

# PADRONIZAÇÃO DE METODO CROMATOGRÁFICO PARA CARACTERIZACAO QUEIJO COALHO

Maria Alves Fontenele<sup>1</sup>, Antonio Silvio do Egito<sup>2</sup>, Kenya Christina Barbosa Mendes Folsta<sup>3</sup>, Maria do Socorro Rocha Bastos<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Doutoranda da Rende Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO, bolsista CAPES,

<sup>2</sup>Pesquisador Embrapa Caprinos e Ovinos, <sup>3</sup>Analista Embrapa Agroindústria Tropical,

<sup>4</sup>Pesquisadora Embrapa Agroindústria Tropical. e-mail: [fontenelemalu@gmail.com](mailto:fontenelemalu@gmail.com)

## INTRODUÇÃO

O queijo de coalho é produzido no Nordeste do Brasil desde tempos imemoriais, sendo introduzido nesta região pelos colonizadores europeus e produzidos até os dias de hoje onde possui grande importância econômica por ser o principal queijo consumido na região.

Apesar de serem produzidos em todos os estados e apresentarem o mesmo nome, a fabricação deste produto tem se destacado em algumas regiões como o vale do Jaguaribe no Ceará, Caicó no Rio Grande do Norte, Agreste pernambucano entre outras. Possuindo os queijos produzidos nesta região, grande reputação entre os consumidores. Em decorrência da importância deste produto artesanal, nos últimos anos inúmeros estudos tem sido direcionado com intuito de conhecer as características e padronizar técnicas para sua análise destacando-se as Microbiológicas (FEITOSA, et al. 2003; BORGES, et al. 2003), físico-químicas (NASSU, et al. 2003; CAVALCANTE, et al., 2007) e eletroforética (BENEVIDES, et al. 2000; FONTENELE, et al. 2009 e 2010). No entanto, análises utilizando cromatografia líquida de alta performance em fase reversa (*reversed phase high pressure liquid chromatography*, RP-HPLC) não foi verificada na nossa revisão com o intuito de melhor analisar o queijo coalho. Estudos realizados em queijos europeus têm mostrado a eficiência da técnica na verificação de proteólise de queijos e identificação de peptídeos que influenciam na qualidade sensorial dos mesmos a exemplo de peptídeos amargos (AGBOOLA, et al. 2004; FALLICO, et al. 2005) ou mesmo que identifique a qualidade dos mesmos através da presença de peptídeos com atividade biológica (SAITO, et al. 2000). Este estudo teve como objetivo a padronização da técnica de cromatografia utilizando RP-HPLC em amostras de queijo de coalho.

## MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de uma coleta, provenientes de 12 queijarias do município de Jaguaribe/CE foram coletadas no dia da fabricação, transportadas em caixas térmicas ao laboratório de análise de alimentos da Embrapa Agroindústria Tropical, congeladas a -20 °C. e extraídos os peptídeos solúveis em água através de homogeneização em Estomacher 400 circulator Seward (10g de queijo/50 mL água) durante 60 minutos, centrifugadas três vezes a 4000 x g por 20 min a 4 °C, liofilizadas e congeladas a -20°C. Cromatografia em fase reversa (RP-HPLC) foi realizada utilizando uma coluna Phenomenex LiChrospher C18 (250x4mm de diâmetro interno, 5-mm de tamanho de partícula, 10-nm de porosidade; Merck), conectada a um HPLC Varian ProStar. Volumes de 100µL contendo 4mg de peptídeos foram injetados na coluna com gradiente linear 5 a 50% (v/v) de acetonitrila contendo 0,1% (v/v) de ácido trifluoracético durante 60 min com fluxo de 1 mL/min. Detecção foi realizada a 215nm em um detector Varian ProStar, detector UV - Vis.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 é apresentado o perfil cromatográfico do queijo coalho da região do Vale do Jaguaribe referente as amostra de uma coletas em 12 queijarias analisadas nesse trabalho. As condições cromatográficas utilizadas permitiram boa resolução dos picos referentes aos peptídeos, o que nos permitirá posteriormente a identificação e quantificação segura da seqüência de aminoácido dos peptídeos presentes nas amostras. Sendo este tipo de estudo uma nova perspectiva para análise do queijo de coalho a

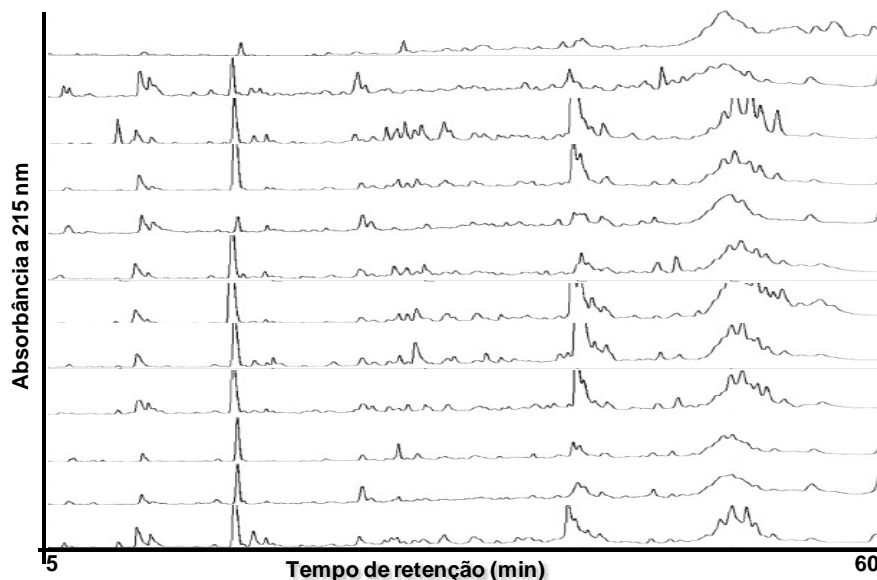


FIGURA 1. Cromatogramas dos queijo coalho provenientes da coleta de 12 queijarias do município de Jaguaribe/CE. Volumes de 100 $\mu$ L contendo 4mg de peptídeos foram injetados em coluna C18 com gradiente linear 5 a 50% (v/v) de acetonitrila contendo 0,1% (v/v) de ácido trifluoracético durante 60 min com fluxo de 1 mL/min.

exemplo dos trabalhos realizados em queijos europeus como o Feta, Emental, etc. onde a identificação de peptídeos permitiu observar o grau de proteólise somados a identificação de peptídeos com atividade biológica (MICHAELIDOU, et al. 1998), SIEBER, et al. 2010). Sendo portanto, a técnica uma possibilidade de observar se peptídeos identificados em queijos europeus com atividade biológica estão presentes também no queijo de coalho, uma vez que este queijo pertence ao mesmo grupo tecnológico dos estudados, ou seja, são realizados através de coagulação enzimática, utilizando quimosina como agente coagulante. Em decorrência da reprodutibilidade da metodologia ela pode ainda ser testada na monitoração do processamento dos produtos, onde o aparecimento ou desaparecimento de peptídeos poderá permitir um diagnostico de possíveis problemas de processamento ou mesmo qualidade do leite. Também como perspectiva será testada o uso da técnica na diferenciação de queijos processados nos diferentes estados nordestinos. Uma vez que, em decorrência das diferenças climáticas, alimentação animal ou mesmo processo tecnológico que pode influenciar na qualidade e diferenciar os queijos coalho processados nos diversos estados nordestino, esta metodologia será testada para verificar a procedência dos queijos produzidos nos diferentes estados através da possibilidade de obter-se perfis cromatográficos distintos.

## CONCLUSÃO

Os estudos realizados neste trabalho evidenciaram que a análise cromatográfica é eficiente para o produto queijo coalho mostrando picos bem definidos e repetibilidade

do método. Estando programados novos experimentos para analisar queijos produzidos durante a época seca e chuvosa e identificação de peptídeos majoritários através de espectrometria de massa.

## **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem a Embrapa, CAPES, CNPq e FINEP pelo suporte financeiro.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- AGBOOLA, S.; CHEN, S.; ZHAO, J.; Formation of bitter peptides during ripening of ovine milk cheese made with different coagulants, *Lait*, v. 84, p.567–578, 2004.
- BENEVIDES, S. D.; TELLES, F. J. S.; GUIMARÃES, A. C. L.; RODRIGUES, M. C. P. Estudo Bioquímico e Sensorial do Queijo de Coalho Produzido com Leite Cru e Pasteurizado no Estado do Ceará. B.CEPPA, Curitiba, v. 18, n. 2, p. 193-208, 2000.
- BORGES, M. F., FEITOSA, T.; NASSU, R. T.; MUNIZ, C. R.; AZEVEDO, E. H. F.; FIGUEIREDO, E. A. T. Microrganismos Patogênicos e Indicadores em Queijo de Coalho Produzido no Estado do Ceará, Brasil. B.CEPPA, Curitiba, v. 21, p.31-40, 2003.
- CAVALCANTE, J. F. M; ANDRADE, N. J.; Mauro Mansur FURTADO, M. M., FERREIRA, C. L. L. F., PINTO, C; L. O.; ELARD, E. Processamento do queijo coalho regional empregando leite pasteurizado e cultura láctica endógena. *Ciência Tecnologia de Alimentos*, v.27, p.205-214, 2007.
- FALLICO, V.; MCSWEENEY, P. L. H.; HORNE, J.; PEDILIGGIERI, C.; HANNON, J. A.; CARPINO, S.; LICITRA, G., Evaluation of Bitterness in Ragusano Cheese. *Journal of Dairy Science*, v. 88, p.1288-1300, 2005.
- FEITOSA, T.; BORGES, M. F.; NASSU, R. T.; AZEVEDO, E. H. F. de; MUNIZ, C. R. Pesquisa de *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e microrganismos indicadores higiênicos-sanitários em queijos produzidos no estado do Rio Grande do Norte. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 23(Supl), p. 162-165, 2003.
- FONTENELE, M. A.; BASTOS, M. S. R.; EGITO, A. S.; OLIVEIRA, O. M. A. B.; PEREIRA, S. C.; VIEIRA, N. M. Caracterização eletroforética do queijo de coalho de Jaguaribe, Ceará. CD-Rom do 8º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos SLACA, Campinas, 2009.
- FONTENELE, M. A.; EGITO, A. S.; BASTOS, M. S. R. Estudo eletroforetico do queijo coalho de Jaguaribe-ce. CD-Rom do 11º Congresso Pan-Americano do Leite, Belo Horizonte – MG, 2010.
- MICHAELIDOU, A.; ALICHANIDIS, E.; URLAUB, H.; POLYCHRONIADOU, A.; ZERFIRIDIS, G.K. Isolation and Identification of Some Major Water-soluble Peptides in Feta Cheese. *Journal of Dairy Science*, v. 81, p.3109–3116, 1998.
- NASSU, R.T.; ARAÚJO, R.S.; GUEDES, C. G. M.; ROCHA, R. G.A. Diagnóstico das condições de processamento e caracterização físico-química de queijos regionais e manteiga no Rio Grande do Norte. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2003. 24 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 11).
- SAITO, T.; NAKAMURA, T.; KITAZAWA, H.; KAWAI, Y.; ITOH, T. Isolation and Structural Analysis of Antihypertensive Peptides That Exist Naturally in Gouda Cheese. *Journal of Dairy Science*, v. 83, p.1434–1440, 2000.
- SIEBER, R.; BÜTIKOFER, U.; EGGER, C.; PORTMANN, R.; WALTHER, B.; WECHSLER, D. ACE-inhibitory activity and ACE-inhibiting peptides in different cheese varieties. *Dairy Science Technology*, v. 90, p. 47–73, 2010.