

Efeito da adição de *Streptococcus thermophilus* como cultura adjunta na maturação e caracterização físico-química e sensorial de queijo Prato

Effect of the addition of *Streptococcus thermophilus* as adjunct culture on ripening and physicochemical and sensory characterization of Prato cheese

RIALA6/1089

Claudia R. B. SILVA¹, Aline Cristina NABUCO¹, Bruna R. MORETTI¹, Ana Lúcia Barreto PENNA^{1*}

*Endereço para correspondência: ¹UNESP - Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Rua Cristóvão Colombo, 2265 - São José do Rio Preto - SP. *E-mail: analucia@ibilce.unesp.br .

Recebido: 14/06/2005 – Aceito para publicação: 28/12/2006

RESUMO

As culturas lácteas desempenham funções fundamentais na maturação de queijos, tais como produção de ácido lático e de compostos aromatizantes voláteis. Neste trabalho, o objetivo foi avaliar a ação de *Streptococcus thermophilus* como cultura adjunta, nos índices de proteólise e nas características físico-químicas e sensoriais do queijo Prato. As amostras de queijo foram preparadas conforme dois tratamentos: (1) utilização de cultura mesofílica - *Lactococcus lactis* ssp *lactis* e *Lactococcus lactis* ssp *cremoris* (tratamento 1) e (2) cultura mesofílica acrescida de *Streptococcus thermophilus* (tratamento 2). Durante a maturação dos queijos, foram realizadas análises físico-químicas (extrato seco total, gordura, gordura no extrato seco - GES, cinzas, nitrogênio, proteína total, índice de extensão da maturação - IEM, índice de profundidade da maturação - IPM, tirosina, triptofano e atividade de água) e sensoriais (odor, aroma, doce, ácido, salgado, amargo, adstringente, picante, elasticidade, firmeza, friabilidade, adesividade, solubilidade e umidade). O queijo fabricado conforme o tratamento 1 foi o mais proteolítico, resultando em características sensoriais mais acentuadas de acidez, amargor, sabor picante, elasticidade e solubilidade, comparado ao produto preparado com adição de *Streptococcus thermophilus*.

Palavras-chave. *Streptococcus thermophilus*, proteólise, propriedades físico-químicas e sensoriais, queijo Prato.

ABSTRACT

Lactic acid bacteria are responsible for performing fundamental functions for cheese manufacturing, such as production of lactic acid and volatile flavoring compounds. The aim of this investigation was to evaluate the *Streptococcus thermophilus* activity, as an adjunct culture, on proteolysis during ripening and, on the development of physicochemical characteristics and sensory properties of Prato type cheese. For this study, cheeses were manufactured in a pilot-scale, according to two treatment processes: (1) use of mesophilic culture - *Lactococcus lactis* ssp *lactis* and *Lactococcus lactis* ssp *cremoris* (treatment 1), and (2) mesophilic culture added with *Streptococcus thermophilus* (treatment 2). At 30 and 48 days of ripening, the physicochemical characteristics (dry matter, titratable acidity, fat, fat in dry matter, ashes, protein contents, ripening extension and depth indexes, tyrosine and tryptophan content, and water activity) were analyzed. Sensory properties (smell, aroma, sweetness, sourness, saltiness, bitterness, astringency, pungency, elasticity, firmness, friability, adhesiveness, solubility and humidity) were evaluated at 30 days of ripening. In cheeses under treatment 1, casein was most extensively hydrolyzed during ripening, thus they exhibited higher levels of acidity, bitterness, piquant taste, elasticity, and solubility when compared to those prepared with the addition of *S. thermophilus*.

Key words. *Streptococcus thermophilus*, proteolysis, physicochemical and sensory properties, Prato cheese.

INTRODUÇÃO

O queijo Prato possui um sabor suave, próprio, de cheiro não ácido, nem picante e gosto tendendo ao adoçado¹. É classificado como gordo (45-59,9% de gordura no extrato seco) e de média umidade (36-45,9%) e deve apresentar consistência semi-dura ou elástica, textura compacta, lisa, fechada, com algumas olhaduras pequenas, bem distribuídas, ou sem olhaduras, cor amarelada ou amarelo-palha². O seu rendimento de fabricação situa-se por volta de 9-9,5 litros de leite/Kg de queijo³. É um queijo que possui perfil de maturação predominantemente proteolítico⁴.

O queijo Prato deve ser consumido sempre após a maturação que é de aproximadamente 40 dias, um período de tempo de maturação considerado médio devido à complexidade dos fenômenos químicos e bioquímicos que ocorrem. No entanto, este período de tempo é considerado longo para quem deseja uma rápida rotação de capital de giro⁵.

Para diminuir custos com a matéria-prima e mão-de-obra, alguns fabricantes de queijo Prato têm diminuído o tempo de maturação sem o uso adicional de qualquer tipo de tecnologia, prejudicando suas características. Desta forma, o produto vem perdendo seus padrões de qualidade e identidade e, consequentemente, seu valor comercial⁵.

Uma das alternativas para acelerar a maturação em queijos consiste no uso de culturas adjuntas, que são linhagens selecionadas de bactérias lácteas ou de outros microrganismos relacionados com a maturação do queijo. Comumente a cultura adjunta é adicionada ao leite de fabricação juntamente com a cultura láctea tradicional, com o objetivo principal de melhorar a qualidade sensorial do produto⁶.

O *Streptococcus thermophilus* multiplica-se bem a 44°C, hidrolisa a lactose via β-galactosidase, utiliza poucos substratos de carbono (lactose, glicose, sacarose), requer aminoácidos complexos e é pouco proteolítico. É capaz de hidrolisar proteínas em peptídeos e aminoácidos essenciais para sua nutrição através de proteinases associadas à parede celular e de peptidases citoplasmáticas. Outros estudos identificaram a presença de peptidases intracelulares liberadas no queijo após a lise celular durante a maturação⁷.

A formação de sabor do queijo é definida como sendo um processo extremamente complexo e resultante de um equilíbrio entre todos os compostos originários do metabolismo da lactose, lipídeos e proteínas⁸. A fração hidrossolúvel de queijos maturados contém componentes que possuem importante contribuição no sabor⁹. Durante o processo de maturação o queijo perde água por evaporação em intensidade variável. As alterações das proteínas e das gorduras são consequências da ação de bactérias e fungos, das quais resultam em ácidos voláteis e proteínas mais simples.

A gordura tem importante papel na obtenção da textura e sabor dos queijos. O desenvolvimento do sabor lipolítico característico do queijo pode ser obtido diretamente pela presença de ácidos graxos, ou indiretamente, após

transformações bioquímicas que resultam na formação de outros compostos flavorizantes, como cetonas, metil-cetonas e lactonas¹⁰.

A proteólise também possui papel importante no processo, seja diretamente, pela formação de aminoácidos e peptídeos pequenos, ou indiretamente, via catabolismo de aminoácidos¹¹. Os compostos originados destas reações tanto podem originar compostos desejáveis como indesejáveis (*off-flavors*) na formação do sabor do queijo.

O trabalho objetivou avaliar o efeito da adição de *Streptococcus thermophilus* como cultura adjunta na evolução da proteólise, características físico-químicas e propriedades sensoriais do queijo Prato.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os queijos Prato foram produzidos na Planta Piloto do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos da UNESP a partir de 25 L de leite pasteurizado com 3,5% de gordura, utilizando-se um tanque mecanizado de fabricação com capacidade para 50L de leite. No tratamento 1 foram adicionados 2% de cultura mesofílica composta por *Lactococcus lactis* ssp *lactis* e *Lactococcus lactis* ssp *cremoris*, e no tratamento 2, uma cultura mista com 2% desta cultura mesofílica adicionada de *Streptococcus thermophilus*. Ao leite também foram adicionados 0,03% de coalho e 0,3% de cloreto de cálcio. A coagulação ocorreu entre 30-40 minutos, sendo o corte realizado durante 10-15 minutos, seguido da retirada de 1/3 do soro e aquecimento até 40°C. O tempo de tratamento da massa foi de 60 minutos a contar do corte. A massa foi enformada e prensada por 30 minutos, invertida e prensada até o dia seguinte. Os queijos foram desenformados e colocados para salga em salmoura com densidade entre 18 e 20°Baumé, durante 5 horas. Os queijos foram retirados da salga e, após secagem, embalados a vácuo e estocados em câmara para maturação (13°C e 85% UR).

As análises físico-químicas foram realizadas em triplicata aos 30 e 48 dias de maturação dos queijos, sendo determinados os seguintes parâmetros: extrato seco total (EST)¹², acidez titulável¹³, gordura¹³, gordura no extrato seco (GES= Gordura/ESTx100), cinzas¹³, nitrogênio total-NT¹⁴, nitrogênio solúvel em pH 4,6-NNC¹⁵, nitrogênio solúvel em TCA 12%-NNP¹⁵, tirosina e triptofano¹⁶ e atividade de água¹⁷. O índice de extensão da maturação (IEM) foi determinado por NNC/NT x 100 e o índice de profundidade da maturação (IPM) por NNP/NT x 100¹⁸.

Após 30 dias de maturação, os queijos foram submetidos à avaliação sensorial utilizando o modelo Etana¹⁹, considerando-se os seguintes atributos: odor, aroma, doce, ácido, salgado, amargo, adstringente, picante, elasticidade, firmeza, friabilidade, adesividade, solubilidade e umidade, por equipe de 30 consumidores de queijos. Este modelo apresenta um diagrama contendo os 14 descritores em escala de 5 pontos,

conforme se observa no modelo Etana¹⁹, oferecendo a possibilidade de evidenciar rapidamente os parâmetros sensoriais que valorizam o produto. Antes da avaliação sensorial os provadores foram informados a respeito das definições relativas a cada um dos atributos sensoriais utilizados na avaliação dos queijos (Quadro 1).

A sessão de avaliação sensorial foi realizada no período da tarde (entre 15 e 17 horas) em cabines individuais, com iluminação branca artificial. As amostras de queijo Prato foram cortadas em cubos de aproximadamente 1,5 cm de aresta, colocadas em um copinho plástico descartável e codificadas usando-se números de 3 dígitos, tomados ao acaso, de acordo com as instruções de Moraes²⁰. Os provadores receberam uma bandeja contendo as amostras, uma ficha de avaliação e água para ajudar a limpar o paladar entre uma amostra e outra.

A análise de variância (ANOVA) dos resultados foi realizada a partir de um delineamento inteiramente casualizado (DIC), realizando-se teste de média de Tukey ao nível de 5 % de significância ($p < 0,05$), utilizando o programa computacional Estat, desenvolvido por Banzatto e Kronka²¹.

Quadro 1. Definições de termos descritores empregados na avaliação sensorial do queijo Prato.

Atributos sensoriais	Definições
Odor	propriedade sensorial perceptível no queijo por meio do órgão olfativo, cheirando as substâncias voláteis
Aroma	propriedade sensorial perceptível por meio do retro-olfato antes da deglutição. Este estímulo é levado pela nuvem aromática liberada pela mastigação e guiado através do nariz, pela respiração
Doce	gosto elementar provocado pelas soluções aquosas de substâncias como a sacarose ou frutose
Ácido	quantifica o gosto elementar provocado pelas substâncias ácidas diluídas como ácido cítrico ou tartárico
Salgado	quantifica o gosto elementar provocado pelas soluções aquosas diluídas de diferentes substâncias como o cloreto de sódio
Amargo	quantifica o gosto elementar provocado pelas soluções aquosas diluídas de substâncias tais como quinino e cafeína
Adstringente	quantifica a sensação complexa referente à contração da mucosa que se produz, por exemplo, com os taninos ou banana verde
Picante	sensação de aquecimento da cavidade bucal como àquela provocada por pimenta
Elasticidade	habilidade de uma substância recuperar sua forma inicial e dimensões após ter sido submetido à pressão
Firmeza	resistência a uma dada deformação
Friabilidade	característica da substância ser facilmente reduzida em pedaços
Adesividade	esforço necessário para prevalecer sobre forças que mantêm duas superfícies em contato
Solubilidade	sensação que se desenvolve quando a amostra se derrete rapidamente na saliva
Umidade	percepção da presença de água sentida na boca

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Tabela 1 apresenta os resultados médios da avaliação físico-química dos queijos Prato fabricados com dois tipos de culturas lácteas aos 30 e 48 dias de maturação.

Tabela 1. Caracterização físico-química média* dos queijos Prato durante a maturação.

Análises	Tratamento 1		Tratamento 2	
	30 dias	48 dias	30 dias	48 dias
Acidez (%)	1,20 ^a ± 0,03	1,17 ^a ± 0,01	0,64 ^c ± 0,00	0,78 ^b ± 0,00
Extrato seco total (%)	59,85 ^c ± 0,41	60,86 ^b ± 0,11	62,54 ^a ± 0,35	61,51 ^b ± 0,42
Gordura (%)	28,0 ^a ± 0,0	28,0 ^a ± 0,0	28,2 ^a ± 0,3	28,0 ^a ± 0,0
GES (%)	46,8 ^a ± 0,3	46,0 ^{ab} ± 0,1	45,0 ^b ± 0,7	45,5 ^b ± 0,3
Cinzas (%)	4,15 ^{bc} ± 0,05	4,22 ^{ab} ± 0,04	4,29 ^a ± 0,02	4,10 ^a ± 0,04
Nitrogênio (%)	3,98 ^c ± 0,01	3,81 ^a ± 0,09	4,66 ^a ± 0,04	4,23 ^b ± 0,13
Proteína total (%)	24,87 ^c ± 0,05	23,85 ^c ± 0,58	29,12 ^a ± 0,25	26,88 ^b ± 0,34
NNC (%)	0,45 ^c ± 0,00	0,65 ^a ± 0,00	0,37 ^d ± 0,01	0,58 ^b ± 0,00
NNP (%)	0,33 ^b ± 0,01	0,45 ^a ± 0,00	0,19 ^d ± 0,00	0,29 ^c ± 0,00
IEM (%)	11,33 ^c ± 0,11	17,08 ^a ± 0,45	7,93 ^d ± 0,20	13,72 ^b ± 0,45
IPM (%)	8,18 ^b ± 0,27	11,69 ^a ± 0,29	4,16 ^d ± 0,14	6,90 ^c ± 0,18
Tirosina (mg/100g queijo)	153,14 ^b ± 0,52	160,85 ^a ± 2,70	135,84 ^d ± 1,05	142,09 ^b ± 2,28
Triptofano (mg/100g queijo)	54,08 ^a ± 0,18	52,33 ^b ± 0,80	49,52 ^c ± 0,36	47,91 ^d ± 0,79
A_w	0,97 ^c ± 0,00	0,98 ^a ± 0,00	0,97 ^b ± 0,00	0,97 ^d ± 0,00

* análise em triplicata (média ± desvio padrão).

^{a,b,c,d} Letras iguais na mesma linha não diferem entre si a 5% de probabilidade (Teste de Tukey). GES – gordura no extrato seco; NNC – nitrogênio solúvel em pH 4,6; NNP: nitrogênio solúvel em TCA 12%; Aw: atividade de água; IEM – índice de extensão da maturação; IPM: índice de profundidade da maturação.

Tratamento 1 - Fermentação com *L. lactis* ssp *lactis* e *L. lactis* ssp *cremoris*. Tratamento 2 - Fermentação com *L. lactis* ssp *lactis* e *L. lactis* ssp *cremoris* e *S. thermophilus*.

Os queijos do tratamento 2 apresentaram menor teor de acidez do que os queijos do tratamento 1, sendo que neste tratamento não houve diferença significativa de acidez no decorrer da maturação. Apesar dos queijos do tratamento 2 apresentarem menor acidez, esta teve aumento significativo no decorrer do processo de estocagem. Esta diferença entre os tratamentos está relacionada com a microbiota presente. Segundo Moreno et al.¹ os queijos processados com espécies que utilizam lentamente a lactose apresentam uma elevação mais rápida do pH. Assim, podemos observar que no queijo 2 houve um consumo rápido de lactose.

Aos 30 dias de fabricação os queijos do tratamento 2 apresentaram maiores valores de sólidos totais do que os do tratamento 1, sendo que aos 48 dias a diferença não foi significativa. Pode-se considerar que os queijos do tratamento 1 são levemente mais úmidos do que os do tratamento 2.

Os teores de gordura observados não apresentaram diferença significativa, uma vez que ambos os queijos foram fabricados com leite que apresentaram a mesma porcentagem de gordura. A porcentagem de gordura no extrato seco (GES) variou de 45,04 a 46,79%. Estes valores encontram-se de acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos²², o qual preconiza que queijos gordos devem conter entre 45 e 59,9% de GES.

O conteúdo de cinzas variou de 4,10 a 4,29%. A cinza de um alimento é o resíduo inorgânico que permanece após a queima da matéria orgânica, que é transformada em CO₂, H₂O e NO₂. A cinza é constituída principalmente de grandes quantidades de K, Na, Ca e Mg, pequenas quantidades de Al, Fe, Cu, Mn e Zn e traços de Ar, I, F e outros elementos²³.

Pode ser observado que as porcentagens de proteína total foram significativamente diferentes nos queijos dos tratamentos 1 e 2, variando, respectivamente, de 23,85% a 29,12% no tratamento 2. Estas variações são decorrentes da composição do leite e do processo de fabricação que influenciam a composição final do queijo e, consequentemente, o perfil de maturação¹.

Nos dois tratamentos houve um aumento dos índices de maturação (IEM e IPM) no período avaliado. Os queijos do tratamento 1 apresentaram índices maiores, comparados ao do tratamento 2, evidenciando uma maior proteólise nos queijos no primeiro tratamento. O índice de extensão da maturação mede o desdobramento do nitrogênio total em nitrogênio solúvel, devido à degradação das caseínas pela quimosina, plasmina e proteinases de bactérias lácteas, e é um fator importante na composição final e nas características sensoriais do produto. O índice de profundidade mede a formação de peptídeos pequenos e aminoácidos que se acumulam durante a maturação, devido principalmente à ação proteolítica de proteinases e peptidases bacterianas sobre os compostos nitrogenados provenientes da degradação das caseínas¹. Assim, apesar do uso do *Streptococcus thermophilus* no queijo 2, a proteólise foi menos intensa neste queijo, provavelmente devido a menor conteúdo de umidade.

Observou-se que o teor de tirosina teve um aumento ao longo da maturação nos dois queijos, enquanto que o teor de triptofano diminuiu. Além disso, o queijo 1 apresentou valores maiores nos dois parâmetros. O desdobramento da proteína em aminoácidos aumenta a qualidade do queijo, devido à alteração da textura da massa e à liberação de compostos relacionados ao aroma e sabor. As oscilações dos aminoácidos, observadas durante a maturação, baseiam-se na ocorrência de reações de desaminação, transaminação e descarboxilação onde os aminoácidos livres são hidrolisados e posteriormente resultam em ácidos graxos, aminas, aldeídos e álcoois, os quais possuem propriedades flavorizantes responsáveis pelo desenvolvimento de sabor de origem proteolítica²⁴.

Os valores de atividade de água variaram entre 0,97% e 0,98%, atendendo as necessidades mínimas de atividade de água para o desenvolvimento de bactérias lácteas, de 0,93% a 0,96%, dependendo da espécie²⁵.

A Tabela 2 apresenta os resultados da avaliação sensorial dos queijos Prato para os tratamentos 1 e 2, após 30 dias de maturação. Os atributos sensoriais de acidez, amargor, sabor picante, elasticidade, solubilidade e umidade se apresentaram mais acentuados nos queijos do tratamento 1, quando comparado aos do tratamento 2, além disso foi observado uma menor firmeza nos queijos do tratamento 1. Os outros atributos sensoriais se apresentaram semelhantes nos dois queijos.

Tabela 2. Caracterização sensorial média* de queijos Prato fabricados com diferentes culturas lácteas.

Atributos sensoriais	Tratamento 1	Tratamento 2
Aroma	3,84 ^a ± 1,17	3,64 ^a ± 1,30
Doce	1,62 ^a ± 1,13	1,75 ^a ± 1,09
Ácido	2,40 ^a ± 1,02	1,56 ^b ± 1,01
Salgado	3,04 ^a ± 1,01	2,54 ^a ± 0,71
Amargo	1,72 ^a ± 1,06	1,03 ^b ± 0,67
Adstringente	1,56 ^a ± 1,130	1,07 ^a ± 0,65
Picante	1,88 ^a ± 1,22	0,96 ^b ± 0,77
Elasticidade	2,88 ^a ± 1,14	2,16 ^b ± 1,22
Firmeza	3,21 ^b ± 1,07	3,92 ^a ± 0,76
Friabilidade	3,27 ^a ± 1,12	3,26 ^a ± 0,96
Adesividade	2,52 ^a ± 1,02	1,98 ^a ± 0,85
Solubilidade	3,08 ^a ± 1,05	2,40 ^b ± 0,83
Umidade	3,08 ^a ± 0,89	1,69 ^b ± 0,83

* n=30 consumidores de queijo (média ± desvio padrão).

^{a,b} Letras iguais na mesma linha não diferem entre si a 5% de probabilidade (Teste de Tukey)

Tratamento 1 - Fermentação com *L. lactis* ssp *lactis* e *L. lactis* ssp *cremoris*.

Tratamento 2 - Fermentação com *L. lactis* ssp *lactis* e *L. lactis* ssp *cremoris* e *S. thermophilus*.

As diferenças observadas nos atributos sensoriais podem ser relacionadas ao fato dos queijos do tratamento 1 terem apresentado uma maior proteólise (menor firmeza, maior elasticidade, solubilidade e adesividade), como mostra sua caracterização físico-química, quando comparado ao queijo 2. As características de textura de um queijo maturado estão relacionadas principalmente com a degradação das proteínas do queijo, influenciadas por outros fatores, tais como: umidade, relação umidade/caseína, sal e atividade proteolítica e peptidolítica das culturas lácteas²⁶.

Os peptídeos gerados pela renina servem de substrato para proteinases microbianas, gerando pequenos peptídeos e aminoácidos que contribuem para o fundo do sabor e algumas vezes para o amargor, se a atividade das enzimas é excessiva. A proteólise excessiva (renina muito proteolítica, muita umidade ou pouco sal) também pode levar ao amargor⁷. Geralmente este sabor está associado a presença de polipeptídeos com um alto conteúdo de resíduos hidrofóbicos²⁷. No presente trabalho a percepção do amargor foi maior nos queijos do tratamento 1, mais proteolizado.

O efeito imediato da proteólise na textura dos queijos duros e semi-duros é o amaciamento devido à quebra da rede de caseína, como mostram os resultados sensoriais, mas este efeito é muito dependente do pH. O alto valor de pH permite às proteínas permanecerem em uma matriz que se amacia conforme aumenta a proteólise²⁷.

CONCLUSÕES

O uso de *Streptococcus thermophilus* como cultura adjunta na fabricação do queijo Prato não resultou em maior proteólise como indicam os índices de profundidade e extensão da maturação, sendo mais intensa nos queijos do tratamento 1, os quais apresentaram maior teor de umidade. A variação na intensidade da proteólise resultou em alterações nas características sensoriais dos queijos. Os queijos mais proteolizados, sem a adição da cultura adjunta, apresentaram menor firmeza, maior acidez e gosto amargo, maior sensação picante, elasticidade, adesividade, solubilidade e umidade.

REFERÊNCIAS

1. Moreno I, Van Dender AGF, Costa GAN, Vialta A, Lerayer ALS, Silva AT, Destro MT. Propriedades físicas e composição química e bioquímica durante a maturação de queijo prato de diferentes origens. *Rev Inst Laticínios Cândido Tostes* 2002; 57 (327): 136-9.
2. Silva AT. Maturação de queijo tipo prato: influência da adição de enzimas proteolíticas no processo [Dissertação de mestrado]. Campinas, São Paulo: Universidade de Campinas, 1998. 119 pp.
3. Costa Júnior LCG, Pinheiro AJR. Influência da relação caseína/gordura nas características físico-químicas do queijo prato. *Rev Inst de Laticínios Cândido Tostes* 1998; 53 (305): 29-49.
4. Baldini VLS, Campos SDS, Silva AT, Van Dender AGF, Lajolo FM. Alterações das características químicas e de textura do queijo tipo Prato ao longo do processo de maturação. *Rev Inst Laticínios Cândido Tostes* 1998; 53(304): 53-9.
5. Silva AT, Van Dender AGF, Baldini VLS. Perfil eletroforético do queijo tipo Prato obtido com incorporação de enzimas proteolíticas. *Rev Inst Laticínios Cândido Tostes* 1999; 54 (309): 150-6.
6. Silva AT, Moreno I, Van Dender AGF, Vialta A. Efeito da redução do teor de gordura na população microbiana e na formação de flavor do queijo. *Rev Ind Laticínios* 2004; 50: 58-61.
7. Fox PF, Law J, McSweeney PLH, Wallace J. Biochemistry of cheese ripening. In: Fox PF, editor. *Cheese: chemistry, physics and microbiology*. London: Chapman & Hall; 1997.
8. Yvon M, Rijken L. Cheese flavour formation by amino acid catabolism. *Int Dairy J* 2001; 11 (4/7): 185-201.
9. Engels WJ, Visser S. Isolation and comparative characterization of components that contribute to the flavour of different types of cheese. *Neth Milk Dairy J* 1994; 48 (3): 127-40.
10. Sabioni JG. Contribuição da atividade lipolítica e proteolítica na formação de flavor em queijos e no desenvolvimento de produtos aromáticos de origem láctea. *Rev Inst Laticínios Cândido Tostes* 2000; 54 (312): 30-9.
11. Fox PF. Proteolysis during cheese manufacturing and ripening. *J Dairy Sci* 1989; 72 (6): 1379-400.
12. Case RA, Bradley Jr RL, Williams RR. *Chemical and physical methods*. American Public Health Association. Standard methods for the examination of dairy products. 15th ed. Washington (DC): 1985. p. 327-404.
13. Instituto Adolfo Lutz (BR). Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. São Paulo (SP); 1985.
14. Association of Official Analytical Chemists - AOAC. *Dairy products. Official methods of analysis*. 16th ed. Arlington, 1997.
15. Silva PHF, Pereira DBC, Oliveira LL, Costa Júnior LCG. Físico-química do leite e derivados: métodos analíticos. Juiz de Fora (MG): Oficina de Impressão; 1997.
16. Vakaleris DG, Price WV. A rapid spectrophotometric method for measuring cheese ripening. *J Dairy Sci* 1959; 42 (2): 264-76.
17. Van Dender AGF, Sevilhano LA, Yotsuyanagi K, Jardim DCP. Determinação da atividade de água de queijos usando crioescopia eletrônica. *Rev Inst Laticínios Cândido Tostes* 1995; 50 (3): 18-26.
18. Wolfschoon-Pombo AF. Índices de proteólise em alguns queijos brasileiros. *Boletim do Leite* 1983; 55 (661): 1-8.
19. Giomo A. Tasting the cheese and sensory analysis. In: Symposium "Cheese in all their aspects". Bulletin of the IDF 2001; 369: 30-3.
20. Moraes MAC. Métodos para avaliação sensorial dos alimentos. Campinas (SP): Ed. Unicamp; 1983.
21. Banzato DA, Kronka SD. Experimentação agrícola. 3rd ed. Jaboticabal (SP): Funesp; 1995.
22. Brasil. Portaria nº 358 de 1997 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade do queijo Prato. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 4 set. 1997. nº172, p.19690.
23. Cecchi HM. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. Campinas (SP): Editora da Unicamp; 1999.
24. Fox PF, Guinee TP, Cogan TM, McSweeney PLH. *Fundamentals of cheese science*. Gaithersburg: Aspen Publishers; 2000.
25. Beresford TP, Fitzsimons NA, Brennan NL, Cogan TM. Recent advances in cheese microbiology. *Int. Dairy J* 2001; 11 (4): 259-74.
26. Katsuda MS, Miglioranza LHS, Ferreira SHP, Fonseca ICB. Caracterização química, sensorial e de textura, de queijo tipo prato com teor reduzido de gordura. *Rev Inst Laticínios Cândido Tostes* 1999; 54 (309): 128-33.
27. Varnan AH, Sutherland JP. *Leche y productos lácteos: tecnología, química y microbiología*. Zaragoza: Editorial Acribia; 1994.