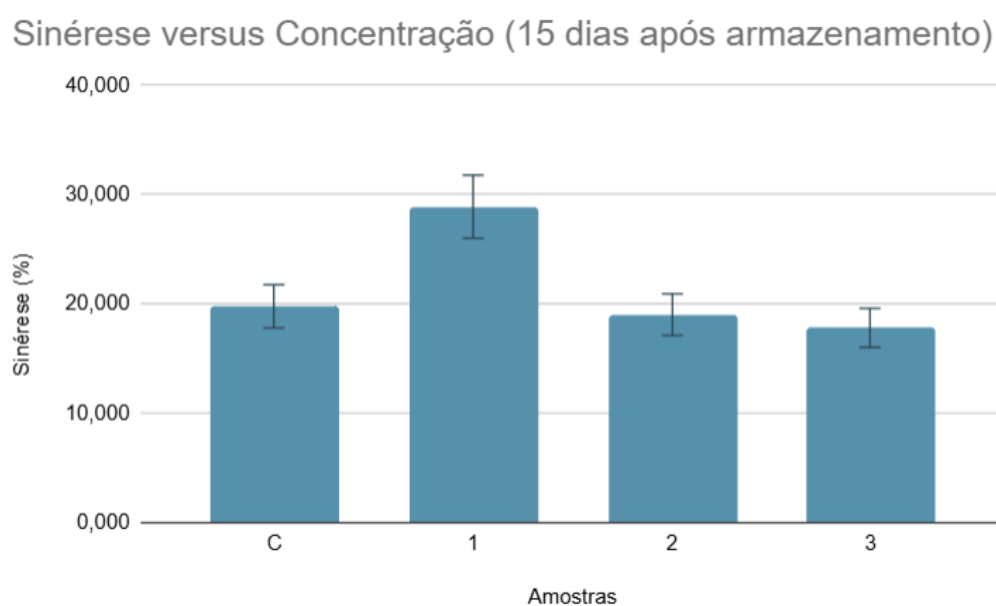
Tabela 2: Sinérese após 7 dias de armazenamento. Amostra C (0 U/g de proteína), 1 (0,5 U/g de proteína), 2 (1,5 U/g de proteína), 3 (2,5 U/g de proteína)

Amostra	Concentração (U/g de proteína)	Sinérese (%)
C	0	28,061
1	0,5	31,618
2	1,5	19,328
3	2,5	18,780

Fonte: Autora

Na figura 2, comparando a amostra de iogurte sem mTGase com as diferentes concentrações da enzima após 7 dias, a sinérese da amostra de iogurte tratada com mTGase a 0,5 U/g/proteína do leite foi 10% maior que a amostra de controle sem enzima. Já as amostras 2 e 3 demonstraram ter sinérese 32% e 33% menores do que a amostra sem enzima, respectivamente. Isso demonstra que as concentrações entre 1,5 e 2,5 U/g de proteína da enzima atuaram positivamente na retenção de água do iogurte comparando com as outras amostras, entre si não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

Figura 3 - Sinérese após 15 dias de armazenamento. Amostra C (0 U/g de proteína), 1 (0,5 U/g de proteína), 2 (1,5 U/g de proteína), 3 (2,5 U/g de proteína)



Fonte: Autora

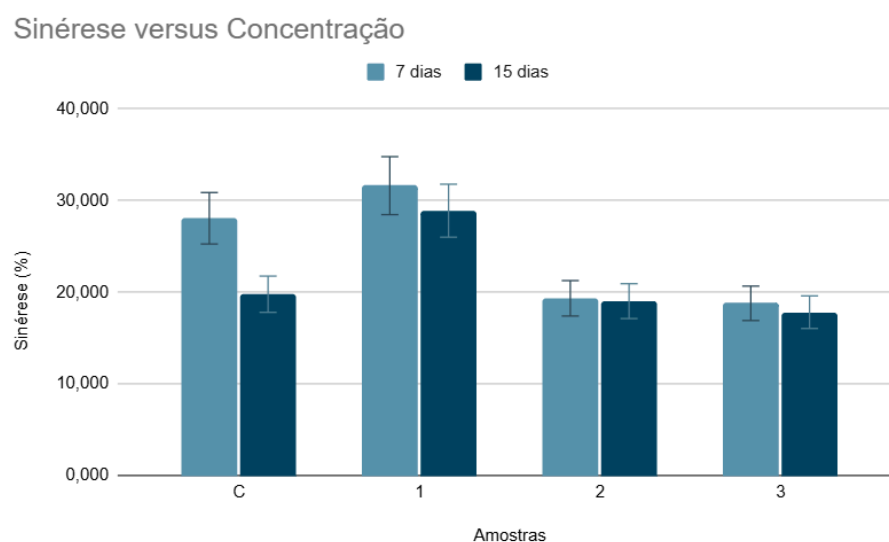
Tabela 3: Sinérese após 15 dias de armazenamento. Amostra 0 (0 U/g de proteína), 1 (0,5 U/g de proteína), 2 (1,5 U/g de proteína), 3 (2,5 U/g de proteína)

Amostra	Concentração (U/g de proteína)	Sinérese (%)
C	0	19,776
1	0,5	28,886
2	1,5	19,020
3	2,5	17,814

Fonte: Autora

Na Figura 3 é possível verificar que a sinérese nas amostras após 15 dias ocorreu de forma semelhante às amostras de 7 dias, maior sinérese na amostra 1 e menor na 2 e 3. A sinérese da amostra 1 comparada com a amostra sem enzima foi 42% maior, enquanto a 2 e 3 demonstraram ter um sinérese 4% e 10% menores do que a amostra sem enzima.

Figura 4 - Comparação da sinérese entre 7 e 15 dias de armazenamento. Amostra C (0 U/g de proteína), 1 (0,5 U/g de proteína), 2 (1,5 U/g de proteína), 3 (2,5 U/g de proteína)



Fonte: Autora

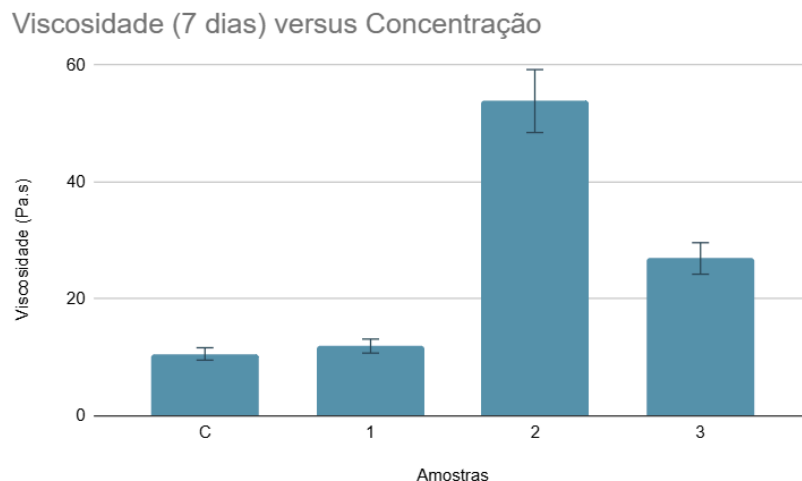
Na figura 4, a comparação das amostras de 7 e 15 dias evidencia que com mais tempo de armazenamento, a sinérese diminuiu de maneira diferente para cada

concentração de enzima. A presença da enzima na quantidade 0,5 U/g proteína reteve mais soro (8%) comparado com a amostra ausente de enzima (29%), enquanto nas amostras 2 e 3, a sinérese diminuiu apenas 5% depois de 15 dias de armazenamento. Esses resultados foram diferentes de Sanli et al. (2011), que observaram valores de sinérese semelhantes em iogurtes com mTGase inativa para aqueles em amostras sem mTGase, não mudando durante o período de armazenamento. Da mesma forma que Ozer et al. (2007), onde a partir do dia 28 dos experimentos, conseguiu-se ver um claro efeito sobre a sinérese conforme adição e duração da atividade da enzima no leite. Porém semelhantes a Małgorzata et al. (2019) que observaram um aumento pouco significativo na sinérese após 7 - 14 dias de armazenamento (5%), enquanto se demonstraram estáveis após 49 e 56 dias de armazenamento do iogurte. Com base nos gráficos, é possível concluir que a mTGase surtiu efeito positivo sobre a separação de soro para as amostras 2 e 3, diferente da amostra 1 na qual a sinérese foi maior do que a amostra de controle.

## 5.2 VISCOSIDADE

A viscosidade aparente é um dos índices utilizados para determinar a qualidade do iogurte e pode refletir a estabilidade das amostras. Na figura 4, os resultados obtidos de viscosidade inicial das amostras de iogurte podem ser observados.

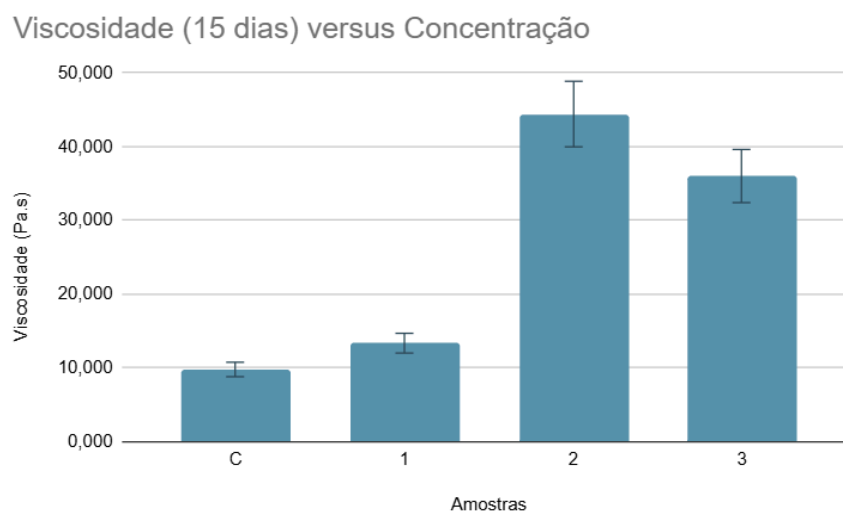
Figura 5 - Viscosidade após 7 dias de armazenamento. Amostra C (0 U/g de proteína), 1 (0,5 U/g de proteína), 2 (1,5 U/g de proteína), 3 (2,5 U/g de proteína)



Fonte: Autora

A adição de mTGase ao leite promoveu um aumento significativo na viscosidade do iogurte em 7 dias após a fermentação, conforme observado na Figura 5. Essa tendência, relatada por estudos anteriores (Kuraishi et al., 2001; Lorenzen et al., 2002), indica que a formação de uma rede proteica mais coesa, induzida pela ação enzimática, confere maior resistência à ruptura ao gel de iogurte. A reticulação intermolecular das caseínas catalisadas pela mTGase, mesmo em baixas concentrações, é suficiente para elevar consideravelmente a viscosidade do produto (Lauber et al., 2000). O pré-tratamento do leite com mTGase ao nível de 1,5 U/g proteína aumentou a viscosidade do iogurte mexido mais de 5 vezes em comparação com a amostra não tratada e 4 vezes mais que a amostra com 0,5 U/g proteína. Porém, devido ao elevado desvio padrão, aumentos significativos ( $p < 0,05$ ) na viscosidade foram observados apenas nas amostras com mTGase nos níveis de 1,5 e 2,5 U/g de proteína. Estes resultados estão em conformidade com Kuraishi et al. (2001) onde a reticulação catalisada por mTGase aumentou a viscosidade do iogurte como resultado de melhores propriedades de retenção de água.

Figura 6 - Viscosidade após 15 dias de armazenamento. Amostra C (0 U/g de proteína), 1 (0,5 U/g de proteína), 2 (1,5 U/g de proteína), 3 (2,5 U/g de proteína)

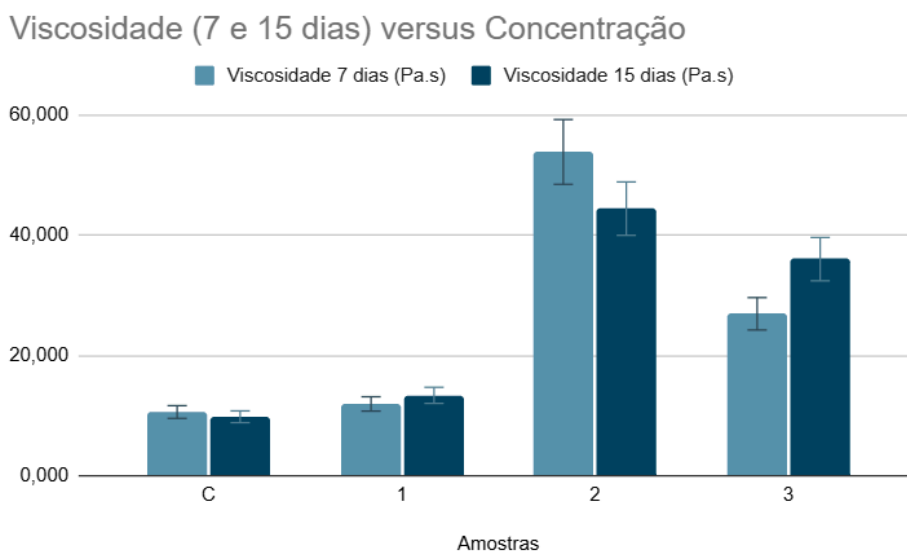


Fonte: Autora

Os efeitos da enzima na viscosidade após 15 dias de armazenamento tiveram comportamento semelhante a 7 dias, conforme mostra a Figura 6. O pré-tratamento do leite com mTGase ao nível de 1,5 U/g proteína aumentou a

viscosidade do iogurte mexido mais de 4 vezes em comparação com a amostra não tratada e 3 vezes mais que a amostra com 0,5 U/g proteína.

Figura 7 - Comparação da viscosidade entre 7 e 15 dias de armazenamento. Amostra C (0 U/g de proteína), 1 (0,5 U/g de proteína), 2 (1,5 U/g de proteína), 3 (2,5 U/g de proteína)

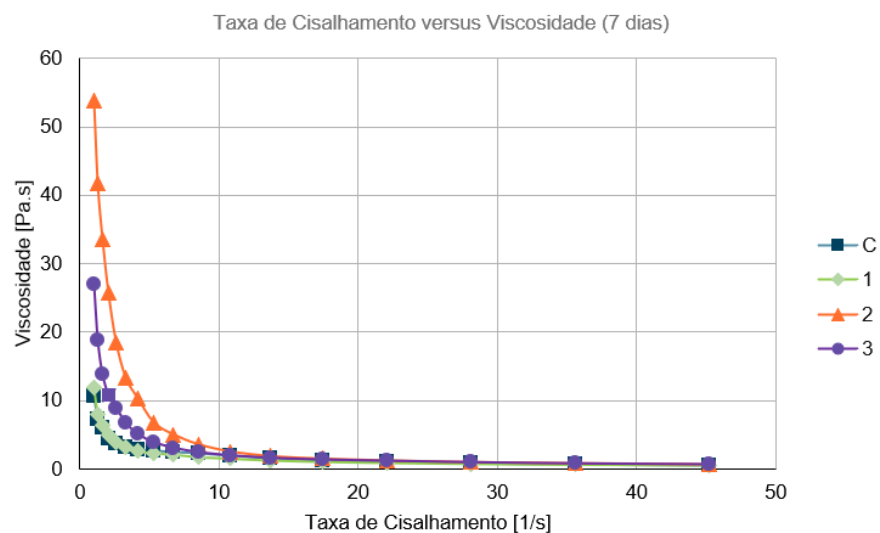


Fonte: Autora

Na figura 7, a comparação das concentrações das amostras de 7 e 15 dias evidencia que com mais tempo de armazenamento, os valores de viscosidade não seguiram um padrão. No geral, as amostras tratadas com a enzima resultaram valores de viscosidade mais elevados do que o iogurte não tratado (amostra C) ( $p < 0,05$ ). A presença da enzima nas quantidades 0,5 U/g proteína e 2,5 U/g proteína tiveram aumento da viscosidade com o tempo, do contrário das amostras de 1,5 U/g proteína e de controle, podendo concluir-se que o aumento das concentrações de enzima adicionada ao leite levou a um aumento considerável na viscosidade dos iogurtes, exceto a amostra 3 para ambos tempos de armazenamento. Observou-se um incremento gradual na viscosidade das amostras 1 e 3 durante o armazenamento refrigerado, sendo este efeito mais pronunciado na amostra 3. A diminuição gradual da atividade enzimática ao longo do processo de gelificação, conforme proposto por Pink, Quinn e Baskin (1994), pode explicar esse comportamento. À medida que a rede proteica se forma, a enzima fica cada vez mais imobilizada, resultando em uma redução da taxa de formação de ligações cruzadas e, conseqüentemente, em um aumento mais lento da viscosidade.

Conforme observado por Schorsch et al. (2000), a firmeza do gel de iogurte tratado com mTGase microbiana alcança um platô após um determinado período, indicando que a rede proteica atinge um grau máximo de estabilização. A intensidade da reticulação, diretamente proporcional à dose de enzima, influencia significativamente as propriedades reológicas do gel, resultando em estruturas mais coesas e resistentes quando comparadas aos geis induzidos por ácido. A formação de ligações covalentes entre as proteínas do leite confere ao gel uma estrutura única, com maior capacidade de retenção de água e maior estabilidade. O comportamento reológico das amostras 2 e 3 durante o armazenamento apresentou diferenças perceptíveis na Figura 7. Enquanto a amostra 3 exibiu um aumento gradual na viscosidade, a amostra 2 apresentou uma diminuição inicial, seguida de estabilização. Estudos anteriores (Ross-Murphy, 1990; Ozer et al., 1998) demonstraram que as interações proteína-proteína nos geis de caseína ácida podem continuar a evoluir durante o armazenamento, influenciando a textura do produto.

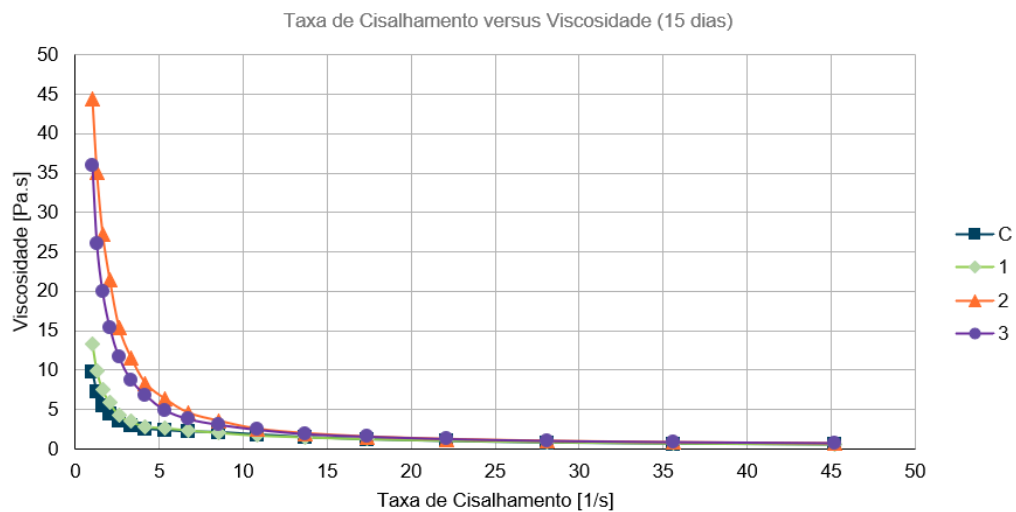
Figura 8 - Taxa de cisalhamento e viscosidade após 7 dias de armazenamento. Amostra C (0 U/g de proteína), 1 (0,5 U/g de proteína), 2 (1,5 U/g de proteína), 3 (2,5 U/g de proteína)



Fonte: Autora

Conforme mostrado na Figura 8, todas as amostras apresentaram comportamento típico de afinamento por cisalhamento de fluidos não newtonianos, caracterizado por uma diminuição da viscosidade aparente com o aumento da taxa de cisalhamento (Li et al., 2010). Esse comportamento pode ser atribuído à desestruturação gradual da rede proteica sob a ação das forças de cisalhamento. A ruptura das interações intermoleculares entre as proteínas do iogurte resulta em uma redução da resistência ao fluxo e, conseqüentemente, em menores valores de viscosidade (Lin et al., 2024).

Figura 9 - Taxa de cisalhamento e viscosidade após 15 dias de armazenamento. Amostra C (0 U/g de proteína), 1 (0,5 U/g de proteína), 2 (1,5 U/g de proteína), 3 (2,5 U/g de proteína)



Fonte: Autora

O gráfico de taxa de cisalhamento versus viscosidade em 15 dias de armazenamento das amostras, apresentado na Figura 9, teve comportamento semelhante às amostras de 7 dias, no qual a viscosidade aparente diminuiu com o aumento da taxa de cisalhamento. Também é possível verificar que a amostra 2 manteve valores de viscosidade maiores que as outras amostras em ambos os tempos de armazenamento.

## 6 CONCLUSÃO

Neste trabalho, leite integral foi fermentado com iogurte comercial na presença de mTGase previamente agitada e aquecida a 45 °C por 4 horas. A adição de 1,5 U/g proteína e 2,5 U/g proteína foram as concentrações que melhor diminuíram a sinérese do iogurte em comparação com outras amostras, não apresentando diferença significativa entre elas ( $p < 0,05$ ). A amostra de 1,5 U/g de proteína apresentou maiores valores de viscosidade iniciais, mas que diminuíram conforme o tempo de armazenamento (18%), enquanto as outras amostras menos viscosas mantiveram melhor sua textura. Ademais, a concentração de 1,5 U/g proteína de enzima demonstrou melhor performance tanto na sinérese (redução de 31% em comparação a de controle, sem diferença significativa a amostra de maior concentração), quanto na viscosidade (aumento de 5 vezes em comparação a de controle e de 2 vezes que a de maior concentração). Desse modo, este estudo mostrou que a adição de TG pode melhorar as propriedades físico-químicas do iogurte, o que comprova a possibilidade de desenvolvimento e aplicação da enzima industrialmente no iogurte como alternativa de outros métodos como aumento nos sólidos totais, uso de estabilizantes e aumento do conteúdo de proteína.

## REFERÊNCIAS

- ANTUNES, L. M. T. O soro de leite doce na produção de sorvete: um estudo de avaliação sensorial e da estabilidade da espuma. 2003. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil.
- BIEGER, M.; RINALDI, V. Lactic acid production from whey by *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* immobilized on chitosan-coated carriers. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, New York, v. 113, n. 1-3, p. 171-178, mar. 2009.
- CALDEIRA, S. M. A. et al. Effect of whey protein concentrate on the physicochemical properties and shelf life of low-fat yogurt. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 93, n. 6, p. 2708-2714, jun. 2010.
- CHAVES, E. M. et al. O soro de leite na produção de bebidas lácteas fermentadas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 39, n. 2, p. 221-230, abr.-jun. 2010.
- DAGUER, M. C. et al. Effect of whey protein concentrate on color development during cooking of cured meat products. *Meat Science*, Elsevier, v. 85, n. 2, p. 223-228, fev. 2010.
- DENTI, A. F. Tecnologia enzimática: classificação, imobilização, suportes e aplicações. *Revista Perspectiva*, v. 45, n. 171, p. 97-110, 2021.
- Fan, L., Peng, X., Pang, B., Wen, J., & Yi, J. (2021). Emulsifying properties of whey protein concentrate: A review. *Food Hydrocolloids*, 120, 106818.
- FÉLIX, E. C. O soro de leite como fonte de proteína para alimentação humana. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 22., Florianópolis, 1995. Anais... Florianópolis: SBCTA, 1995. p. 1-5.
- FERNANDES, P. Enzymes in food processing: A condensed overview on strategies for better biocatalysts. *Enzyme Research*, v. 2010, n. 1, 862537, 2010
- FITZSIMONS, S. M. et al. Composition and properties of whey protein concentrates. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 89, n. 5, p. 1586-1594, 2006.
- GARG, G.; SEHRAWAT, N.; YADAV, M. Role of Enzymes in Food Industries *Frontiers in Food Biotechnology*. In: SHARMA, C., SHARMA A. K., ANEJA, K. R. *Frontiers in Food Biotechnology*, 1ª ed. New York: Nova Publishers, 2016. cap. 9, p. 219-252
- Gaspar, A.L.C.; Góes-Favoni, S.P.d. Action of microbial transglutaminase (MTGase) in the modification of food proteins: A review. *Food Chem.* 2015, 171, 315–322.
- HARTMEIER, W. *Immobilized biocatalysts: an introduction*. Berlin: Springer Verlag, 1988.

HONG, S. W.; et al. Effect of transglutaminase on the rheological properties and microstructure of skim milk yogurt. *Journal of dairy science*, 2005. 88(10): 3429-3436.

JACOB, M.; JAROS, D.; ROHM, H. Recent advances in milk clotting enzymes. *International Journal of Dairy Technology*, v. 64, n. 1, p. 14-33, 2011.

Jiang, Y., Hu, J., Liu, S., Li-Chan, E. C., & He, Q. (2018). Whey protein concentrate: A versatile protein with multiple functionalities. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 66(32), 8442-8457.

KRÜGER, R. P. et al. Effect of whey protein concentrate and microcrystalline cellulose on the rheological, textural and sensory properties of ice cream. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 91, n. 11, p. 4415-4423, nov. 2008.

LEE, S. J.; LUCEY, F. M. Texture and rheology of yogurt. In: *YOGURT*. Springer, 2010. p. 125-164.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. *Princípios de Bioquímica*. São Paulo: Sarvier, 1995.

LIU, D. et al. Whey protein: composition, structure, and functional properties. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 83, n. 6, p. 1881-1888, jun. 2000.

Lorenzen, P.C.; Neve, H.; Mautner, A.; Schlimme, E. Effect of enzymatic cross-linking of milk proteins on functional properties of set-style yoghurt. *Int. J. Dairy Technol.* 2002, 55, 152–157.

Li, X.; Liu, Y.; Yi, C.; Cheng, Y.; Zhou, S.; Hua, Y. Microstructure and rheological properties of mixtures of acid-deamidated rice protein and dextran. *J. Cereal Sci.* 2010, 51, 7–12.

LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. (Coords.). *Biotecnologia industrial -processos fermentativos e enzimáticos*. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., 2001. p. 351-362.

Lin, X.; Cao, Z.; Zhang, J.; Mu, G.; Jiang, S. Characteristics of the Mixed Yogurt Fermented from Cow–Soy Milk in the Presence of Transglutaminase. *Foods* 2024, 13, 2120. <https://doi.org/10.3390/foods13132120>

Marquez GR, Di Pierro P, Esposito M, Mariniello L, Porta R (2013) Application of transglutaminase-crosslinked Whey Protein/Pectin Films as water barrier coatings in fried and baked foods. *Food Bioprocess Technol.* doi:10.1007/s11947-012-1045-9

MIZUBUTI, M. A. Sorbitol production from whey by immobilized cells of *Zymomonas mobilis*. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, Amsterdam, v. 78, n. 2, p. 151-155, jul. 1994.

MOREIRA, S.R, SCHWAN, R. F.; CARVALHO, E. P.; FERREIRA, C. Análise microbiológica e química de iogurtes comercializados em Lavras – MG Ciênc. Tecnol. Aliment. vol.19 n.1 Campinas. 1999

MORSHED, M. N.; BEHARY, N.; BOUAZIZI, N.; JINPING, G. U. A. N.; NIERSTRASZ, V. A. An overview on biocatalysts immobilization on textiles: preparation, progress and application in wastewater treatment. Chemosphere, v. 279, p. 13081, 2021.

Ozer B, Kirmaci HA, Oztekin S, Hayaloglu A, Atamer M. Incorporation of microbial transglutaminase into non-fat yoghurt production. Int. Dairy J. 17: 199–207 (2007)

PACHECO, P. R. et al. O soro de leite como matéria-prima para produção de biogás. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, Campinas, v. 9, n. 1, p. 17-22, fev. 2005.

PELEGRINE, D. H. F.; CARRASQUEIRA, J. M. O soro de leite como fonte de proteínas para produção de biogás. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, Campinas, v. 12, n. 6, p. 804-810, dez. 2008.

RASIC, J.; KURMANN, R. O. Yogurt and other fermented milks. Springer, 1978.

RESENDE, R. R. Biotecnologia Aplicada à Agroindústria: Fundamentos e Aplicações, v. 4. Editora Blucher, 2017

SANT'ANNA JUNIOR, G. L. Produção de enzimas microbianas.

SEVERO, L. M. O soro de leite como fonte de proteína para alimentação humana. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 22., Florianópolis, 1995. Anais... Florianópolis: SBCTA, 1995. p. 1-5

SILVA, R. S.; CASTRO, A. M. Reaproveitamento do soro de leite em laticínios da Zona da Mata mineira. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v. 35, n. 5, p. 1230-1236, out. 2006.

SOUZA, L. T.; VERÍSSIMO, L. A.; PESSELA, B. C.; SANTORO, R. R.; RESENDE, R. R.; MENDES, A. A. Imobilização enzimática: princípios fundamentais e tipos de suporte.

TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. Tamime and Robinson's dairy science. Woodhead Publishing Limited, 1991.

VIOTTO, E. L.; MACHADO, A. P. Effect of whey protein concentrate addition on the rheological, textural and sensory properties of doce de leite. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 90, n. 10, p. 4066-4072, out. 2

Wouters, J., Boeve, A., Dams, A., & Joye, L. (2022). Heat-induced aggregation of whey protein: Impact on emulsifying properties. Food Hydrocolloids, 129, 107596.

XIE, J.; ZHANG, Y.; SIMPSON, B. Food Enzymes Immobilization: Novel Carriers, Techniques and Applications. *Food Science*, v. 43, p. 1-9, 2022.

ZAVAREZE, E. R. et al. Whey protein concentrate as an alternative for gluten replacement in bakery products. *Journal of Cereal Science*, Elsevier, v. 51, n. 1, p. 44-50, jan. 2010.

Zhao, Y., Chen, X., & Ashaolu, T. A. (2021). Recent advances in the use of whey protein concentrate as emulsifiers in non-dairy products. *Trends in Food Science & Technology*, 113, 10808.