

Queijo Prato com teor reduzido de gordura adicionado de enzima proteolítica: características físicas e sensoriais

Reduced fat Prato cheese added of proteolytic enzyme: physical and sensorial characteristics

RIALA6/1299

Grazielle Aparecida Chiuchi GARCIA¹, Ana Lúcia Barretto PENNA^{1*}

¹Laboratório de Leite e Derivados, Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista (UNESP)

Rua Cristóvão Colombo, 2265. 15054-000 São José do Rio Preto – SP, Brasil

Tel. (17) 3221-2266. E-mail: grazielegarcia@yahoo.com.br; analucia@ibilce.unesp.br*

Recebido: 26.04.2010 – Aceito para publicação: 23.08.2010

RESUMO

O queijo Prato, segundo queijo mais consumido no Brasil, obtido por coagulação enzimática do leite e maturado por pelo menos 25 dias, é classificado como gordo e de média umidade. Devido à preocupação com a saúde, os consumidores de queijos têm procurado produtos em suas versões com menor teor de gordura. Contudo, a gordura confere as características sensoriais desejáveis, como sabor, cremosidade, maciez e textura aos queijos. Alterações têm sido introduzidas no processo tecnológico de fabricação dos queijos com teor reduzido de gordura, com o intuito de efetuar melhoria nesses produtos; e o uso de enzimas proteolíticas é uma importante estratégia a ser considerada. A capacidade de derretimento, cor e avaliação sensorial são fundamentais indicadores da qualidade dos produtos obtidos. O presente trabalho analisou as características físicas e sensoriais de queijo Prato com teor reduzido de gordura adicionada enzima proteolítica fastuosaina, extraída do fruto verde do gravatá. A adição da fastuosaina não interferiu na capacidade de derretimento, tampouco promoveu o desenvolvimento de amargor, que é característica comum não apreciada em queijos com teor reduzido de gordura.

Palavras-chave. queijo Prato, enzima proteolítica, capacidade de derretimento, cor, avaliação sensorial, modelo Etana.

ABSTRACT

The Prato cheese is the second most consumed cheese in Brazil. It is produced by milk enzymatic coagulation, and matured for at least 25 days; it is classified as fatty cheese and of medium moisture. Due to the concern to health, the cheeses consumers have been seeking for products with low fat contents; however fat is essential for providing desirable sensory and physiologic characteristics, such as flavor, softness and texture to cheeses. Alterations on the technological processing of low fat cheeses have been made seeking for improved products, and the use of proteolytic enzymes has been a significant strategy. The meltability, color and sensory characteristics are fundamental quality indicators of the final products. This study reports the findings from the analyses on the physical and sensory characteristics of low fat Prato cheese with addition of proteolytic enzyme – fastuosain, that is extracted from unripe gravata fruit. The addition of fastuosain improved the quality of the product, as this additive neither affected the meltability, nor produced bitterness, which is a common unpleasant taste in low fat cheeses.

Key words. Prato cheese, proteolytic enzyme, meltability, color, sensory evaluation, Etana model.

INTRODUÇÃO

O queijo Prato é classificado como gordo, contendo de 45 a 59,9% de matéria gorda no extrato seco, e de média umidade, entre 36 e 46%. É fabricado por meio de coagulação enzimática do leite e deve ser maturado por 25 dias^{1,2}. O queijo Prato apresenta uma produção anual de 133.000 t., sendo o segundo queijo mais consumido no Brasil³.

A gordura participa de múltiplas funções nos queijos, sendo um importante ingrediente para os aspectos sensoriais e fisiológicos dos alimentos, contribuindo para o sabor, cremosidade, aparência, aroma, odor, sensação de saciedade após as refeições, além de outros atributos sensoriais como maciez, suculência, sendo determinante na textura dos alimentos⁴. Assim, a redução do teor de gordura nos queijos, sem alteração no processo tecnológico de fabricação, resulta em mudanças que comprometem a textura, o aroma e o sabor. Dentre as alterações no processamento visando melhoria destes produtos, podem ser citadas: mudanças de temperatura e tempo de cozimento, seleção de culturas lácticas ou adição de culturas adjuntas, pré-concentração do leite por ultrafiltração, adição de substitutos de gordura ou de enzimas proteolíticas⁵. Estas modificações são necessárias, pois a aceitabilidade dos queijos com reduzido teor de gordura pelos consumidores está diretamente relacionada aos atributos de aparência, sabor, aroma e textura, originados pela combinação de fatores microbiológicos, bioquímicos e dos parâmetros tecnológicos.

A capacidade de derretimento, a cor e a avaliação sensorial de queijos são importantes indicadores de sua qualidade. As propriedades de derretimento são controladas pela composição do queijo no momento do aquecimento, sendo os teores de proteína, gordura, umidade, sal, cálcio, hidrólise proteica e extensão da hidratação da proteína, parâmetros importantes, influenciados pela variedade do queijo, pelas condições de processamento e pelo grau de maturação⁶. O aumento na capacidade de derretimento durante o armazenamento pode ser relacionado mais à hidrólise secundária da proteína do que à hidrólise inicial. Estudos com queijo Cheddar não encontraram relação entre a quebra da fração α_{s1} -caseína e o derretimento, mas relacionaram o aumento no derretimento com a degradação da β -caseína⁷. Dave et al⁸ sugeriram que a capacidade de derretimento é influenciada pela hidrólise contínua das frações α_{s1} e β -caseína em pequenos peptídeos e não da hidrólise inicial das proteínas intactas.

Além da capacidade de derretimento, a cor do queijo também está relacionada ao teor de gordura e à degradação proteica que ocorre durante a maturação. Mudanças na coloração dos queijos, devido às variações sazonais, podem ser corrigidas pela adição de corantes durante o processamento. O corante natural extraído da semente de urucum, uma árvore denominada *Bixa orellana*, é responsável pela coloração amarela característica do queijo Prato⁹. As mudanças nos parâmetros de cor são utilizadas para avaliar o processo de maturação de queijos em função do tempo. De acordo com a escala CIELAB, o valor de L, em uma escala de 0 (preto) a 100 (branco) mede a luminosidade. Um aumento positivo ou negativo no valor de a^* corresponde a um aumento na proporção das cores verde (-100) e vermelha (+100). O valor b^* representa a variação de azul (-100) a amarelo (+100)¹⁰. Alguns estudos foram realizados analisando-se as variações nos parâmetros de cor de queijos, observando, em geral, decréscimo do valor de L e aumento dos valores de a^* e b^* durante o processo de maturação^{5,11,12}.

Queijos maturados com baixo teor de gordura apresentam sabor e aroma atípicos, que são associados com a redução nos níveis de ácidos graxos, como os ácidos hexanoico e butanoico, e de metil cetona. Os peptídeos amargos são formados pela ação de várias proteases na caseína. Quando estes peptídeos se acumulam em altas concentrações, devido à produção excessiva ou degradação inadequada por peptidases microbianas, ocorre o amargor em queijos, característica que também pode ser resultante de alguns aminoácidos, amidas, cetonas de cadeias longas e alguns monoglicerídeos. O desenvolvimento de amargor é um defeito comum em queijos com baixo teor de gordura, devido ao baixo conteúdo de sal e alta umidade. Compostos hidrofóbicos produzidos por proteólise são perceptíveis com a maior intensidade de amargor nestes queijos, uma vez que estes compostos são adsorvidos pela gordura¹³.

Os ácidos graxos de cadeias curtas são liberados por meio da atividade lipolítica e contribuem para o sabor e aroma dos queijos. A gordura contribui na liberação destes compostos, porém, quando o conteúdo de gordura é diminuído, estes ácidos graxos estão presentes em menor quantidade e o queijo apresenta falta de sabor e aroma. Frequentemente, em queijos com teor reduzido de gordura, o pH diminui com o passar do tempo e este decréscimo resulta em um forte sabor, que tende a ser cada vez mais intenso. O sabor de ranço, em queijos com teor reduzido de gordura fabricados em baixa temperatura de cozimento, pode ser resultado da alta

umidade e de uma baixa proporção de sal/umidade. Esta proporção é um indicador do verdadeiro conteúdo de sal na fase úmida do queijo, que, sendo baixa, pode resultar na proliferação de bactérias não pertencentes à cultura láctica (NSLAB – *non starter lactic acid bacteria*), aceleração de reações enzimáticas e alterações no metabolismo de bactérias da cultura¹⁴.

Vários estudos propuseram modificações no processo de fabricação de queijo Prato com teor reduzido de gordura, tais como adição de cultura adjunta, uso de enzimas proteolíticas e pré-concentração do leite por ultrafiltração. Também foi verificado o efeito destas modificações nas características sensoriais dos queijos^{5,15}. A análise sensorial é uma medida multidimensional que permite identificar a presença ou ausência de diferenças perceptíveis, identificar e quantificar as características sensoriais importantes, de forma rápida, além de identificar problemas particulares que não poderiam ser detectados por outros procedimentos analíticos.

Em estudos com queijo Prato com redução de 50% no teor de gordura, Katsuda et al¹⁶ observaram que, após 45 dias de maturação, o queijo Prato com baixo teor de gordura não apresentou diferenças significativas em relação ao aroma, coesividade, adesividade e mastigabilidade. Apresentou-se com melhor aparência, mais firme e elástico do que o queijo controle.

Enzimas proteolíticas adicionadas a queijos com teor reduzido de gordura atuam nas proteínas presentes, principalmente na a e b-caseínas, contribuindo para melhorar a textura, aroma, sabor e aspecto dos queijos, além de acelerarem o processo de maturação. É comum o uso de enzimas em queijos processados industrialmente, visando a modificação do sabor e aroma^{5,17}.

Frente à importância econômica e nutricional dos produtos lácteos, particularmente do queijo Prato, e a preocupação com a saúde, tornam-se necessários estudos para desenvolver tecnologias de fabricação de queijo Prato com teor reduzido de gordura. Todavia, é importante a garantia da qualidade e segurança do produto, além do desenvolvimento de um produto competitivo, inovador e saudável. Considerando que são poucos os trabalhos disponíveis na literatura sobre o uso de enzimas para melhoria das características funcionais do queijo Prato, estudos neste sentido podem contribuir para o setor de tecnologia de produtos lácteos. Desta forma, este trabalho teve como objetivo avaliar as características físicas e sensoriais de queijo Prato com teor reduzido de gordura adicionado de enzima proteolítica fastuosáina.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção da enzima e determinação da atividade enzimática

A enzima fastuosáina foi obtida e caracterizada por Cabral¹⁸. Para determinação da atividade enzimática, 50 mg de enzima foram dissolvidos em 1,5 mL de tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 7,0. Duas alíquotas de 50 µL de solução foram coletadas e denominadas: tubo teste e um tubo branco, às quais foram adicionados 20 µL de cloridrato de cisteína 0,005 M, seguido de incubação a 37°C por 5 minutos. Posteriormente, foram adicionados 50 µL de tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 7,0 e 800 µL de caseína 1% preparada na solução tampão citada. À amostra denominada tubo branco, adicionou-se também ácido tricloroacético 10%, visando interrupção da reação enzimática, sendo ambas as amostras submetidas à incubação a 37°C por 20 minutos. Após este período, foram adicionados 200 µL de ácido tricloroacético 10% às amostras e os tubos foram centrifugados por 10 minutos a 9.300 x g em uma microcentrífuga 5414D (Eppendorf, Hamburg, Alemanha). O sobrenadante foi submetido à leitura da absorbância em 280 nm (Abs_{280}), em cubetas de quartzo, utilizando-se um espectrofotômetro de duplo feixe Cary Scan 100. A unidade de atividade (U) foi adotada, segundo Baeza et al, em que 1U corresponde ao aumento de Abs_{280} causado por 1 µmol Tirosina/min, nas condições do ensaio^{19,20,21}.

Caracterização do leite pasteurizado

Para a caracterização do leite pasteurizado tipo A utilizado na fabricação dos queijos controle e modificados foram feitas análises físico-químicas, em triplicata. A densidade foi determinada por meio do termolactodensímetro de Quevenne, com escala entre 1,015 a 1,040 g/cm³, corrigida para 15°C em função da temperatura²². O teor de gordura foi determinado pelo método de Gerber²². O teor de extrato seco total (EST) foi determinado de forma indireta, utilizando os valores encontrados para os teores de gordura e densidade, por meio do disco de Ackermann²². A acidez titulável foi determinada por titulação com NaOH 0,1 N e solução de fenolftaleína como indicador, sendo expressa em porcentagem de ácido láctico²².

Preparo e análise dos queijos

Foram realizados 4 processamentos de queijo Prato com teor reduzido de gordura, sendo um

controle (A - sem adição de enzima proteolítica) e três pelo método modificado, com a adição da enzima fastuosáina apresentando atividade total de: B: 607.500 U., C: 1.395.000 U. e D: 1.822.500 U., obtida, purificada e caracterizada por Cabral¹⁸.

Os queijos Prato foram elaborados a partir de 25 litros de leite pasteurizado padronizado, aquecido a 32°C e adicionado de 12,5 mL de cloreto de cálcio 50%, 2,5 mL de corante extraído de urucum, 3 g de ácido sórbico, 20 mL de cultura mesofílica composta por *Lactococcus lactis ssp. lactis* e *Lactococcus lactis ssp. cremoris* (LL 50A), correspondente a 10¹⁶ UFC/mL e 1,25 mL de coagulante Chy-Max (Chr. Hansen). A coagulação foi realizada a 32°C por aproximadamente 40 minutos. Após isso, fez-se o corte da massa, seguido da 1ª dessoragem (retirada de 30% do soro) e aquecimento até 38°C. O tempo de tratamento da massa foi de aproximadamente 60 minutos, após o momento do corte. Para os queijos modificados (B, C e D), foi feita a drenagem de 60% da quantidade inicial de soro e adição da enzima fastuosáina. O tratamento enzimático do coágulo foi efetuado a 42°C por 20 minutos. Em seguida, foi feita a drenagem total do soro, enformagem da massa, prensagem por 30 minutos, inversão e prensagem até o dia seguinte. Realizou-se então a salga, em salmoura com densidade entre 18 e 20°Baumé, durante 5 horas. Os queijos foram retirados da salga e após secagem, por 24 horas, foram embalados a vácuo e estocados em câmara para maturação a 12°C e 80% de umidade relativa.

Determinação da composição centesimal dos queijos Prato

Foram determinados: o teor de extrato seco total por secagem em estufa a vácuo a 70°C/24h²³, o teor gordura pelo método de Gerber – Van Gulik²², o teor de nitrogênio total (NT) pelo método de Kjeldahl, sendo que o teor de proteína total foi calculado multiplicando-se o valor do nitrogênio total por 6,38²⁴, o teor de cinzas por incineração em mufla a 550°C/24h²², atividade de água²⁵, o teor de sal²⁶, os índices de extensão e profundidade da maturação²⁷, a acidez²² e o teor dos aminoácidos tirosina e triptofano²⁸.

Capacidade de derretimento

A capacidade de derretimento (CD) foi determinada após 1, 15, 30, 45 e 60 dias de maturação, em triplicata, pelo método modificado de Schreiber, conforme descrito por Kosikowski e Mistry²⁹, consistindo em retirar da peça de queijo um cilindro de 36 mm de diâmetro. Com o auxílio de um fatiador, foram cortados discos de 5 mm de espessura. As

fatias foram colocadas em placas de Petri divididas em 8 áreas iguais por meio de diâmetros. Foram medidos 8 diâmetros iniciais (Di) da amostra, e as placas foram transferidas para a estufa a 107°C, por 7 minutos, e a 130°C, por 10 minutos³⁰. Posteriormente, as placas foram deixadas, por 30 minutos, à temperatura ambiente, e os diâmetros finais (Df) de cada amostra foram medidos. A capacidade de derretimento foi calculada por meio da seguinte equação:

$$CD (\%) = \frac{(Df^2 - Di^2) \times 100}{Di^2} \quad (1)$$

Parâmetros de cor

As mudanças nos parâmetros de cor (L, a* e b* da escala CIELAB) foram obtidas para luz padrão D65 e observação a 10°, em triplicata, aos 30 e 60 dias de maturação, utilizando-se um espectrofotômetro portátil Hunter Lab Mini Scan XE Plus (Hunter Associates Laboratories, Reston, EUA), calibrado com padrões branco e preto, sendo a cor das amostras mensurada por reflectância³¹.

Avaliação sensorial

Seleção do painel de provadores e aplicação do teste

A seleção dos provadores e a aplicação do teste sensorial foram aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da UNESP (Protocolo CONEP n° 0003.0.229.000-05). Para a seleção do painel de provadores, foi utilizado um método de avaliação da sensibilidade de possíveis provadores por meio da detecção do gosto amargo em amostras de queijo tipo Prato³². Amostras comerciais de queijo Prato foram cortadas em cubos com 1,25 cm de aresta. Uma parte das amostras (controle) foi imersa em solução aquosa a 5°C/12 horas e outra parte foi imersa em solução de cafeína 0,00038% a 5°C/12 horas, visando adquirir amargor. Todas as amostras foram posteriormente submetidas à secagem a 5°C/24 horas e armazenadas em recipientes fechados até o momento de aplicação dos testes. Os possíveis provadores foram escolhidos ao acaso, entre alunos, docentes e funcionários da UNESP, que realizaram quatro sessões com 3 testes de diferença (teste triangular) cada uma. Os provadores receberam uma bandeja contendo as amostras de queijos codificadas com três dígitos, apresentadas de forma monádica em pratos descartáveis brancos, água e uma ficha de avaliação com instruções para que o provador assinalasse o código referente à amostra diferente. A ordem de apresentação das amostras foi aleatória e os provadores

foram selecionados conforme o número de acertos nos testes de diferença.

Treinamentos dos provadores e avaliação sensorial dos queijos Prato controle e modificados

Os provadores selecionados, aqueles que apresentaram o número de respostas corretas correspondentes a uma significância de 0,05% no teste triangular, foram submetidos a um treinamento baseado em dois guias: *A guide to the sensory evaluation of texture of hard and semi-hard cheeses* e *Guide to smell, aroma and taste evaluation of hard and semi-hard cheeses*³³. No treinamento, os provadores receberam amostras de diferentes tipos de queijos (Gorgonzola, Provolone, Prato e Requeijão cremoso), de diferentes marcas comerciais e aprenderam a identificar e quantificar as características sensoriais que seriam analisadas nos queijos Prato controle e modificados.

A avaliação sensorial foi realizada nas amostras de queijo tipo Prato, controle e modificados, após 30 e 60 dias de maturação. Foram avaliadas as características de odor, aroma, doce, ácido, salgado, amargo, adstringente, picante, elasticidade, firmeza, friabilidade, adesividade, solubilidade e umidade, pelos provadores treinados, utilizando-se o modelo Etana³⁴. As avaliações sensoriais foram realizadas nos períodos da manhã (entre 9 e 11 horas) e tarde (entre 15 e 17 horas) em cabines individuais, com iluminação artificial. Os provadores receberam uma bandeja contendo a amostra, água e uma ficha de avaliação. Os termos empregados na avaliação sensorial foram descritos por Silva et al¹⁵.

Análise estatística

Para a homogeneidade das variâncias dos resultados experimentais, realizou-se o teste de Levene. De acordo com os resultados obtidos, foram aplicados o teste de Mann-Whitney, para análises estatísticas referentes aos queijos de um mesmo processamento e diferentes parâmetros e dias de maturação, e o teste de Kruskal-Wallis, para as análises referentes aos queijos de diferentes processamentos em relação ao mesmo parâmetro, considerando-se o mesmo dia de maturação. As análises estatísticas foram realizadas, considerando-se um nível de significância de 0,05, utilizando-se o programa computacional Minitab 15.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização do leite pasteurizado utilizado para a fabricação dos queijos controle e modificados.

Após realização da análise do teor de gordura dos leites pasteurizados integral e desnatados, tipo A, foi realizada a padronização do teor de gordura. Após a padronização, observou-se que os valores de densidade das amostras de leite padronizado utilizadas nos diferentes processamentos dos queijos Prato variaram de 1,032 g/mL, para os queijos A, B e D, a 1,033 g/mL, para o queijo C, enquanto os valores de extrato seco total foram iguais a 9,96%, 9,90 %, 10,15% e 10,11% para os queijos A, B, C e D, respectivamente.

Embora tenha sido realizada a padronização do teor de gordura do leite, houve uma pequena variação entre os processamentos de 1,3% de gordura, para os queijos B e C, a 1,5%, para os queijos A e D. Estes valores foram menores que os encontrados por Katsuda et al¹⁶, que foi de 1,7% de gordura para o leite utilizado na fabricação de queijo Prato com teor reduzido de gordura. De acordo com Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado³⁵, os leites utilizados em todos os processamentos foram classificados como semidesnatados, por apresentarem conteúdo de gordura entre 0,6 e 2,9%.

Os valores de acidez das amostras de leite padronizado analisadas, expressos em % ácido láctico, variaram de 0,16 para os queijos A, B e D a 0,17 para o queijo C, estando de acordo com a legislação, que estabelece o intervalo de variação de 0,14 e 0,18% de ácido láctico³⁵. A acidez do leite deve-se a presença de caseína, fosfatos, albumina, dióxido de carbono e citratos. A transformação da lactose por enzimas microbianas, com formação de ácido láctico, pode elevar a acidez do leite, indicando alta atividade microbiana e tornando o produto impróprio ao consumo.

Composição centesimal, índices de maturação, acidez e teores de aminoácidos dos queijos

A composição centesimal dos queijos está apresentada na Tabela 1 e os índices de maturação, acidez e teores de aminoácidos, na Tabela 2. Todos os queijos atenderam os requisitos físico-químicos estabelecidos na legislação brasileira, que classifica o queijo Prato como de média umidade (36 a 46%), devendo apresentar, portanto, o conteúdo de extrato seco total variando de 54 a 64%². De acordo com a legislação o queijo Prato tradicional deve apresentar de 45,0 a 59,9% de matéria gorda no extrato seco². Os valores encontrados nas amostras dos queijos analisados (29,4 a 34,1%) foram menores que os encontrados por Katsuda et al¹⁶, que obtiveram 36,21%, e semelhantes aos encontrados por Silva et al³⁶, que variaram de 30,10 a 32,13%. Os teores de gordura no extrato seco (GES), encontrados nos diferentes processamentos, permitiram que estes fossem

classificados, de acordo à legislação, como semigordos, que inclui queijos com matéria gorda no extrato seco, entre 25,0 e 44,9%¹. O teor de proteína total variou de 28,00 a 30,48%. A redução do conteúdo de gordura resulta em um aumento significativo no conteúdo de proteína. Os valores de proteína total foram maiores que os encontrados por Silva et al³⁶, que variaram de 24,39 a 26,33%, e por Katsuda et al¹⁶, de 27,85%, provavelmente devido à diferença nos teores de umidade dos queijos comparados. As amostras de queijo do processamento D foram as que apresentaram os maiores conteúdos de cinzas (4,74 %), o que pode ser justificado pelo elevado teor de extrato seco total. Estes valores são próximos ao relatado por Katsuda et al¹⁶, que obtiveram 4,65% e por Silva et al³⁶, que observaram variação de 4,01 a 4,39% para queijo Prato “light” comercial. Entretanto, os valores obtidos diferiram dos encontrados para queijo Prato “light” produzido em planta piloto, cuja variação no teor de cinzas foi de 5,07 a 5,20%³⁶.

Os valores de atividade de água (0,96 a 0,98) obtidos foram semelhantes aos encontrados por Silva et al³⁶, que variaram de 0,97 a 0,98. A disponibilidade de água em um alimento regula e limita a atividade biológica de micro-organismos e de reações químicas e enzimáticas, sendo importante durante a maturação. Segundo Van Dender et al²⁵, uma diminuição do ponto de congelamento do extrato aquoso dos queijos reflete em uma redução da atividade de água.

O teor médio de sal em queijos situa-se entre 1,6 e 1,9%, sendo assim, os valores encontrados (0,47 a 1,06 %) nas amostras analisadas foram menores. Queijos com baixos teores de gordura apresentam maiores teores de umidade, comparados aos tradicionais, e conseqüentemente, baixa proporção sal/umidade. Por outro lado, queijos com menor teor de umidade apresentam menor teor de sal, devido ao retardamento no processo de salga, necessitando permanecer por mais tempo na salga. Altos teores de sal podem inibir o crescimento de micro-organismos e baixos teores favorecem a proteólise e o desenvolvimento de acidez.

Os índices de extensão da maturação (IEM) e de profundidade da maturação (IPM) apresentaram diferenças estatisticamente significativa entre os processamentos (P<0,05) em todos os períodos de maturação. Os menores IEM foram encontrados nas amostras dos queijos do processamento A, em que não houve adição de enzimas, e os maiores IEM nas amostras do queijo do processamento B, com adição de enzimas com menor atividade enzimática. O IEM obtido na amostra de queijo do processamento A, aos 60 dias de maturação, foi observado nas amostras dos queijos dos processamentos B e C, aos 45 dias, mostrando

Tabela 1. Composição centesimal dos queijos Prato com teor reduzido de gordura. Valor P referente ao teste Kruskal-Wallis

Parâmetro	Processamento	X ± S	Md	CV	Valor P
EST (%)	A	54,31 ± 0,15	54,24	0,28	0,024
	B	57,20 ± 0,84	56,86	1,46	
	C	54,47 ± 0,83	54,66	1,52	
	D	56,34 ± 0,03	56,35	0,06	
GES (%)	A	34,1 ± 0,1	34,1	0,28	0,022
	B	29,9 ± 0,1	28,9	1,45	
	C	29,4 ± 0,5	29,3	1,53	
	D	32,8 ± 0,0	32,8	0,06	
Proteína total (%)	A	28,00 ± 0,01	28,00	0,03	0,044
	B	29,72 ± 0,44	29,57	1,47	
	C	30,14 ± 0,44	30,17	1,46	
	D	30,48 ± 0,36	30,68	1,17	
Cinzas (%)	A	4,56 ± 0,05	4,54	1,16	0,016
	B	4,38 ± 0,02	4,37	0,38	
	C	4,14 ± 0,02	4,13	0,54	
	D	4,74 ± 0,02	4,74	0,36	
Atividade de água	A	0,96 ± 0,00	0,96	0,01	0,013
	B	0,98 ± 0,00	0,98	0,00	
	C	0,98 ± 0,00	0,98	0,00	
	D	0,96 ± 0,00	0,96	0,01	
Sal (%)	A	1,06 ± 0,06	1,04	5,75	0,015
	B	0,54 ± 0,02	0,55	3,74	
	C	0,47 ± 0,03	0,49	7,16	
	D	0,89 ± 0,02	0,90	2,69	

EST: extrato seco total; GES: gordura no extrato seco. Processamentos (A): sem adição de enzima; (B): adição de fastuosaina com atividade total de 607.500 U.; (C): adição de fastuosaina com atividade total de 1.395.000 U.; (D): adição de fastuosaina com atividade total de 1.822.500 U. X ± S: média ± desvio padrão amostral; Md: mediana; CV: coeficiente de variação

que a adição da enzima proteolítica reduziu o tempo de maturação em 15 dias. Aos 60 dias, o maior índice de profundidade da maturação (IPM) foi obtido na amostra de queijo do processamento A (controle) e o menor na amostra do processamento D.

O teor de acidez apresentou diferença estatisticamente significativa entre os processamentos (P<0,05) em todos os períodos de maturação, sendo que os maiores teores de acidez foram observados aos 60 dias de maturação. O aumento da acidez está relacionado à glicólise, na qual a lactose é convertida em ácido láctico pelas bactérias do fermento, sendo responsável pela produção

de sabor e aroma do queijo. O comportamento crescente nos teores de acidez dos queijos B, C e D são semelhantes aos descritos por Silva et al³⁶, que encontraram variação de 0,62 a 0,81% para queijo Prato “light” comercial, aos 30 e 48 dias de maturação, respectivamente, embora os teores de acidez observados neste experimento sejam superiores.

Os teores dos aminoácidos tirosina e triptofano apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$) entre os processamentos durante os períodos de maturação avaliados. Os maiores teores de tirosina foram obtidos nas amostras dos queijos dos processamentos em que houve adição de enzima proteolítica, semelhante ao encontrado por Silva³⁷, em que o uso da enzima Neutrase[®] em queijo Prato promoveu maiores degradações na proteína com aumento dos teores de tirosina. A variação nos teores do aminoácido tirosina durante o período de maturação nas amostras de queijo ocorreu devido às reações de desaminação, transaminação e descarboxilação, em que os aminoácidos livres são hidrolisados e posteriormente resultam em aminas, aldeídos, álcoois e compostos sulfidrílicos, os quais apresentam propriedades flavorizantes responsáveis pelo desenvolvimento de

sabor de origem proteolítica⁹. Os maiores teores de triptofano foram obtidos nas amostras do processamento B, provavelmente pela autólise enzimática ocorrida nos demais queijos em que foi adicionada a fastuosaina. Neste processamento, utilizou-se a enzima com menor atividade enzimática, mostrando que esta sofreu menor autólise que as dos demais queijos, permanecendo ativa até o final do período de maturação e proporcionando maior liberação de triptofano, aminoácido obtido a partir de degradação proteica. A partir do 15º dia de maturação, o teor de triptofano foi inversamente proporcional à atividade enzimática. No 60º dia, a amostra de queijo do processamento D, em que se utilizou a enzima com maior atividade enzimática inicial, apresentou menor poder de degradação proteica que a do queijo A, em que não se utilizou enzima, resultando em um menor teor de triptofano. Os resultados são semelhantes aos obtidos por Silva³⁷, que mostrou que os maiores teores de triptofano foram obtidos nos processamentos em que se utilizou a enzima Neutrase[®] em queijo Prato e que estes teores também foram inversamente proporcionais à atividade enzimática.

Tabela 2. Evolução dos índices de extensão e profundidade da maturação, acidez e dos aminoácidos tirosina e triptofano, durante a maturação dos queijos Prato com teor reduzido de gordura

Parâmetro	Processamento	Dia de Maturação				
		1	15	30	45	60
IEM (%)	A	3,56 ± 0,10	7,59 ± 0,05	9,17 ± 0,29	11,99 ± 0,22	13,59 ± 0,18
	B	3,84 ± 0,06	10,20 ± 0,20	13,10 ± 0,25	15,26 ± 0,22	17,94 ± 0,12
	C	3,81 ± 0,10	7,96 ± 0,16	11,59 ± 0,12	14,05 ± 0,17	15,45 ± 0,48
	D	3,64 ± 0,07	7,74 ± 0,13	9,73 ± 0,21	12,81 ± 0,14	14,94 ± 0,29
IPM (%)	A	2,42 ± 0,14	5,11 ± 0,05	6,85 ± 0,10	9,15 ± 0,11	14,92 ± 0,18
	B	2,06 ± 0,01	6,27 ± 0,09	8,02 ± 0,04	10,13 ± 0,28	12,11 ± 0,17
	C	2,13 ± 0,02	5,64 ± 0,08	7,97 ± 0,08	9,69 ± 0,27	11,49 ± 0,44
	D	2,18 ± 0,09	4,99 ± 0,25	7,16 ± 0,38	9,26 ± 0,14	10,61 ± 0,22
Acidez (%)	A	0,60 ± 0,01	0,97 ± 0,01	1,17 ± 0,01	1,37 ± 0,01	0,88 ± 0,02
	B	0,58 ± 0,00	0,78 ± 0,00	0,89 ± 0,01	1,29 ± 0,11	1,47 ± 0,24
	C	0,49 ± 0,01	0,79 ± 0,01	1,05 ± 0,19	1,28 ± 0,01	1,76 ± 0,01
	D	0,77 ± 0,18	0,78 ± 0,00	0,96 ± 0,19	1,27 ± 0,00	1,33 ± 0,00
Tirosina (mg/100 g queijo)	A	226,60 ± 1,76	276,13 ± 1,37	260,81 ± 0,86	273,17 ± 0,61	349,99 ± 0,19
	B	238,34 ± 1,64	245,92 ± 0,69	313,51 ± 0,00	330,67 ± 0,00	357,02 ± 0,00
	C	261,35 ± 0,00	296,57 ± 0,00	300,86 ± 0,00	341,70 ± 0,00	396,78 ± 0,00
	D	228,07 ± 0,43	262,92 ± 0,00	264,23 ± 0,00	253,84 ± 0,32	274,35 ± 0,00
Triptofano (mg/100 g queijo)	A	34,83 ± 0,03	27,21 ± 0,36	64,56 ± 0,02	50,20 ± 0,18	72,53 ± 0,17
	B	57,39 ± 0,32	65,39 ± 0,18	82,71 ± 0,00	86,87 ± 0,00	105,36 ± 0,00
	C	46,11 ± 0,18	60,29 ± 0,00	70,75 ± 0,00	73,20 ± 0,00	71,89 ± 0,00
	D	49,92 ± 0,03	40,51 ± 0,31	67,38 ± 0,53	63,09 ± 0,47	65,96 ± 0,01

IEM: índice de extensão da maturação; IPM: índice de profundidade da maturação. Processamentos (A): sem adição de enzima; (B): adição de fastuosaina com atividade total de 607.500 U; (C): adição de fastuosaina com atividade total de 1.395.000 U; (D): adição de fastuosaina com atividade total de 1.822.500 U.

Capacidade de derretimento e cor

Observaram-se muitos valores de capacidade de derretimento negativos, mostrando que os queijos ao invés de derreter, encolheram, conforme observado na Tabela 3. Queijos com baixo teor de gordura desidratam rapidamente, criando uma camada seca que promove a queima do material e uma redução no seu derretimento. A capacidade de derretimento de queijos está relacionada ao rompimento da matriz proteica durante o aquecimento. Queijos com baixo teor de gordura apresentam grandes glóbulos de lipídeos espalhados separadamente em uma densa rede de caseína, o que não é suficiente para romper a matriz proteica ao aquecer. Não houve diferença estatisticamente significativa ($P > 0,05$) na capacidade de derretimento em diferentes temperaturas (107°C/7 min e 130°C/10 min) para queijos de um mesmo processamento, em um mesmo período de maturação. Porém, quando se compararam queijos de

diferentes processamentos (A, B, C e D), considerando-se os mesmos períodos de maturação e temperaturas de derretimento, o queijo correspondente ao processamento B, com baixo teor de gordura no extrato seco e alto teor de extrato seco total, apresentou maior capacidade de derretimento na condição 130°C/10 min., no 1º dia de maturação ($P = 0,026$). Em queijos com baixo teor de gordura há insuficiente difusão da gordura na superfície a 38°C, temperatura em que a gordura começa a tornar-se líquida. Em altas temperaturas, a superfície desidrata-se rapidamente, ocorrendo formação de bolhas, resultando em uma aparência atípica. Baixo teor de umidade e altos teores de sal são fatores que influenciam negativamente o derretimento de queijos com baixo teor de gordura. O nível ótimo de sal deve estar entre 1,5 e 1,7%; valores maiores ou menores afetam as propriedades de derretimento, conforme se observou no presente trabalho, cujos teores de sal variaram de 0,47 a 1,06%³⁸.

Tabela 3. Capacidade de derretimento das amostras dos queijos nos diferentes processamentos, em diferentes temperaturas

Processamento	Condições Analíticas	Dias				
		1	15	30	45	60
A	107°C/7min (%)	-30,28 ± 28,75	-13,66 ± 12,53	-16,27 ± 8,36	8,49 ± 36,90	0,00 ± 0,00
	130°C/10 min (%)	66,62 ± 32,03	-89,46 ± 26,70	0,25 ± 43,70	60,76 ± 57,86	-8,36 ± 14,48
B	107°C/7min (%)	-43,33 ± 101,25	-64,33 ± 3,06	-128,00 ± 61,00	-63,67 ± 62,07	-106,33 ± 37,53
	130°C/10 min (%)	275,00 ± 304,32	160,33 ± 173,78	240,00 ± 420,74	364,67 ± 280,52	-0,67 ± 68,00
C	107°C/7min (%)	-88,67 ± 37,58	-101,67 ± 91,39	0,67 ± 113,81	-66,33 ± 66,00	-42,67 ± 36,96
	130°C/10 min (%)	-64,33 ± 64,00	-18,33 ± 126,98	21,67 ± 97,33	0,67 ± 64,00	0,00 ± 110,89
D	107°C/7min (%)	-108,55 ± 27,93	-28,00 ± 17,89	-20,90 ± 60,15	-40,41 ± 16,12	-5,59 ± 4,85
	130°C/10 min (%)	-144,07 ± 27,83	-54,45 ± 52,35	-75,29 ± 47,98	-11,13 ± 41,86	8,35 ± 48,00

Processamentos (A): sem adição de enzima; (B): adição de fastuosáina com atividade total de 607.500 U.; (C): adição de fastuosáina com atividade total de 1.395.000 U.; (D): adição de fastuosáina com atividade total de 1.822.500 U

Houve diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$) entre os parâmetros de cor dos diferentes processamentos, considerando-se os mesmos períodos de maturação (Tabela 4). Aos 30 dias de maturação, os valores de L mostraram a maior luminosidade na amostra de queijo do processamento A, em relação aos demais. Durante a maturação, os valores dos parâmetros L, a^* e b^* , para queijos de um mesmo processamento, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas. Buffa et al¹⁰ observaram

redução do valor de L, aumento do valor de b^* e não observaram uma tendência definida de aumento ou redução no valor de a^* durante a maturação de queijos fabricados com leite cru, pasteurizado ou tratado a alta pressão. Segundo Ginzinger et al³⁹, o índice de “amarelamento” dos queijos, correlacionado ao valor de b^* , aumenta com o tempo. Os resultados observados nas amostras não seguem a tendência descrita por estes autores. Este fato pode ser explicado pela provável distribuição não homogênea do

corante urucum ou da enzima fastuosáina nos queijos. Quando a gordura é retirada do queijo, o número de centros que permitem que a luz se espalhe diminui, fazendo com que queijos com baixo teor de gordura fiquem menos opacos. Esta mudança na opacidade destes queijos também pode ser relacionada ao grau de agregação interna da matriz proteica do queijo, sendo que quanto mais hidratada a matriz, menor o número de centros que permitem que a luz se espalhe.

Tabela 4. Caracterização dos parâmetros de cor das amostras dos queijos tradicionais e modificados aos 30 e 60 dias de maturação. Valor P referente ao teste Kruskal-Wallis

Parâmetro	Dia	Processamento	X ± S	Md	CV	Valor P
L	30	A	82,52 ± 0,88	82,42	1,07	0,027
		B	81,02 ± 0,82	81,44	1,01	
		C	79,64 ± 0,34	79,52	0,42	
		D	80,28 ± 0,41	80,40	0,51	
L	60	A	80,56 ± 0,09	80,55	0,11	0,029
		B	83,01 ± 0,54	83,12	0,65	
		C	80,37 ± 0,37	80,16	0,46	
		D	81,76 ± 0,99	81,33	1,21	
a*	30	A	11,30 ± 0,32	11,29	2,83	0,019
		B	8,56 ± 0,08	8,59	0,93	
		C	10,93 ± 0,06	10,91	0,57	
		D	9,99 ± 0,13	10,03	1,31	
a*	60	A	10,74 ± 0,01	10,74	0,09	0,024
		B	9,67 ± 0,17	9,74	1,72	
		C	11,70 ± 0,27	11,83	2,30	
		D	9,73 ± 0,45	9,97	4,63	
b*	30	A	38,52 ± 0,65	38,43	1,69	0,015
		B	32,58 ± 0,23	32,45	0,71	
		C	34,53 ± 0,15	34,46	0,42	
		D	33,37 ± 0,30	33,29	0,89	
b*	60	A	32,49 ± 0,39	32,49	1,19	0,019
		B	34,00 ± 0,52	34,23	1,54	
		C	35,25 ± 0,70	35,46	1,97	
		D	31,38 ± 1,31	32,00	4,17	

Processamentos (A): sem adição de enzima; (B): adição de fastuosáina com atividade total de 607.500 U.; (C): adição de fastuosáina com atividade total de 1.395.000 U.; (D): adição de fastuosáina com atividade total de 1.822.500 U. X ± S: média ± desvio padrão amostral; Md: mediana; CV: coeficiente de variação

Seleção do painel, treinamento dos provadores e avaliação sensorial

Foram avaliados 33 candidatos em 4 sessões, contendo 3 testes de diferença cada uma, totalizando 12 julgamentos totais. Para uma significância de 0,05%, seria necessário que cada candidato tivesse 8 julgamentos corretos para ser selecionado. Foram realizadas seis sessões nas quais foram selecionados 6 provadores.

As análises sensoriais dos queijos controle e modificados estão ilustradas por meio do modelo Etana na Figura 1. Considerando-se um mesmo parâmetro sensorial, houve diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$) entre os queijos dos diferentes processamentos, nos mesmos períodos de maturação, apenas para os parâmetros firmeza (aos 30 dias de maturação), friabilidade e solubilidade (aos 60 dias de maturação). Katsuda et al¹⁶ observaram que queijos Prato, com teor normal e com baixo teor de gordura, não apresentaram diferença de aroma a partir do 15º dia de maturação. A maturação dos queijos envolve reações microbiológicas e químicas, em que as proteínas complexas do leite são degradadas em pequenos peptídeos e aminoácidos livres, e ésteres de ácidos graxos são convertidos em ácidos graxos livres. Esta mistura dos compostos resultantes da degradação proteica é responsável pelo sabor, aroma e textura do queijo⁴⁰.

O parâmetro ácido aumentou durante o período de maturação na amostra do queijo do processamento B, o que pode ser explicado pela conversão da lactose em ácido láctico, pela cultura láctica. O parâmetro elasticidade pode ser relacionado à proteólise, sendo que a amostra de queijo do processamento B foi a que apresentou maior extensão da proteólise durante todo o período de maturação e maior elasticidade aos 60 dias de maturação. Katsuda et al¹⁶ observaram diferença na elasticidade em queijo Prato a partir do 30º dia de maturação. A alteração da firmeza durante a maturação é resultante da proteólise que promove a degradação das proteínas, deixando os queijos menos firmes. Estas características foram observadas no queijo B, que apresentou aumento de odor (de 2,00 para 3,33), adesividade (de 1,83 para 3,00) e redução de firmeza (de 2,83 para 1,67), e no queijo D, que apresentou aumento de aroma (de 2,20 para 3,42) e redução de firmeza (de 4,10 para 3,00), considerando-se o período de maturação de 60 dias. A maior firmeza foi observada na amostra do queijo D (4,10), a qual, durante o período de maturação analisado, apresentou os maiores teores de extrato seco total e os menores índices de extensão da maturação. Aos 30 dias de maturação, os valores dos parâmetros sensoriais friabilidade, adesividade, solubilidade e umidade das amostras do queijo do processamento D foram relacionados ao teor de umidade da amostra, a qual apresentou o maior teor de extrato seco total (Tabela 2) na análise físico-química, neste período de maturação. A adesividade das amostras dos queijos A, C e D são semelhantes aos de Katsuda et al¹⁶, que não observaram diferença de adesividade no queijo Prato com baixo teor de gordura durante a maturação.

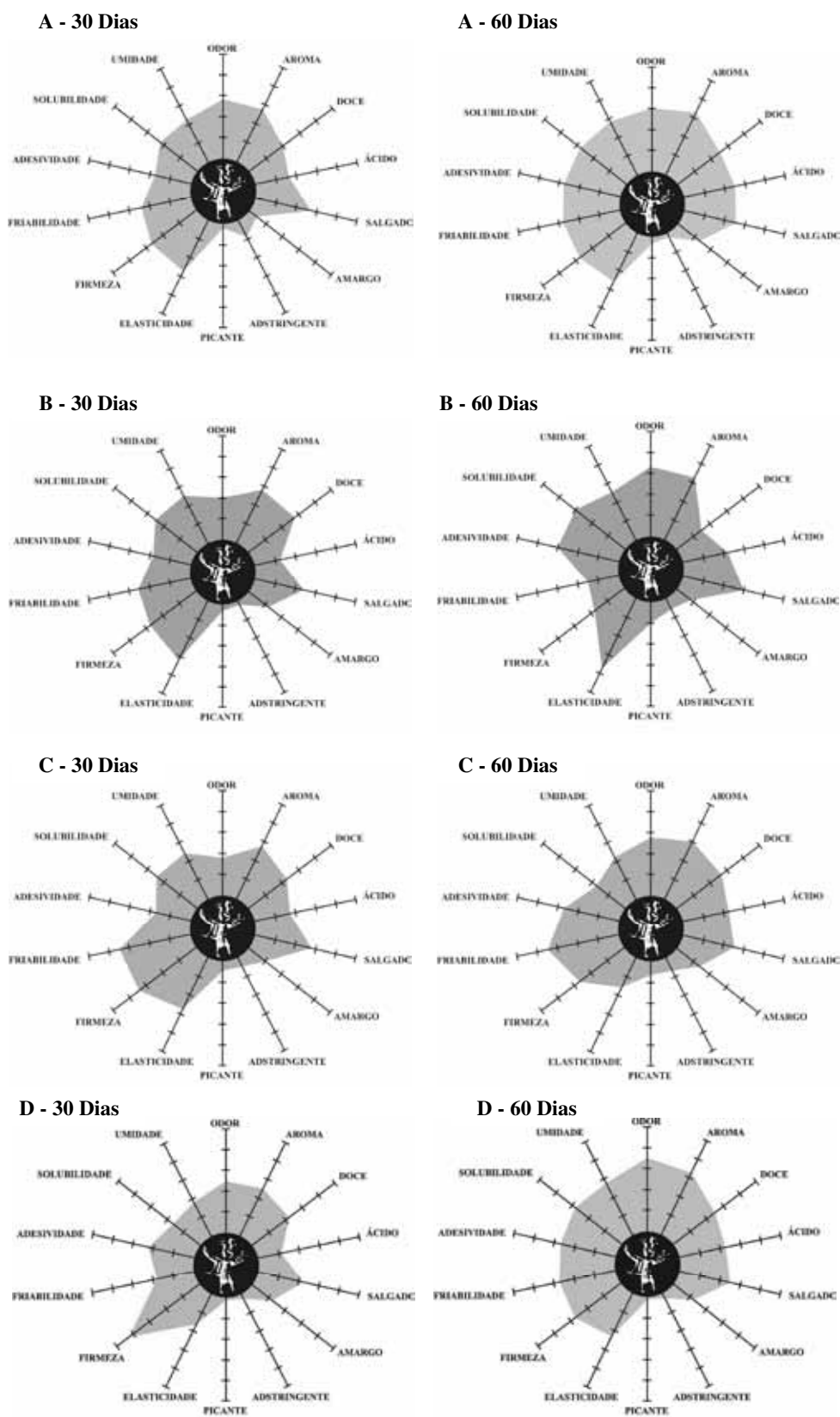


Figura 1. Avaliação sensorial, conforme o Modelo Etana, das amostras dos queijos A, B, C e D aos 30 e 60 dias de maturação

A formação de sabor em queijo é um processo complexo e resultante de um equilíbrio entre os compostos originários do metabolismo da lactose, lipídeos e proteínas. O amargor em queijos ocorre devido ao acúmulo de peptídeos amargos em altas concentrações, aminoácidos, amidas, cetonas de cadeias longas e alguns monoglicerídeos¹³. Este desenvolvimento de amargor é um defeito comum em queijos com baixo teor de gordura devido ao baixo conteúdo de sal e alta umidade. Segundo Silva³⁷, o uso de enzimas proteolíticas em queijos pode provocar desenvolvimento de gosto amargo. Porém, neste experimento não se observou diferenças estatisticamente significativas ($P>0,05$) entre as amostras de queijos controle e modificados em relação ao parâmetro amargor.

CONCLUSÃO

A adição da enzima fastuosáina com diferentes atividades enzimáticas não influenciou os parâmetros de cor dos queijos controle (sem adição da enzima) e modificados (com adição da enzima). Os queijos com teor reduzido de gordura adicionados de enzimas proteolíticas não apresentaram amargor, defeito comum em queijos. A amostra do queijo modificado B, com elevados índices de proteólise, apresentou menor firmeza que os queijos obtidos nos demais processamentos, evidenciando maior degradação proteica para as amostras submetidas a este processamento. Os resultados apontam o uso da enzima proteolítica fastuosáina, extraída do fruto verde do gravatá (*Bromelia fastuosa*) como uma interessante alternativa para melhoria da qualidade dos queijos Prato com teor reduzido de gordura.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. Aprova o Regulamento técnico de identidade e qualidade de produtos lácteos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 07 mar. 1996. Seção 1, p. 3877.
2. Brasil. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria nº 358, de 04 de setembro de 1997. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade do queijo Prato. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 8 set. 1997. Seção 1, p.19690.
3. Associação Brasileira das Indústrias de Queijos. Queijos: mercado total brasileiro, 2008.
4. Pinheiro MVS, Penna ALB. Substitutos de gordura: tipos e aplicações em produtos lácteos. *Aliment Nutr*. 2004;15(2):175-86.
5. Garcia GAC. Efeito do uso de enzimas proteolíticas na maturação de queijo Prato com teor reduzido de gordura [dissertação de mestrado]. São José do Rio Preto (SP): Universidade Estadual Paulista; 2007.
6. Tunick MH, Mackey KL, Shieh JJ, Smith PW, Cooke P, Malin EL. Rheology and microstructure of low-fat mozzarella cheese. *Int Dairy J*. 1993;3(7):649-62.
7. Bogenrief DD, Olson NF. Hydrolysis of β -casein increases Cheddar cheese meltability. *Milchwissenschaft*. 1995;50(12):678-82.
8. Dave RI, McMahon DJ, Oberg CJ, Broadbent JR. Influence of coagulant level on proteolysis and functionality of mozzarella cheeses made using direct acidification. *J Dairy Sci*. 2003;86(1):114-26.
9. Perry KSP. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. *Quim Nova*. 2004;27(2):293-300.
10. Buffa MN, Trujillo AJ, Pavia M, Guamis B. Changes in textural, microstructural, and colour characteristics during ripening of cheese made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goat's milk. *Int Dairy J*. 2001;11(11):927-34.
11. Bosset JO, Sieber R, Gallmann PU. Light transmittance: influence on the shelf life of milk and milk products. *Bull Int Dairy Federat*. 1995;300:19-39.
12. Rohm H, Jaros D. Colour of hard cheese 1. Description of colour properties and effect of maturation. *Zeitschrift fur Lebensmittel Untersuchung Forschung*. 1996;203(3):241-4.
13. McSweeney PLH. The flavour of milk and dairy products: III. Cheese: taste. *Int J Dairy Technol*. 1997;50(4):123-8.
14. Mistry VV. Low fat cheese technology. *Int Dairy J*. 2001;11(4):413-22.
15. Silva CRB, Nabuco AC, Moretti BR, Penna ALB. Efeito da adição de *Streptococcus thermophilus* como cultura adjunta na maturação e caracterização físico-química e sensorial de queijo Prato. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2006;65(3):199-203.
16. 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 Lat Cândido Tostes*. 1999;54(309):128-33.
17. Robinson RK, Wilbey RA. Fabricación de queso. 2ª ed. Zaragoza: Acribia, S.A.;1998.
18. Cabral H. Isolamento e caracterização de uma cisteino-peptidase de frutos de *Bromelia fastuosa* (gravatá) [dissertação de mestrado]. São José do Rio Preto (SP): Universidade Estadual Paulista; 2001.
19. Sarath G, De La Motte RS, Wagner FW. Protease assay methods. In: Beynon RJ, Bond JS *Proteolytic enzymes a practical approach*. New York: Oxford University Press;1996.p.25-55.
20. Baeza G, Correa D, Salas C. Proteolytic enzymes in *Carica candamarcensis*. *J Sci Food Agric*. 1990;51(1):1-9.
21. Garcia GAC, Moretti BR, Gomes RG, Casarotti SN, Penna ALB. Composição de macronutrientes e evolução da maturação de queijo Prato com teor reduzido de gordura adicionado de enzima proteolítica fastuosáina. *Braz J Food Technol*. 2009;VII BMCFB:69-77.
22. Case RA, Bradley Jr RL, Williams RR. Chemical and physical methods. In: American Public Health Association. *Standard methods for the examination of dairy products*. 15ª ed. Washington, 1985.p.327-404.

23. Instituto Adolfo Lutz (São Paulo, Brasil). Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análises de alimentos. 3ª ed. São Paulo: Governo do Estado de São Paulo; 1985.
24. Cunniff, P. Official methods of analysis of AOAC International. 16ª ed. Gaithersburg: AOAC International; 1997. v. 2. p.1-75.
25. Van Dender AGF, Sevillano LA, Yotsuyanagi K, Jardim DCP. Determinação da atividade de água de queijos usando crioscopia eletrônica. *Rev Inst Lat Cândido Tostes*. 1995;50(3):18-26.
26. Serres L, Amariglio S, Petransxiene D. Contrôle de la qualité des produits laitiers. Ministère de l'Agriculture. Direction des Services Vétérinaires. Tome I. Analyse Physique et Chimique (Chimie VII – 6), 1973.
27. Wolfschoon-Pombo AF. Índices de proteólise em alguns queijos brasileiros. *Rev Bol Leite*. 1983;55(661):1-8.
28. Vakaleris DG, Price WV. A rapid spectrophotometric method for measuring cheese ripening. *J Dairy Sci*. 1959; 42(2):264-76.
29. Kosikowski FV, Mistry VV. Cheese and fermented milk foods. 3ª ed. Ann Arbor: Edwards Bros; 1997.
30. Nonogaki CO, Monteiro VS, Gigante ML. Metodologia para avaliar a capacidade de derretimento de queijo Prato. *Rev Inst Lat Cândido Tostes*. 2004;59(339):230-3.
31. Harte F, Luedecke L, Swanson B, Barbosa-Cánovas GV. Low fat set yogurt made from milk subjected to combinations of high hydrostatic pressure and thermal processing. *J Dairy Sci*. 2003;86(4):1074-82.
32. Augusto MMM, Queiroz MI, Viotto WH. Seleção e treinamento de julgadores para avaliação do gosto amargo em queijo Prato. *Cienc Tecnol Aliment*. 2005;25(4):849-52.
33. Lavanchy P, Bérodiér F, Zannoni M, Noël Y, Adamo C, Squella J, Herrero L. A guide to the sensory evaluation of texture of hard and semi-hard cheeses. Paris: INRA; 1994.
34. Giomo A. Tasting the cheese and sensory analysis. *Bulletin Int Dairy Federation*. 2001;369:30-3.
35. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Regulamento técnico de identidade e qualidade do leite pasteurizado. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 18 set. 2002. Seção 1, p.13.
36. Silva CRB, Moretti, BR, Nabuco A.C, Garcia GAC, Penna ALB. Maturação de queijo Prato: comparação entre o produto integral e o produzido com teor reduzido de gordura. *Rev Inst Lat Cândido Tostes*. 2005;60(345):235-8.
37. Silva AT. Maturação do queijo tipo Prato: Influência da Adição de enzimas proteolíticas no processo. [dissertação de mestrado]. Campinas (SP): Universidade de Campinas; 1998.
38. Van Hekken DL, Tunick MH, Malin EL, Holsinger VH. Rheology and melt characterization of low fat and full fat Mozzarella cheese made from microfluidized milk. *LWT*. 2007;40 (1):89-98.
39. Ginzinger W, Jaros D, Lavanchy P, Rohm H. Raw milk flora affects composition and quality of Bergkase – 3. Physical and sensory properties, and conclusions. *Lait*. 1999;79(4):411-21.
40. Vianna PCB, Mazal G, Santos MV, Bolini HMA, Gigante ML. Microbial and sensory changes throughout the ripening of prato cheese made from milk with different levels of somatic cells. *J Dairy Sci*. 2008;91:1743-50.