

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE *SLURRY*
SOBRE A MATURAÇÃO DE QUEIJO PRATO**

JORGE GRUHN SCHULZ
Químico Industrial

PROF^a. DR^a. MIRNA LÚCIA GIGANTE
Orientadora

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da
Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Doutor em
Tecnologia de Alimentos.

**CAMPINAS - SP
2003**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

Sch84e Schulz, Jorge Gruhn
Estudo da utilização de slurry para maturação acelerada de
queijo prato / Jorge Gruhn Schulz. – Campinas, SP: [s.n.], 2003.

Orientador: Mirna Lucia Gigante
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Pasta de queijo. 2.Queijo – Maturação. 3.*Proteólise.
4.Avaliação sensorial. I.Gigante, Mirna Lucia. II. Universidade
Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.
III.Título.

BANCA EXAMINADORA

Profª Drª Mirna Lúcia Gigante
Universidade Estadual de Campinas
Orientadora

Profª Drª Eliana Paula Ribeiro
Instituto Mauá de Tecnologia
Membro da Banca

Drª Vera Lúcia Signoreli Baldini
Instituto de Tecnologia de Alimentos
Membro da Banca

Dr. José Leonardo Eto do Valle
Instituto Tecnologia de Alimentos
Membro da Banca

Prof. Dr. Aloísio José Antunes
Universidade Estadual de Campinas
Membro da Banca

Prof. Dr. Salvador Massaguer Roig
Universidade Estadual de Campinas
Suplente

Profª Drª Márcia Rapacci
Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Suplente

Aos meus pais, Alberto e Erna, pelo apoio amoroso.

Aos meus irmãos Gilberto, Roberto e Gislaine, pelo apoio.

À minha esposa Lurdes, pelo incentivo, compreensão e amor.

Aos filhos Victor Hugo e Jéssica Paola, pela compreensão e pelo carinho.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Prof^a Dr^a Mirna Lúcia Gigante, pelo apoio, amizade e incentivo durante todo o trabalho;

Ao Prof. Dr. Salvador Massaguer Roig, pela colaboração e suporte no desenvolvimento do trabalho durante a ausência da Prof^a Dr^a Mirna;

Aos membros da banca examinadora, Professores Doutores Salvador Massaguer Roig, Márcia Rapacci, Eliana Paula Ribeiro, Aloísio José Antunes e os Doutores Vera Lúcia Signoreli Baldini e José Leonardo Eto do Valle, pelas sugestões na conclusão deste trabalho;

À Dra. Teresa Avancini de Almeida pela amizade e pelo grande auxílio nos testes sensoriais;

Ao Prof. Dr. Ademir José Petenate, pela colaboração e participação na parte estatística deste trabalho;

À Dra. Vera Lúcia Baldini do Ital, pela amizade, incentivo e sugestões nas análises laboratoriais deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Carlos Grosso, pela amizade e incentivo durante a realização deste trabalho;

Ao amigo Gustavo Magnusson pela execução das fotografias de eletroforese;

À Bete pelo auxílio na eletroforese;

Aos membros da análise sensorial pelo auxílio na análise dos queijos;

Aos Professores e funcionários do Departamento de Tecnologia de Alimentos pelo apoio, que possibilitou a realização deste trabalho;

Às colegas Marina, Viviane e Darlila pelo grande auxílio nos processamentos da Planta Piloto;

Aos amigos do Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição, Eliana, Chico e Iara, pelo auxílio durante todo o desenvolvimento deste trabalho;

À Christian Hansen pelo fornecimento de culturas lácticas e coalho utilizados neste trabalho;

Aos amigos do Departamento de Tecnologia de Alimentos, Bete, Nelson, Alice, Ana Lourdes, Ana Maria, Adauto, Roberto, Ana Conn, Priscila, Carol, pela amizade e incentivo;

Aos inesquecíveis amigos Júlio e Darlila, Daniel e Fernanda, Carlos e Claudete pelo apoio e incentivo;

À estagiária Andrezza Fernandes pela amizade, incentivo e a grande ajuda nos processamentos e nas análises dos queijos;

Às estudantes de intercâmbio entre Unicamp e outras Universidades, Suzi (Alemanha), Saša (Eslovênia) e Luzmy (México), pela amizade e auxílio durante os processamentos;

Aos colegas da Pós-Graduação, Márcia, Margarida, Zé Ricardo, Paulo Tavares, Rodrigo, Zé Dornellas, Leila, Marina, Viviane, Raquel, Salles, Cristiane, Rosane, Flávio, Cris, Olim e Macedo, pela amizade e incentivo;

Às primeiras e inesquecíveis amizades em Campinas, Carlos e Vera, Felipe e Vítor, Pedro e Alda, Íris, Dalva e Keila, Paulo e Heloísa, e ainda, os amigos Ariel e Carlos da Sociedade Espírita Maria Rosa, pela ajuda e pelo incentivo durante todo o desenvolvimento deste trabalho;

Aos tios Valter e Nilda, Carlos e Herta pelo apoio e incentivo durante o desenvolvimento deste trabalho;

À empresa Bremil e em especial aos Diretores Homero, Alaideti e André, pelo incentivo e auxílio durante a realização deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Luiz Carlos Gutkoski, pelo incentivo e pela substituição nas aulas da Universidade de Passo Fundo;

Aos colegas do Centro de Pesquisa em Alimentação-Cepa, pelo constante incentivo durante todo o desenvolvimento deste trabalho;

À Reitoria da Universidade de Passo Fundo pela liberação para fazer o doutoramento;

À proteção Divina, constante em toda a minha vida;

Enfim, a todos aqueles que, de alguma forma, colaboraram para a realização deste trabalho.

Índice Geral

ÍNDICE.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xiii
RESUMO.....	xv
SUMMARY.....	xvii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1. Características do queijo Prato.....	5
3.2. Maturação do queijo.....	9
3.3. Aceleração da maturação.....	14
3.4. Aceleração da maturação através da adição de <i>slurry</i>	18
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
4.1. Materiais.....	30
4.1.1. Equipamentos.....	30
4.1.2. Matérias-primas.....	30
4.1.2.1. Leite.....	30
4.1.2.2. Coadjuvantes tecnológicos.....	30
4.2. Métodos.....	31
4.2.1. Fabricação do coágulo fermentado salgado.....	31
4.2.2. Fabricação do <i>slurry</i>	34
4.2.3. Fabricação de queijo Prato.....	34
4.2.4. Procedimento de amostragem.....	37
4.2.5. Determinações analíticas do leite.....	37
4.2.6. Determinações analíticas do <i>slurry</i>	38
4.2.7. Determinações analíticas dos queijos.....	38
4.2.8. Análises físico-químicas.....	39

4.2.9. Avaliação do perfil eletroforético.....	40
4.2.10. Avaliação do perfil de textura.....	41
4.2.11. Análise sensorial dos queijos.....	42
4.2.12. Delineamento experimental.....	46
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	47
5.1. Caracterização do <i>slurry</i> de queijo Prato.....	47
5.2. Caracterização do queijo Prato.....	54
5.3. Efeito da adição do <i>slurry</i> no desenvolvimento da proteólise dos queijos.....	57
5.4. Avaliação do perfil eletroforético das proteínas.....	64
5.5. Efeito da adição de <i>slurry</i> no perfil de textura dos queijos.....	68
5.6. Avaliação sensorial dos queijos.....	74
6. CONCLUSÕES.....	88
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1. Principais métodos utilizados para acelerar a maturação de queijos.	15
Tabela 5.1. Composição média e desvios padrões (n=3) do leite utilizado para fabricação do coágulo de queijo Prato fermentado salgado utilizado na fabricação do <i>slurry</i>	47
Tabela 5.2. Composição do <i>slurry</i> obtido nos três processamentos no dia da fabricação (tempo zero).....	48
Tabela 5.3. Característica do <i>slurry</i> durante o período de maturação.....	49
Tabela 5.4. Composição média dos queijos obtidos nos três processamentos....	54
Tabela 5.5. Índice médio de extensão de maturação (IEM) dos queijos obtidos nos três processamentos.....	57
Tabela 5.6. Índice médio de profundidade de maturação (IPM) dos queijos obtidos nos três processamentos.....	58
Tabela 5.7. Teor de umidade (%) e de sal na umidade (%) (n=3) dos queijos controle e obtidos com adição de <i>slurry</i> ao leite ou ao coágulo após 1 e 40 dias de maturação.....	72
Tabela 5.8. Médias dos resultados obtidos na avaliação da aparência, do sabor e do sabor residual dos queijos após 21, 28 e 40 dias de maturação	75
Tabela 5.9. Resultado do teste de preferência para os queijos com 21, 28 e 40 dias de maturação.....	86

LISTA DE FIGURAS

Figura 4.1.	Esquema geral de desenvolvimento do trabalho (realizado em triplicata).....	32
Figura 4.2.	Fluxograma do processo de fabricação do coágulo de queijo Prato fermentado salgado.....	33
Figura 4.3.	Fluxograma de fabricação do queijo Prato controle e com adição de <i>slurry</i> ao leite ou ao coágulo.....	36
Figura 4.4.	Ficha utilizada para avaliação de aceitabilidade do queijo Prato..	44
Figura 5.1.	Efeito do tempo de maturação do <i>slurry</i> sobre o pH.....	52
Figura 5.2.	Efeito do tempo de maturação do <i>slurry</i> sobre o NS a pH 4,6.....	52
Figura 5.3.	Efeito do tempo de maturação do <i>slurry</i> sobre o teor de NS em TCA 12%.....	53
Figura 5.4.	Efeito do tempo de maturação do <i>slurry</i> na fração nitrogenada solúvel em pH 4,6, determinada por reação colorimétrica com ninidrina-cádmio (mg leucina/g queijo).....	53
Figura 5.5.	Desenvolvimento do pH dos queijos durante o período de maturação.....	56
Figura 5.6.	Desenvolvimento da acidez dos queijos durante o período de maturação.....	56
Figura 5.7.	Efeito do tempo de maturação sobre o índice de extensão de maturação.....	59
Figura 5.8.	Efeito do tempo de maturação sobre o índice de profundidade de maturação.....	59
Figura 5.9.	Efeito de maturação sobre a formação de tirosina solúvel.....	62
Figura 5.10.	Efeito de maturação sobre a formação de triptofano solúvel.....	63

Figura 5.11.	Efeito do tempo de maturação sobre a fração nitrogenada solúvel em pH 4,6 determinada por reação colorimétrica com ninidrina-cádmio (mg leucina/g queijo).....	63
Figura 5.12.	Perfil eletroforético dos queijos obtidos com adição de <i>slurry</i> ao leite ou ao coágulo e dos queijos controle durante o período de maturação.....	66
Figura 5.13.	Firmeza média (n=3) dos queijos durante o período de maturação.....	69
Figura 5.14.	Elasticidade média (n=3) dos queijos durante o período de maturação.....	70
Figura 5.15.	Coesividade média (n=3) dos queijos durante o período de maturação.....	70
Figura 5.16.	Aparência dos queijos durante a maturação: (a) com 21 dias; (b) com 28 dias e (c) com 40 dias de maturação.....	76
Figura 5.17.	Sabor dos queijos durante a maturação: (a) com 21 dias; (b) com 28 dias e (c) com 40 dias de maturação.....	77
Figura 5.18.	Sabor residual dos queijos durante a maturação: (a) com 21 dias (b) com 28 dias e (c) com 40 dias de maturação.....	78
Figura 5.19.	Firmeza dos queijos durante a maturação: (a) com 21 dias; (b) com 28 dias e (c) com 40 dias de maturação.....	81
Figura 5.20.	Creiosidade dos queijos durante a maturação: (a) com 21 dias; (b) 28 dias e (c) com 40 dias.....	82
Figura 5.21.	Acidez dos queijos durante a maturação: (a) com 21 dias; (b) com 28 dias e (c) com 40 dias de maturação.....	83

RESUMO

Embora segundo a legislação brasileira o queijo Prato deva passar por um processo de maturação de no mínimo 25 dias, esse período nem sempre é observado, tanto por questões econômicas como pela necessidade de atender a demanda do mercado pelo produto. As transformações que ocorrem durante a maturação são responsáveis pela melhoria de sabor, odor e textura que caracterizam a individualidade de cada variedade de queijo. Entretanto, elas podem ser lentas e consumir vários meses dependendo da variedade do queijo, o que torna relevante estudos que visem a aceleração do processo de maturação de queijos. O objetivo desse trabalho foi estudar o processamento e a caracterização de *slurry* de queijo Prato e avaliar o efeito da sua adição no processo de maturação do queijo. O *slurry* foi fabricado com coágulo de queijo Prato, maturado a 30°C por 7 dias e posteriormente adicionado no processo de fabricação do queijo como uma fonte de enzimas e microorganismos com a finalidade de acelerar o processo de maturação. A cada dia de processamento foram fabricados três queijos: (1) queijo Prato controle, fabricado pelo método tradicional para queijo Prato; (2) queijo Prato fabricado com a adição de *slurry* ao leite, juntamente com o fermento e (3) queijo Prato fabricado com a adição de *slurry* ao coágulo dessorado, antes da pré-prensagem. Imediatamente após a fabricação os *slurries* foram caracterizados quanto a composição centesimal. Após 0, 3, 5 e 7 dias de maturação foram avaliados quanto ao pH, acidez, sal, nitrogênio total, NS-pH 4,6, NS-TCA 12% e grupos amínicos livres. Após a fabricação os queijos foram avaliados quanto a composição centesimal. Durante a maturação, após 1, 7, 14, 21, 28 e 40 dias de fabricação, os queijos foram avaliados quanto ao pH, acidez, nitrogênio total, NS-pH 4,6, NS-TCA 12% e teores de tirosina, triptofano e grupos amínicos livres. Além disso, durante todo o período de maturação os queijos foram avaliados quanto ao perfil eletroforético e ao perfil de textura. Após 21, 28 e 40 dias de maturação foram também avaliados sensorialmente quanto a aceitabilidade. O delineamento estatístico adotado foi o split-plot em bloco. O efeito dos tratamentos e do tempo de maturação sobre as características estudadas foi avaliado por análise de variância de acordo com esse delineamento. Durante o período de maturação do

slurry, a fração nitrogenada solúvel aumentou significativamente, indicando intensa atividade proteolítica. O nitrogênio solúvel a pH 4,6, aumentou, em média, aproximadamente 94% e o nitrogênio solúvel em TCA 12%, aumentou aproximadamente 150%. Após 7 dias de maturação a 30°C, os *slurries* apresentaram sabor característico de queijo Prato, indicando que este produto poderia ser utilizado como uma fonte de enzimas e microrganismos para melhorar o flavor e acelerar a maturação do queijo. Os queijos controle e obtidos com adição de *slurry* ao leite ou ao coágulo, apresentaram composição química semelhante. O tempo de maturação afetou significativamente o pH dos queijos, que se manteve, entretanto, em média dentro da faixa esperado para queijo Prato (5,2 a 5,4), além disso, os tratamentos não afetaram significativamente o pH dos queijos. Os tratamentos, ou seja, a adição de *slurry* ao leite ou ao coágulo não afetou significativamente o índice de extensão e profundidade de maturação. Os resultados indicaram uma tendência que sugere maior proteólise quando o *slurry* foi adicionado, quer seja ao leite ou ao coágulo. Os tratamentos afetaram significativamente o teor de tirosina e triptofano e não afetaram significativamente o teor de grupos amínicos livres nos queijos. Durante a maturação observou-se um contínuo aumento no fragmento intermediário da caseína, α_{s1} -I-CN, e a concomitante redução da intensidade das bandas de α_{s1} -CN, indicando sua hidrólise para todos os queijos. A firmeza dos queijos foi significativamente afetada pela interação entre os tratamentos e o tempo de maturação. A firmeza diminuiu ao longo do tempo de maturação para os queijos controle e obtido com adição de *slurry* ao coágulo e aumentou ligeiramente para o queijo obtido com adição de *slurry* ao leite. A elasticidade dos queijos diminuiu significativamente durante o período de maturação e não foi significativamente afetada pelos tratamentos. A coesividade dos queijos diminuiu significativamente durante o período de maturação. A coesividade diminuiu mais rápido e atingiu valores menores para o queijo obtido com adição de *slurry* ao leite. A avaliação sensorial indicou que após 21 dias de maturação os queijos controle e obtidos com adição de *slurry* ao coágulo foram os preferidos pelos provadores. Após 40 dias de maturação o queijo controle foi o mais preferido.

SUMMARY

Although, according to the Brazilian legislation, the Prato cheese ripening must be of at least 25 days, this period is not always observed because of both economic factors and the necessity of answering to the market demand for the product. The transformations that occur during the ripening process are responsible for the taste, odor and texture improvement, which characterize the uniqueness of each cheese variety. However, they can be slow and take several months depending on the cheese variety, what makes the studies that focus on the acceleration of cheese ripening very important. The objective of this work was to study the processing and characterization of Prato cheese slurry and evaluate the effect of its addition during the cheese ripening process. Prato cheese curd was utilized in the manufacture of the slurry, which was matured at 30°C for 7 days. This slurry was later added in the cheese manufacture as a source of enzymes and microorganisms, which aimed the acceleration of the ripening. At each processing day 3 kinds of cheese were manufactured: (1) Prato cheese control, manufactured through the traditional Prato cheese method (2) Prato cheese manufactured by adding slurry to the milk and (3) Prato cheese manufactured through slurry addition to the curd without whey, before the pre-pressing. Immediately after the manufacture, the slurries were characterized according to their centesimal composition. After 0, 3, 5 and 7 ripening days their pH, acidity, salt, total nitrogen, SN-pH 4.6, SN 12% TCA and free aminic groups were evaluated. After the manufacture, the centesimal composition of the cheeses was evaluated. During the ripening, after 1, 7, 14, 21, 28 and 40 manufacture days, the pH, acidity, total nitrogen, SN-pH 4.6, SN-12% TCA, the contents of tyrosine and tryptophan and free aminic groups of the cheese were evaluated. Besides, during the ripening, the electrophoretic patterns and texture profiles of the cheeses were evaluated. After 21, 28 and 40 ripening days, they were also sensorially evaluated in order to check their acceptability. A split-plot in blocks statistical design was utilized. The effects of the treatments and ripening time on the studied characteristics were evaluated

through variance analysis according to this design. During the slurry maturation, the soluble nitrogen fraction increased significantly, indicating intense proteolysis. The soluble nitrogen at pH 4.6 and at 12% TCA increased, in average, about 94% and 150%, respectively. After 7 maturation days at 30°C, the slurries presented characteristic Prato cheese flavor, indicating that this product could be utilized as a source of enzymes and microorganisms to improve the flavor and accelerate the cheese ripening. The control cheeses and the ones obtained through slurry addition to the milk or to the curd presented a similar chemical composition. The ripening time significantly affected the pH of the cheeses, which were, however, in the average expected for Prato cheese (5.2 and 5.4), besides, the treatments did not affect significantly the pH of the cheeses. The treatments, or the addition of slurry to the milk or to the curd, did not affect significantly the ratios of width and depth of the ripening. The results indicated a tendency that suggests higher proteolysis when the slurry was added, either to the milk or to the curd. The treatments significantly affected the content of free aminic groups in the cheeses. During the ripening it was observed a continuous increase in the intermediate casein fragment, α_{s1} -I-CN, and a concomitant reduction of intensity in the bands of α_{s1} -CN, indicating its hydrolysis for all cheeses. The firmness of the cheeses was significantly affected by the interaction between the treatments and ripening. The firmness decreased through the ripening in the control cheeses and in the ones obtained through addition of slurry to the curd and increased slightly in the cheese obtained through addition of slurry to the milk. The elasticity of the cheeses decreased significantly during the ripening and was not significantly affected by the treatments. The cohesiveness of the cheese significantly decreased during the ripening time, which decreased faster and reached lower values in the cheese obtained through slurry addition to the milk. The sensorial evaluation indicated that after 21 ripening days the control cheese and the cheese obtained through slurry addition to the curd were the preferred ones by the tasters. After 40 ripening days, the control cheese was the favorite one.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o 6º maior produtor mundial de queijos, com uma produção anual de 450 mil toneladas. Atualmente, o queijo Prato é o segundo mais consumido no país, ficando atrás somente do queijo Mussarela. Segundo a ABIQ (Associação Brasileira das Indústrias de Queijo) a produção de queijo Prato sob Inspeção Federal foi de 88.500 toneladas em 2000, o que representa um incremento na produção de 4,1% em relação a 1999 e 30 % em relação aos últimos 5 anos.

Segundo as Portarias nº 146 de 11/03/96 e nº 358 de 04/09/97 do Ministério da Agricultura e Abastecimento, define-se queijo Prato como queijo maturado que se obtém por coagulação do leite por meio de coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não pela ação de bactérias lácticas específicas. Classifica-se como queijo gordo (gordura no extrato seco entre 45,0% e 59,9%) e de média umidade (umidade entre 36,0% e 45,9%). O período mínimo previsto para maturação é de 25 dias. Os aditivos permitidos na fabricação e os requisitos microbiológicos são também especificados nestas Portarias.

A produção da maioria dos queijos envolve duas etapas principais: a fabricação e a maturação. É durante a fabricação que se define basicamente a estrutura e composição dos queijos, porém, é durante a maturação que se observam modificações na textura e sabor, que caracterizam os diferentes tipos de queijos, ocorrendo três eventos principais: glicólise, proteólise e lipólise (FOX & LAW,1991; FOX,1993). Uma significativa parcela dos custos de produção são consumidos durante o período de maturação dos queijos. Desta forma a aceleração desse estágio de fabricação, realizado sem prejuízo do sabor, oferece a possibilidade de economia de custos (LAW, 1978). A aceleração da maturação do queijo pode significar um aumento para a produção em países em desenvolvimento, onde o investimento em estocagem pode ser um fator limitante. Além disso, a produção rápida de sabor de queijo pode também contribuir para

baixar o preço de queijos processados, através da incorporação de queijos pastosos com maturação acelerada na mistura para estes queijos (EL-SODA, 1986).

Os principais métodos para acelerar a maturação de queijos são: a elevação da temperatura de maturação, a adição de enzimas (lactases, proteases e lipases), a adição de fermentos modificados (fermentos tratados por choque térmico e tratados com lisozima), modificações genéticas do fermento e a utilização de *slurry* de queijo (FOX, 1993).

O *slurry* de queijo, é uma pasta semi-sólida maturada, que contém cerca de 40% de sólidos e possui sabor característico do queijo base particular usado no seu preparo. Após o período de maturação, o *slurry* é adicionado ao leite ou à massa coagulada, como fonte de enzimas e microrganismos, durante o processo de fabricação do queijo para acelerar sua maturação. O primeiro trabalho a relatar a produção de *slurry* foi de KRISTOFFERSEN *et al.* (1967).

A utilização de *slurries* de queijo para acelerar a maturação, é ainda pouco conhecida, sendo seu uso dirigido para produção de aromas para aplicação em petiscos, biscoitos, imitação de produtos lácteos, queijos processados e queijo em pó (EL-SODA, 1993; SUTHERLAND, 1975). Entretanto, alguns trabalhos na literatura como de DULLEY (1976), ABDEL BAKY *et al.* (1982), NUÑES *et al.* (1986), RABIE (1989), e CORSETTI *et al.* (1998), indicam o uso de *slurries* para promover a aceleração da maturação dos queijos Cheddar, Ras, Manchego, Azul e Pecorino Umbro, respectivamente.

Apesar da exigência legal de no mínimo 25 dias de maturação, o queijo Prato vem sofrendo uma progressiva descaracterização, principalmente devido a diminuição do período de maturação, que visa tanto diminuir custos como atender

a demanda do mercado (MINUSSI *et al.*, 1995; SILVA, 1998). É comum se encontrar queijo Prato nas gôndolas de supermercados com 5 a 10 dias de fabricação, produtos que certamente não possuem o sabor característico do queijo Prato.

2. OBJETIVOS

Os objetivos do presente trabalho foram:

- Estudar o processamento e a caracterização de *slurry* de queijo Prato visando sua aplicação para acelerar a maturação do queijo;
- Avaliar o efeito da adição de *slurry* no processo de fabricação do queijo Prato sobre a maturação do queijo.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Características do queijo Prato

O leite possui em sua composição aproximadamente 3,3% de proteína, 3,9% de gordura, 4,6% de lactose, 0,7% de sais minerais e 87,3% de água. As principais proteínas do leite são a caseína, lactoglobulina e lactalbumina. As caseínas representam 80% das proteínas lácteas e constituem o grupo de proteínas específicas do leite, que precipitam em pH 4,6. As caseínas são constituídas de quatro frações principais denominadas α_{s1} , α_{s2} , β e κ -caseína. Durante a fabricação de queijos, o principal componente protéico do coágulo é a caseína (CONNER, 1988; WALSTRA *et al.* 1999).

A produção de queijo consiste essencialmente do processo de desidratação seletiva dos componentes do leite, em que caseína e gordura são concentradas cerca de 6 a 12 vezes, dependendo da variedade do queijo (FOX & LAW, 1991). O queijo possui uma estrutura ou matriz de caseína, na qual encontram-se retidos os outros componentes, isto é, a gordura e o soro, no qual estão dispersas as moléculas de lactose, sais e proteínas solúveis (WOLFSCHOON-POMBO & LIMA, 1989; FOX *et al.* 1990).

Segundo WOLFSCHOON POMBO *et al.* (1983), o queijo Prato é um queijo semi-duro, de massa semi-cozida, lavada, de sabor suave e textura macia. Sua crosta é amarelada e fechada e seu interior é amarelo-ouro, podendo apresentar algumas olhaduras pequenas, lisas e arredondadas. Foi introduzido no país por imigrantes Dinamarqueses na década de 20 e a técnica de fabricação deve-se aos Holandeses com o queijo Gouda e aos Dinamarqueses com o queijo Danbo. As variedades de queijo Prato encontradas no Brasil são o Lanche, o Cobocó e o Esférico. Segundo OLIVEIRA (1986) um queijo Prato típico apresenta cerca de 40% de umidade, 1,7% de sal e pH entre 5,3 a 5,5. Segundo FURTADO &

LOURENÇO-NETO (1994), a composição média esperada para o queijo Prato é de 42 a 44% de umidade, 26 a 29% de gordura, pH entre 5,2 e 5,4 e teor de sal de 1,6 a 1,9%. No que diz respeito à porcentagem de proteínas, os teores variam de 18 a 24% (SILVA, 1998; BALDINI, 1998; SPADOTI, 2003; DORNELLAS, 2003).

De forma geral, a fabricação de queijos envolve 5 etapas principais: acidificação, coagulação, sinérese do coágulo ou desidratação, enformagem e salga. Para a fabricação do queijo Prato, o leite deve ser pasteurizado e resfriado a aproximadamente 32°C. Nesta temperatura adiciona-se corante urucum, cloreto de cálcio, fermento láctico mesofílico e coalho na proporção necessária para obtenção do coágulo em 40-45 minutos. Após a coagulação a massa deve ser cortada e inicia-se a agitação, que é seguida de aquecimento lento da massa até atingir 40°C. Após atingir o ponto de massa, faz-se a dessoragem e pré-prensagem da massa, que é posteriormente enformada e prensada. Em seguida os queijos são salgados em salmoura, sendo posteriormente secos, embalados e levados a maturação, que segundo a legislação brasileira deve ser no mínimo de 25 dias (BRASIL, 1996,1997).

A acidificação necessária à fabricação dos queijos pode ser obtida pelo emprego de culturas lácticas. O fermento láctico normalmente utilizado no processamento do queijo Prato, é o do tipo “LD”, composto de *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* e *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*. As culturas homofermentativas mesofílicas, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* e *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, são as principais responsáveis pela acidificação durante a etapa de fabricação do queijo e nos estágios iniciais de maturação. Ao fermentarem a glicose, produzem exclusivamente ácido láctico L (+). O *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, também homofermentativo, produz elevada quantidade de acetoína e diacetil a partir do citrato, compostos que proporcionam o aroma do queijo Prato. O *Leuconostoc mesenteroides* subsp.

cremoris apresenta um metabolismo heterofermentativo, produzindo a partir da glicose os ácidos láctico e acético, etanol e CO₂, que confere ao queijo Prato a formação de olhaduras características. É capaz também de produzir compostos aromáticos (diacetil e acetoína) a partir do metabolismo do citrato (MORENO *et al.*, 2002).

HOSKEN & GAUDERETO (1973) estudaram a influência da cultura láctica na qualidade do queijo Prato, utilizando nove tipos ou misturas de culturas. Segundo os autores, o queijo de melhor qualidade foi obtido com a cultura láctica mista, contendo 0,5% do fermento láctico do Instituto de Laticínios Cândido Tostes-1970 e 0,5% de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. O produto apresentou ótimo aroma, sabor excelente e olhaduras regulares e brilhantes.

BALAIHA & JOSHI (1980) avaliaram o efeito das culturas *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* isoladas ou combinadas entre si ou com *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biov. *diacetylactis* sobre as características de sabor e teores de nitrogênio solúvel durante a maturação de queijo Gouda, que é similar ao queijo Prato. Os resultados demonstraram que o queijo Gouda de melhor sabor, foi obtido quando se utilizou cultura mista de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*. Os queijos preparados com *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biov. *diacetylactis*, receberam a pior nota média quanto ao sabor e presença de sabor amargo.

Durante o processo de fabricação dos queijos, a produção de ácido láctico, associada ao aquecimento e a agitação da mistura coágulo/soro promovem a sinérese do coágulo, condição esta necessária à obtenção do queijo. A produção de ácido também afeta a atividade, a desnaturação e a retenção de coagulante no queijo. Além disso, inibe o crescimento de muitas espécies de bactérias patogênicas e promotoras de defeitos em queijos, afeta a dissolução do fosfato de cálcio coloidal e a firmeza do coágulo (FOX, 1993; THOMAS, 1985)

O queijo Prato, assim como a maioria dos queijos, é fabricado através da coagulação enzimática. Existe uma grande variedade de proteinases que têm sido usadas como coagulantes do leite, como as enzimas microbianas, as extraídas de plantas (ficina, bromelina, papaína) e as proteinases gástricas de vitelos, cabritos e cordeiros. A composição do coalho extraído do abomaso de vitelos é de aproximadamente 20% de pepsina bovina e 80% de quimosina. A maioria dos coalhos utilizados na indústria queijeira brasileira são produzidos a partir do abomaso de bovinos adultos e apresentam, em média, 80% de pepsina bovina e 20% de quimosina (ROSSI *et al*, 1998).

Diversos fatores, tais como a temperatura de pasteurização do leite, temperatura de cozimento da massa, tipo de coagulante e pH da massa, afetam a retenção do coalho durante o processo de fabricação dos queijos (VISSER, 1993) e, conseqüentemente, o processo de maturação. Segundo STADHOUDERS & HUP (1975), na fabricação de queijo Gouda, quando o leite foi pasteurizado à mais alta temperatura (74°C/10seg. versus 82°C/10seg) observou-se uma maior retenção do coalho e o queijo obtido apresentou três vezes mais sabor amargo. Além disso, os autores observaram que o aumento da temperatura de cozimento da massa (33,5 a 38,0°C) implicou na obtenção de queijos com menor número de bactérias lácticas, menor teor residual de coalho e menor intensidade de sabor amargo.

Embora a composição e a estrutura básica dos queijos sejam determinadas pelas operações de fabricação do coágulo, é durante o período de maturação que a individualidade e as características peculiares de cada variedade de queijo são desenvolvidas. Essas características dependem da composição do coágulo e de outros fatores, como por exemplo da microflora estabelecida durante o processo de fabricação (FOX & LAW, 1991).

3.2. Maturação do queijo

A maturação consiste de um período de tempo, durante o qual ocorrem combinações e transformações nos componentes do queijo, resultando em melhoria de sabor, odor, textura, características exteriores e conservação. O desenvolvimento do sabor e aroma dos queijos é complexo e específico para cada variedade e depende do processo de fabricação, do tipo de cultura láctica utilizada, da composição físico-química do queijo e ainda de outras condições, como temperatura, umidade e presença de flora secundária (FOX, 1993).

As modificações químicas que se processam durante a maturação podem ser divididas em reações primárias e secundárias. As primárias são caracterizadas pela degradação contínua dos macrocomponentes do queijo, como as gorduras, proteínas e carboidratos, resultando em acúmulo gradual de compostos mais simples, como ácidos graxos, aminoácidos e ácido láctico, respectivamente. As reações secundárias se desenvolvem a partir da degradação dos compostos primários já mencionados, produzindo compostos que contribuem para o desenvolvimento das características de aroma, sabor, textura e plasticidade dos diferentes tipos de queijos (FOX *et al.*, 2000; WALSTRA *et al.*, 1999). Durante as reações secundárias os aminoácidos dão origem à formação de aminas, ácidos orgânicos, compostos sulfídricos e dióxido de carbono, enquanto os ácidos graxos dão origem à cetonas, lactonas, aldeídos e álcoois secundários. Os ácidos orgânicos e dióxido de carbono podem resultar também da fermentação de carboidratos (EL SODA, 1993).

Os agentes envolvidos na maturação dos queijos são cinco: (1) a renina ou o substituto da renina, por exemplo quimosina, pepsina ou proteinase microbiana; (2) enzimas endógenas do leite, as quais são particularmente importantes na fabricação de queijo com leite cru; (3) bactérias do fermento láctico e suas enzimas, as quais são liberadas após a lise celular; (4) enzimas do fermento

secundário, por exemplo bactérias ácido propiônicas, mofo e leveduras, que são importantes em algumas variedades de queijos; (5) bactérias que não fermentos, isto é, microrganismos que sobreviveram à pasteurização do leite ou que ganharam acesso ao leite pasteurizado ou ao coágulo durante o processo de fabricação (FOX, 1993).

Os três mecanismos principais envolvidos na maturação dos queijos são a glicólise, lipólise e proteólise, sendo que a proteólise, é o mecanismo mais importante para o desenvolvimento de sabor e textura. Ela contribui para o desenvolvimento do sabor e do aroma dos queijos através da formação de peptídeos, aminoácidos, aminas, ácidos, tióis, tioésteres, entre outros (FOX & LAW, 1991; EL SODA, 1993).

No processo de fabricação e maturação do queijo Prato a proteólise é sem dúvida o evento mais importante. Ela pode ser dividida em três fases: antes da fabricação, durante a coagulação enzimática e durante o processo de maturação. A primeira fase deve-se à ação de proteinases naturais do leite (plasmina) e as de origem microbiana, produzidas por bactérias psicrófilas. A segunda fase se dá por ação das enzimas proteolíticas com alta atividade em pH ácido, como a proteólise específica da quimosina sobre a κ -caseína, hidrolisando a ligação entre os aminoácidos 105-106 (fenilalanina e metionina). Essa hidrólise faz com que a fração amino-terminal denominada para- κ -caseína, insolúvel na presença de íons cálcio, passe a fazer parte da estrutura do coágulo e a fração carboxi-terminal, denominada caseína-macropéptido, solúvel na presença de íons cálcio, seja perdida no soro. A terceira fase se dá durante a maturação do queijo, por ação do coalho, enzimas naturais do leite (plasmina), bactérias lácticas e suas enzimas (fermento) e bactérias contaminantes, isto é, bactérias presentes nos queijos por resistirem à pasteurização ou por contaminação durante a fabricação (FOX, 1989; FOX & LAW, 1991).

Imediatamente após a fabricação, o queijo apresenta textura borrachenta, cuja matriz protéica consiste basicamente de moléculas de α_{s1} -caseína ligadas por meio de interações hidrofóbicas às outras caseínas. Durante a maturação, a textura borrachenta do queijo recentemente fabricado é rapidamente convertida em uma textura mais homogênea e macia. Isso se deve a hidrólise da ligação Phe₂₄ e Val₂₅ da α_{s1} -caseína, que leva à formação da α_{s1} -I-caseína. Essa quebra específica é responsável pela diminuição da firmeza que ocorre no estágio inicial da maturação dos queijos (CREAMER & OLSON, 1982). No que diz respeito à maturação do queijo Prato, SILVA (1998) observou que a firmeza do produto diminuiu significativamente durante os primeiros 21 dias de maturação, tanto para o queijo fabricado pelo processo tradicional como para o queijo fabricado com adição de enzima com o objetivo de acelerar o processo de maturação. A diminuição da firmeza de queijo Prato obtido por ultrafiltração após 25 dias de maturação foi também observada por SPADOTI (2003) e DORNELLAS (2003). Por outro lado, BALDINI (1998) observou um aumento da firmeza do queijo Prato durante o período de maturação. Segundo o autor, esse aumento pode ser devido à perda de umidade do produto, que suplantou a redução da firmeza causada pela proteólise.

A utilização da proteólise como índice de maturação é comumente adotada para diversos tipos de queijos e envolve a separação, quantificação e caracterização dos compostos nitrogenados formados durante a maturação (LAW, 1987; FARKYE & FOX, 1990). Os termos extensão e profundidade da maturação são hoje comumente usados para caracterizar o estágio de maturação dos queijos. A extensão de maturação reflete a proporção de moléculas de proteínas que são decompostas, predominantemente em peptídios grandes. A profundidade de maturação refere-se ao grau destes produtos quebrados em componentes menores, entre os quais estão os aminoácidos. A determinação analítica da extensão da maturação, é baseada na precipitação isoelétrica (pH 4,6) da caseína em uma amostra diluída de queijo, seguida pela quantificação do nitrogênio

solúvel pelo método de Kjeldahl. A profundidade é quantificada através do nitrogênio não protéico, solúvel em ácido tricloroacético 12% (WALSTRA *et al.*, 1999).

Em relação ao nitrogênio solúvel a 4,6, observam-se grandes diferenças entre os distintos tipos de queijos ao final da maturação. Assim, o nitrogênio solúvel é aproximadamente de 32% nos queijos macios, 18% no Saint-Paulin, de 30% em queijos de massa cozida e de 45 % nos queijos azuis (DUMAIS *et al.*, 1991). O índice de extensão de maturação do queijo Prato comercial foi estudado por WOLFSCHOON-POMBO (1983), que encontrou valores entre 5,1 a 8,2 após 4 dias e entre 11,9 a 14 após 35 dias de maturação. O índice de profundidade variou de 39,5 a 42,9 após 4 dias e entre 82,6 a 92,4 com 35 dias de maturação. BALDINI (1998) acompanhou a proteólise na maturação do queijo Prato durante 40 dias, obtendo valores para o índice de extensão de maturação que variaram de 6,84 a 13,89, após 1 e 40 dias de maturação, respectivamente, e que estão de acordo com ROGICK (1951), cujos valores para o queijo Prato foram de 4,2 após 2 dias; 7,7 após 15 dias; 14,5 após 30 dias e 23,3 após 90 dias de maturação. COSTA JÚNIOR & PINHEIRO (1998) obteve índice de extensão de maturação para queijo Prato, que variaram de 12 a 31 do início para o final da maturação, que foi de 40 dias, sendo que o índice de profundidade de maturação variou de 9 a 21. SPADOTI (2003) encontrou para o índice de extensão de maturação em queijo Prato fabricado por ultrafiltração, valores entre 13 e 18% com 10 dias de maturação e entre 20 e 27% com 45 dias de maturação. Para o índice de profundidade de maturação os valores variaram de 3 a 5% com 10 dias e de 6 a 8,3% com 45 dias de maturação.

Os fenômenos físico-químicos e bioquímicos que caracterizam o processo de maturação do queijo, são também afetados pelo seu teor de sal. Proteólise e lipólise são reguladas por enzimas ativadas nos teores usuais de sal do queijo (0,5 a 2,5%, em geral) e inibidos em teores excessivamente elevados. O paracaseinato

de cálcio, que constitui a matriz protéica de um queijo fresco, dissolve-se melhor a uma concentração de sal de aproximadamente 5% na umidade do queijo, equivalente a cerca de 2% de sal no queijo Prato. Assim, um queijo excessivamente salgado, requer muito mais tempo para maturar (FURTADO, 1991).

MENEZES (1993) conduziu estudo com objetivo de determinar se havia algum fator que poderia indicar o futuro desenvolvimento de sabor amargo em queijo Prato. Os fatores pesquisados foram pH, proteína total, proteína solúvel, aminas e a análise de compostos da proteólise da caseína. O autor observou que o pH e a proteína total não tiveram relação com o desenvolvimento de sabor amargo. Os queijos fabricados com coalho microbiano mostraram um teor mais elevado de nitrogênio solúvel que os fabricados com coalho de bezerro. Os queijos que se mostraram mais amargos foram aqueles que tiveram um rápido aumento do teor de proteína solúvel durante a primeira semana. Das 20 amostras de queijos analisadas 8 apresentaram amargor e, em todos os casos ocorreu um rápido aumento de proteína solúvel durante a primeira semana de maturação. Os outros queijos não apresentaram amargor durante toda a maturação. Esses resultados indicam, que a variação no teor de proteína solúvel, durante a 1ª semana de maturação, poderia ser utilizado, como indicadora de futuro desenvolvimento de amargor em queijos Prato. Foi também observado que o perfil eletroforético das proteínas poderia ser utilizado como um indicador do futuro amargor, uma vez que os queijos que não apresentaram β -caseína já no 1º dia de maturação, depois se tornaram amargos. Por outro lado nos queijos que não apresentaram amargor a fração β -caseína não foi hidrolizada até aproximadamente a 4ª semana de maturação. STADHOUDER & HUP (1975), observaram que o aparecimento de sabor amargo é muito menos freqüente no queijo Edam ($\pm 6\%$ de sal na umidade) do que no queijo Gouda ($\pm 4,8\%$ de sal na umidade). Isto se deve, provavelmente, a inibição da hidrólise da fração β -caseína

em altas concentrações de sal, uma vez que essa fração é considerada a principal precursora de peptídios amargos em queijos.

A falta de conhecimento detalhado dos componentes do sabor do queijo e dos mecanismos que os geram durante a maturação, se mantém como o principal obstáculo para o desenvolvimento racional e científico de sistemas de maturação acelerada de queijos. A compreensão das reações de degradação é o principal requisito para o desenvolvimento de métodos adequados para acelerar a maturação de queijos (KIRBY, 1989).

3.3. Aceleração da maturação

A maturação do queijo pode ser lenta e, portanto, um processo dispendioso, que consome, por exemplo, nos queijos Parmesão e Cheddar extra-maturado, aproximadamente 18 meses. A maturação não é ainda precisamente controlada, isto é, a qualidade e intensidade do aroma não podem ser totalmente previstos. Entretanto, há um incentivo econômico para o desenvolvimento de métodos para aceleração de maturação de queijos, responsável pelo sabor e textura característico de cada variedade (FOX *et al.*, 1996).

Diversos trabalhos publicados nos últimos anos sobre aceleração do período de maturação, atestam a importância do tema, como as revisões feitas por LAW (1978, 1980, 1987), EL SODA (1986, 1993), CONNER (1988), EL SODA & PANDIAN (1991), KANAWJIA *et al.* (1991), FERNÁNDEZ-GARCIA & LÓPEZ-FANDIÑO (1994), FOX *et al.* (1996), IZCO *et al.* (1999).

A maturação envolve a produção, via várias rotas, de uma série de compostos, que caracterizam o sabor típico da variedade em questão. O objetivo da aceleração de várias rotas bioquímicas, é reduzir o tempo de maturação sem afetar adversamente o sabor e a textura do produto final (WILKINSON, 1993). Os

principais métodos utilizados para acelerar a maturação de queijos, são resumidos na Tabela 3.1.

Tabela 3.1. – Principais métodos utilizados para acelerar a maturação de queijos.

Métodos	Vantagens	Desvantagens
Elevação da temperatura	Nenhuma restrição legal; Tecnicamente simples; Possível economia nos custos	Ação não específica: Aumento potencial de microrganismos deterioradores
Enzimas exógenas	Baixo custo; Ação específica; Escolha de opção de sabor	Opção limitada na escolha de enzimas; Excesso de maturação; Dificuldade na uniformidade de incorporação; Possível restrição legal
Fermentos geneticamente modificados	Fácil de incorporar; Várias opções	Possível restrição legal; possibilidade do consumidor impor resistência
Fermentos modificados	Fácil de incorporar; Retenção do balanço natural de enzimas	Tecnicamente complexo
Pasta de queijo <i>slurry</i>	Desenvolvimento muito rápido de sabor	Possibilidade da presença de microrganismos deterioradores; Adequado para ingrediente

FOX *et al.* (2000)

O aumento da temperatura de armazenamento é o método mais econômico e simples para acelerar os processos bioquímicos que têm lugar no queijo durante a maturação e é preferencialmente aplicado em variedades de queijos cuja temperatura de maturação é baixa. Por exemplo, o queijo Cheddar, que tradicionalmente é maturado a cerca de 7°C, pode ser maturado a 13°C. Nos casos de queijos maturados em temperatura mais alta (cerca de 13°C) este aumento da temperatura pode causar defeitos de consistência e sabor e, em geral, amargor e fermentação ácido butírica como acontece no caso do queijo

Gouda (WALSTRA *et al.*, 1999). Segundo CORSETTI *et al.* (1998) a elevação da temperatura é somente aplicada à algumas variedades de queijos, que devem ser produzidas com leite de alta qualidade bacteriológica, além disso os cuidados higiênicos na produção e maturação devem ser redobrados. NUÑES *et al.* (1986), estudaram a influência de quatro temperaturas de armazenamento (5, 10, 15 e 20°C) na maturação de queijo Manchego de leite cru de ovelha e concluíram que a temperatura teve influência significativa na proteólise e lipólise. ASTON *et al.* (1983) e FEDRICK *et al.* (1984), citados por EL SODA (1986), obtiveram queijo Cheddar maturado a 20°C, com boa qualidade e livre de *off-flavour*.

A adição de enzimas exógenas possibilita a aceleração da maturação. Segundo WILKINSON (1993) estas podem ser adicionadas para gerarem sabores específicos no queijo, como a adição de lipase no Parmesão e variedades de queijos azuis. Por outro lado, isto não é permitido em muitos países e a disponibilidade de enzimas é limitada. Outra dificuldade é a distribuição da enzima durante a fabricação do queijo, pois quando adicionada ao leite, perde-se 90% da enzima no soro, podendo ainda levar a perda do mesmo, a não ser que estas enzimas sejam inativadas. As enzimas podem ainda ser adicionadas ao coágulo na forma líquida ou junto ao sal. A adição na forma líquida leva ao aumento da umidade no queijo e a dispersão no sal dificulta a sua homogeneização na massa coagulada. Segundo LAW (1980) existem outras maneiras de se adicionar enzimas, como por exemplo, a injeção de solução de enzimas sobre alta pressão em queijos ou a utilização de enzimas microencapsuladas com lipossomas, que são adicionadas ao coágulo. No Brasil a Portaria nº 146 do Ministério da Agricultura e abastecimento (11/09/1996), fala sobre a utilização de lipases na maturação de queijos como Parmesão, Provolone e Romano e, quanto ao emprego de proteases para acelerar a maturação, são recomendados testes preliminares para que o efeito do excesso do produto não resulte em sabor amargo.

MARTINS *et al.* (1979) estudaram a influência da adição de *Pediococcus* na aceleração do processo de maturação de queijo Prato, e os resultados mostraram que houve aceleração no processo de cura. A equipe de provadores não identificou a diferença de sabor entre as amostras. Segundo os autores os resultados apontaram para a possibilidade de se acelerar biologicamente a maturação do queijo Prato pela adição de *Pediococcus sp.* juntamente com o fermento normal.

Uma grande atenção tem sido dada ao estudo dos fermentos modificados, com o objetivo de acelerar a cura dos queijos. Vários métodos foram desenvolvidos para modificar as bactérias, visando acelerar a maturação, como as células tratadas com lisozima, os fermentos submetidos a choque térmico pelo frio ou pelo calor, adição de fermento envelhecido, fermento bacteriano hidrolisado e utilização de fermentos geneticamente modificados como lactase negativa e proteinase negativa (FOX *et al.*, 1996).

SILVA (1998) estudou a influência da adição da enzima proteolítica Neutrase, na proporção de 25, 15 e 10mg de enzima/kg leite, na maturação de queijo Prato. Os queijos fabricados com adição da enzima apresentaram, já no 1º dia de maturação, e durante todo o período da mesma, índices de extensão e de profundidade de maturação, significativamente maiores do que os fabricados sem adição da enzima, em todas as concentrações adicionadas. Os queijos adicionados de 25mg enzima /kg leite, apresentaram índice de extensão, que variaram de 11,41 (com 1 dia) a 25,97 (com 40 dias) e, para os queijos sem adição de enzima de 6,80 (1 dia) a 12,73 (40 dias). A evolução do índice de profundidade de maturação para a mesma quantidade de enzima adicionada, variou de 2,80 (1 dia) a 6,64 (40 dias) para os queijos sem adição de enzima e de 4,62 (1 dia) a 13,12 (40 dias) para os queijos adicionados de enzima. O trabalho mostrou que o uso de protease bacteriana (Neutrase) acelerou o processo de cura do queijo Prato.

3.4. Aceleração da maturação através da adição de *slurry*

O *slurry* é uma pasta semi-sólida maturada, que contém cerca de 40 % de sólidos e possui sabor característico do queijo base particular usado no seu preparo. O primeiro trabalho que relata a produção de *slurry*, foi publicado em 1967 por KRISTOFFERSEN *et al.* Este constituiu da mistura de duas partes de massa de queijo base de Cheddar, não prensado e salgado, com 24 horas de preparo e uma parte de solução esterilizada a 5,2% de NaCl, a 45°C. Esta pasta, denominada *slurry*, foi homogeneizada por 3 a 4 minutos e estocada a 30°C por 5 a 7 dias para desenvolver o sabor característico do queijo Cheddar. Após este período de maturação, o *slurry* foi adicionado ao leite ou à massa já coagulada, como fonte de enzimas e microrganismos, durante o processo de fabricação de queijo com a finalidade de acelerar a maturação.

A composição do *slurry* de queijo Cheddar obtida por KRISTOFFERSEN *et al.* (1967), foi de 41,5% de sólidos totais, 21,5% de gordura, 3,2% de sal e pH entre 5,1-5,2. Para o queijo Suíço, SINGH, V.K. & KRISTOFFERSEN (1971), obtiveram *slurry* com 40% de sólidos totais, 18,5% de gordura, 1,6 % de sal e pH 5,2.

SINGH & KRISTOFFERSEN (1970) avaliaram sensorialmente *slurries* de queijo Cheddar preparados com ou sem adição de 100ppm de glutatona reduzida, teor de sal variando de 1 a 4,7%, diferentes aditivos (citrato de sódio, manganês, riboflavina ou cobalto) e incubados nas temperaturas de 30°C e 35°C. Os *slurries* foram avaliados por 3 degustadores experientes, que indicaram que o sabor intenso de queijo Cheddar foi observado após 7 dias de maturação. Além disso, observaram uma melhoria na intensidade do sabor, quando o *slurry* foi agitado diariamente durante o período de incubação. A adição de citrato de sódio (500 ppm), manganês (5ppm como MnSO₄), riboflavina (2ppm) e cobalto (2 a 4ppm)

também contribuíram para a melhoria na intensidade de sabor do queijo Cheddar. O melhor sabor de queijo Cheddar foi obtido em *slurries* fermentados a 35°C, com adição de glutatona reduzida (GSH) e adição de 3% de sal.

Segundo HARPER & KRISTOFFERSEN (1970) a glutatona, quando adicionada ao *slurry*, é principalmente responsável pela dissociação de peptídios tornando-os mais susceptíveis à ação proteolítica. A presença de glutatona resulta em mais rápido desenvolvimento do sabor característico e, além disso, a fermentação é muito mais reprodutível na presença da glutatona na concentração de 100ppm. KRISTOFFERSEN *et al.* (1967) relataram que com a adição de glutatona ao *slurry* de queijo Cheddar, o pH praticamente não mudou durante a maturação, ficando em torno de 5,2, enquanto o pH do *slurry*, não adicionado de glutatona baixou para 5,0. A manutenção do pH possivelmente afeta a reprodutibilidade da fermentação.

HARPER & KRISTOFFERSEN (1970) observaram que o desenvolvimento do sabor em *slurry* de queijo Cheddar normalmente se dá em estágios característicos. Inicialmente, entre o 1º e o 2º dia de fermentação, aparece o flavor do diacetil, o que coincide com a máxima população microbiana. Este é seguido por sabor levemente fermentado, e então por um sabor insípido. O reconhecimento do flavor característico geralmente ocorre entre o 3º e o 5º dia da fermentação.

HARPER *et al.* (1971) estudaram o efeito do tipo de cultura, da adição de glutatona e do grau de agitação do *slurry*, no desenvolvimento de sabor, na hidrólise da caseína e na formação de peptídios, durante a maturação de *slurry* de queijo Cheddar. Os autores observaram uma ordem de preferência para a degradação da caseína, sendo que a para- κ -caseína degradou primeiramente, seguida da β e α_{s1} -caseína. Além disso, os autores observaram um aumento na separação dos peptídios do coágulo protéico pela adição de glutatona e

diminuição na degradação da β -caseína nos primeiros 4 dias de fermentação. Nos dias seguintes, observaram aumento da hidrólise da β -caseína. A agitação diária levou a obtenção de melhor sabor, principalmente nos 4 primeiros dias de incubação. As diferentes culturas utilizadas não influenciaram significativamente na formação de nitrogênio solúvel, quando da presença de glutatona. SINGH, S. & KRISTOFFERSEN (1971) também estudando *slurry* de queijo Cheddar adicionado de glutatona, obtiveram flavor mais característico do que o *slurry* não adicionado de glutatona.

Devido à alta umidade e a elevada temperatura de maturação, o desenvolvimento de sabor de queijo maturado ocorre num período de cerca de uma semana nos *slurries*. Estas condições favorecem o crescimento de leveduras e conseqüentemente o desenvolvimento de *off-flavor*, que podem ser controlados pela adição de sorbato de potássio (DULLEY & TAYLOR, 1972, citado por LAW, 1980).

SUTHERLAND (1975) utilizou com êxito *slurry* de queijo Cheddar como substituto do queijo Cheddar maturado, em queijo processado. Os *slurries* foram incorporados nas quantidades de 10 e 20%. Os produtos obtidos foram avaliados por um painel de 20 consumidores. Os queijos processados tiveram boa aceitabilidade, mas não houve diferença significativa entre a adição de 10 e 20% de *slurry*. Segundo o autor, os resultados mostraram a viabilidade de substituição do queijo maturado pela adição de *slurry* na fabricação de queijos processados.

Dulley (1976) estudou a adição de *slurry* para acelerar a maturação de queijo Cheddar. O *slurry* foi processado assepticamente, com massa base de queijo Cheddar, misturando-se 5% de NaCl e/ou 0,3% de sorbato de potássio, até obtenção de pasta semi-líquida. Esta pasta foi maturada por 7 dias a 30°C e então incorporada aos queijos em três etapas do processo: ao leite, juntamente com o fermento; ao coágulo antes da chedarização, e ao coágulo salgado antes da

prensagem. O autor observou que a adição do *slurry* ao coágulo salgado antes da prensagem foi o mais eficiente para acelerar a maturação dos queijos, pois evitou a perda de *slurry* no soro. Quando se adicionou o *slurry* preparado somente com 5% de NaCl, foi observada uma grande aceleração da maturação, mas ao mesmo tempo houve grande formação de *off-flavour*. A adição de 0,3% de sorbato de potássio na preparação do *slurry*, diminuiu a aceleração, mas diminuiu também o desenvolvimento de *off-flavour*. Nos *slurries* adicionados de sorbato não houve aumento do número de leveduras e coliformes. Quando o *slurry* foi preparado somente com solução de 0,3% de sorbato de potássio, sem o NaCl, o desenvolvimento de sabor foi similar, mas o grau de aceleração foi maior. Os autores concluíram que o tempo de maturação do queijo Cheddar poderia ser reduzido em até 50% com a utilização do *slurry*.

HARPER; KRISTOFFERSEN & WANG (1978) produziram *slurry* substituindo a gordura animal por gordura vegetal com o objetivo de estudar a formação de ácidos graxos livres, que têm influência no desenvolvimento de sabor durante a maturação dos queijos Cheddar e Romano, nos quais se substituiu a gordura do leite por gordura vegetal. Segundo os autores, contrariando o normalmente aceito, ocorreu nos *slurries* a formação de ácidos graxos livres de baixo peso molecular. A formação e a concentração destes compostos dependem do tipo de gordura vegetal e do emulsificante utilizados. Os resultados mostraram que as gorduras vegetais têm influência no controle na maturação, com a conseqüente influência no sistema que produz ácidos graxos de baixo peso molecular.

Com o propósito de desenvolver produto lácteo para consumidores que fazem restrição ao consumo de gorduras saturadas, HARPER & BLASER (1981) investigaram comparativamente queijo Cheddar e *slurries* de queijo Cheddar na formação de ácidos graxos de baixo peso molecular a partir de gordura polinsaturada, objetivando a formação de sabor tradicionalmente conhecido de

queijo Cheddar, uma vez que este tipo de produto, com baixo teor de gordura, normalmente tem baixa aceitabilidade, devido ao sabor pouco pronunciado. Os autores observaram que o queijo Cheddar fabricado por esta metodologia não desenvolvia o sabor tradicional, bem conhecido pelo consumidor. No entanto, o *slurry* de queijo desenvolveu sabor mais próximo do padrão, mas constataram que isto não se devia a formação de ácido graxo de baixo peso molecular e sim, devido provavelmente a atuação da glutatona reduzida, que afetou a formação de grupos ativos sulfídricos.

ABDEL BAKY *et al.* (1982) estudaram a utilização de *slurry* na aceleração de maturação de queijo Cephalotyre Ras, que é o principal queijo duro do Egito. Normalmente este tipo de queijo requer um período de 4 meses de maturação, para o desenvolvimento de suas características. Os *slurries* foram preparados como descrito por KRISTOFFERSEN *et al.* (1967) e adicionados ao leite, antes da adição do fermento e à massa coagulada, antes da prensagem. O desenvolvimento do sabor, a degradação de proteína e a hidrólise de gordura melhoraram com a adição de *slurry*. Acima de tudo, o período de maturação foi reduzido a 2 meses, comparado com 4 meses requerido para o queijo controle. O efeito do *slurry* foi mais efetivo para acelerar a maturação quando foi adicionado à massa coagulada.

HUFFMAN & KRISTOFFERSEN (1984) compararam as características de sabor do queijo Cheddar tradicional, maturado a 8,5°C, e de *slurry* de queijo Cheddar adicionado de glutatona e maturado a 30°C por 7 dias. O *slurry* de queijo Cheddar maturado a 30°C por 7 dias, apresentou a mesma intensidade de sabor que o queijo tradicional maturado por nove meses a 8,5°C.

SAMPLES *et al.* (1985) avaliaram a adição de três níveis de glutatona em *slurry* de queijo Cheddar e monitoraram os compostos do espaço livre da embalagem (sulfeto de hidrogênio, sulfeto de carbonila, metanotiol e sulfeto de

dimetila), durante dez dias. As concentrações de sulfeto de hidrogênio, sulfeto de carbonila e metanotiol foram maiores em *slurries* adicionados de glutatona, quando comparados a *slurry* não adicionado de glutatona. Um aumento da produção de sulfeto de dimetila foi observado em *slurries* que continham os mais altos níveis de glutatona. O perfil e a concentração de compostos voláteis de sulfidril no espaço livre da embalagem foram similares aos valores obtidos para queijo Cheddar maturado por 6 a 9 meses.

RABIE *et al.* (1986) adicionaram *slurry* de queijo maturado em queijo Ras fabricado por acidificação do leite com o objetivo de melhorar o sabor do produto. Os autores observaram que a adição do *slurry* ao coágulo acidificado quimicamente melhorou as características sensoriais do queijo como aparência, textura e sabor. Além disso, também aumentou as frações nitrogenadas solúveis e a presença de ácidos graxos livres, indicando que a maturação do produto foi acelerada.

Para acelerar a maturação de queijo Cheddar fabricado com leite de búfala, SINGH & KANAWJIA (1988) adicionaram *slurry* e células viáveis de *Lactobacillus casei* subsp. *casei* ao coágulo triturado, antes da prensagem. Diferente dos demais trabalhos, neste caso, o *slurry* foi produzido a partir de queijo Cheddar com 9 meses de idade. A incorporação de até 2% de *slurry* melhorou o escore de sabor e textura em queijos com até 9 meses de maturação. Os queijos foram avaliados por um painel de 5 julgadores aos 3, 6, 9 e 12 meses de maturação. Quando foi adicionado *Lactobacillus casei* subsp. *casei* aos queijos que continham 2% de *slurry*, estes apresentaram melhor sabor. Por outro lado, a adição de 3% de *slurry* prejudicou o sabor do produto provavelmente devido à excessiva proteólise e lipólise. O queijo Cheddar de leite de búfala, com nove meses de maturação, obtido pela incorporação de 2% de *slurry* e 0,2% de células de *Lactobacillus casei* subsp. *casei*, apresentaram as melhores características de sabor e textura.

HARPER *et al.* (1989) estudaram os efeitos da adição de proteínas do soro na proteólise de *slurry* de queijo Cheddar. A pesquisa visava extrapolar os resultados obtidos com os *slurries*, para o melhor entendimento do queijo Cheddar fabricado com leite ultrafiltrado, no qual ocorre incorporação de proteínas do soro. Os resultados mostraram que a adição das proteínas nativas do soro levaram a uma diminuição da velocidade da hidrólise da α_{S1} -caseína e conseqüente formação de α_{S1} -I-caseína. A redução na velocidade de hidrólise foi provavelmente causada pela inibição da quimosina. As proteínas desnaturadas do soro não afetaram a degradação da α_{S1} -caseína e a proteólise da β -caseína foi inibida tanto pelas proteínas desnaturadas como pelas proteínas nativas do soro. Os resultados do perfil eletroforético das proteínas e da fração nitrogenada solúvel em pH 4,6, mostraram que um ou mais componentes das proteínas nativas do soro inibem a hidrólise da fração α_{S1} -caseína em *slurries* de queijo Cheddar.

RABIE (1989) buscou acelerar a maturação em queijo azul, pela incorporação de 1 e 2% de *slurry* neste queijo. Foram ainda acrescentadas enzimas extracelulares (proteínases e lipases) de *Penicillium roqueforti* (1:1), na proporção de 0,01 e 0,02% no coágulo do queijo azul. Tanto a adição do *slurry* quanto da mistura de enzimas ao coágulo aceleraram o desenvolvimento característico da maturação do queijo azul estimulando a formação de nitrogênio solúvel, aminoácidos livres, ácidos graxos voláteis e compostos carbonílicos totais. Os queijos azuis contendo 2% de *slurry* tiveram melhores propriedades organolépticas do que o controle após 45 dias de maturação.

KUMAR & TEWARI (1990) avaliaram a qualidade de queijos desidratados obtidos pela mistura de 25, 50, 75 e 100% de *slurries* com 75, 50, 25 e 0% de sólidos de queijo Cheddar com 8 meses de maturação. A avaliação sensorial indicou que ambos, o queijo desidratado e a pasta reconstituída a partir do queijo desidratado, obtidos da mistura de 75% de *slurry* e 25% de queijo Cheddar com 8

meses de maturação apresentaram a maior aceitabilidade nos aspectos sabor e cremosidade.

MAGDOUB *et al.* (1991) utilizando proteases de bactérias psicrotróficas no desenvolvimento de sabor em *slurry* de queijo Ras, obtiveram aumento dos índices de maturação e concentração de tirosina e triptofano solúvel durante o período de cura, o que mostrava a aceleração da maturação.

Segundo THAKAR & UPADHYAY (1992) os trabalhos de HARPER & KRISTOFFERSEN (1970) criaram um grande interesse no emprego de *slurries* como sistema modelo para investigação de processos de maturação de queijos.

KEBARY *et al.* (1992) estudaram o efeito de diferentes níveis de lisozima e a sua associação com protease e lipase em *slurry* de queijo Ras, que foram maturados a 30°C, durante 30 dias. Os resultados mostraram que a adição de lisozima ou a associação de lisozima com proteinase e lipase aumentou os índices de controle de maturação (NS-pH 4,6, tirosina e triptofano solúveis e ácidos graxos voláteis). Os *slurries* adicionados somente de proteinase e lipase também melhoravam os índices de maturação, em relação aos *slurries* não tratados. As bactérias proteolíticas e lipolíticas tiveram contagem máxima no 5º dia de incubação, diminuindo gradualmente a partir daí. No que diz respeito ao sabor, os *slurries* de queijo Ras tratados com lisozima, protease e lipase obtiveram o melhor escore de sabor no 15º dia de maturação. Os autores concluíram que os *slurries* de queijo Ras tratados com lisozima e enzimas têm o máximo escore mais cedo que os outros *slurries*. Desta forma é possível utilizar lisozima juntamente com lipase e protease para aumentar a intensidade de sabor de *slurry* de queijo Ras, o que poderia melhorar a qualidade do sabor na aceleração da maturação do queijo Egípcio Ras.

ROBERTS *et al.* (1995) desenvolveram um método que consiste na preparação e maturação de *slurry* de queijo em condições assépticas. O *slurry* preparado por este método encontra-se livre de bactérias contaminantes durante a maturação a 30°C por 15 dias. Este método torna possível investigar os efeitos individuais de microrganismos sem interferência de outra microflora durante a maturação em queijos. Torna também possível o estudo do efeito de fermentos no desenvolvimento de sabor no queijo, bem como, o estudo de processos bioquímicos da maturação de queijos. Este trabalho foi desenvolvido porque os autores observaram a interferência de microrganismos contaminantes (endógenos e exógenos), com significativa alteração na maturação do *slurry* com respeito a proteólise e desenvolvimento de sabor.

RAMASAMY *et al.* (1996) estudaram a maturação de queijo Cheddar, utilizando *slurry* preparado com sal e ácido sórbico, adicionado de enzima comercial AHC 50 e glutatona reduzida (GSH). Os autores observaram que o nitrogênio solúvel aumentou de 0,123% para 0,404% para os queijos controle e de 0,123% para 1,45% e 1,53% para os queijos preparados com *slurry* adicionados de AHC 50 e preparados com *slurry* adicionados de GSH, respectivamente. A avaliação sensorial do sabor indicou que houve um aumento do escore de sabor durante o período de maturação. Esse aumento foi de zero para 4,25 para o queijo controle, para 5,0 quando do uso de AHC 50 e para 6,28 quando da adição de glutatona. Os autores indicaram o uso da enzima AHC 50 em substituição à glutatona, devido ao seu menor custo e maior disponibilidade no mercado.

VUJICIC; ŠKRINJAR & VULIC (1996) estudaram a função da protease ácida isolada do *Penicillium roqueforti* na degradação da proteína de *slurry* de queijo Trappist, maturado a 20°C durante 40 dias em relação a um padrão. Além disso, os *slurries* com e sem adição de enzima foram adicionados ao leite na fabricação de queijo Trappist. Nos *slurries* adicionados de enzima, a ação da protease do *Penicillium roqueforti* caracterizou-se por aumentar o nitrogênio

solúvel em pH 4,6 e nitrogênio não protéico. Além disso, melhorou o sabor específico do queijo. A adição de *slurry* com protease no processo de fabricação do queijo Trappist levou a um aumento significativo de nitrogênio solúvel e, por consequência, acelerou a maturação do queijo.

MANTÍNEZ-CUESTA *et al.* (1998) desenvolveram um sistema modelo para acelerar a proteólise em *slurries* através do *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IFPL 105 na produção de bacteriocina, a qual induz a lise de células de fermento adjunto com peptidases de alta atividade. O estudo mostrou que a bacteriocina produz, em *slurries* de queijos, um significativo aumento de nitrogênio amínico e consequentemente da proteólise.

CORSETTI *et al.* (1998) investigaram a aceleração da maturação do queijo Pecorino Umbro, através da adição de extrato citoplásmico de *Pseudomonas fluorescens*, bactérias lácticas que não fermento (NSLAB) ou *slurry* de queijo. Análises microbiológicas e bioquímicas e avaliação sensorial foram conduzidas por 28 dias nos queijos contendo *slurry* ou NSLAB e nos queijos controle (sem qualquer adição). Os queijos contendo *slurry* ou NSLAB apresentaram mais altos níveis de nitrogênio solúvel a pH 4,6 e em TCA 12% e aminoácidos livres. Os queijos contendo NSLAB ou *slurry* foram caracterizados por uma acumulação de pequenos peptídios. O uso de NSLAB ou *slurry* reduziu de 60 para 28 dias a maturação do queijo Pecorino Umbro, mantendo o sabor típico do queijo.

BISHT & JHA (1999) produziram queijo processado com *slurry* fabricado a partir de coágulo fresco adicionado de bactérias ácido lácticas e enzimas proteolíticas Accelase e Maxiren (nomes comerciais) e maturado a 30°C. O queijo obtido apresentou ótimas características sensoriais até o 30º dia e composição semelhante ao queijo controle, fabricado pelo processo tradicional.

MUEHLENKAMP-ULATE & WARTHESEN (1999) avaliaram a habilidade proteolítica de dez linhagens de *Lactobacillus* que não fermento (NSLAB), em *slurries* de queijo Cheddar maturado a 30°C durante 12 dias. Os resultados mostraram que as linhagens de *Lactobacillus* utilizadas afetaram a proteólise. Grande quantidade de aminoácidos livres foi encontrada nos *slurries* quando foram utilizadas linhagens de *Lactobacillus helveticus* e *Lactobacillus casei*, quando comparado com o *slurry* controle contendo somente o fermento.

EL SODA; MAKDOR & TONG (2000) utilizaram *slurry* como sistema modelo para comparar culturas adjuntas de *Lactobacillus* atenuadas pelo frio ou pelo calor e não atenuadas, quanto à atividade enzimática, autólise e habilidade das células para produzir ácido. O objetivo dos autores foi buscar melhor entendimento sobre as vantagens e desvantagens do uso de culturas adjuntas atenuada ou não na fabricação de queijo. *Slurry* de queijo contendo células de *Lactobacillus helveticus* atenuados pelo frio apresentaram maior atividade peptidase e mais alta taxa de proteólise quando comparada com cepas de *Lactobacillus casei* e poderia melhorar o sabor dos queijos.

PARRA; CASAL & GÓMEZ (2000) investigaram a contribuição de células de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ou combinado com *Lactobacillus casei* subsp. *casei* na proteólise de *slurries* fabricados com leite caprino com baixo teor de gordura, com objetivo de entender a ação do *Lactobacillus* durante a aceleração da maturação. A presença do *Lactobacillus casei* aumentou a quantidade de ácido glutâmico e prolina nos *slurries*. A presença de *Lactobacillus* favoreceu a hidrólise de muitos peptídeos hidrofóbicos produzidos pelo *Lactococcus lactis*. Este efeito poderia estar associado com a habilidade do *Lactobacillus* de diminuir o amargor em queijos e influenciar no desenvolvimento do sabor.

PÉREZ *et al.* (2002) utilizaram *slurries* de queijo, fabricados em temperaturas diferentes (22 e 30°C), com o objetivo de acelerar a maturação do

queijo Costa Sur. Os queijos foram avaliados quanto aos índices de maturação, quanto às características sensoriais e quanto aos parâmetros do perfil de textura aos 15, 30 e 45 dias de maturação. Os resultados indicaram que a adição do *slurry* acelerou o processo de degradação proteolítica, influenciou a formação de sabor e intensificou as mudanças de textura dos queijos. Os melhores resultados foram obtidos para os *slurries* incubados a 30°C por um período de 7 dias e para os queijos maturados por um período de 30 dias.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

4.1.1. Equipamentos

- Tanque inox tipo queijomatic, capacidade 200 litros, com agitação e aquecimento indireto;
- Seladora a vácuo de embalagens;
- Prensa mecânica vertical para queijos, com três compartimentos com capacidade para 7 formas cada um;
- Câmara incubadora BOD, com controle de temperatura.

4.1.2. Matérias-primas

4.1.2.1. Leite

O leite destinado à fabricação dos queijos, foi adquirido na Cooperativa dos Produtores de Leite da Região de Campinas Ltda – Jaguariúna-SP. O leite cru, tipo B, integral e resfriado a 4°C foi acondicionado e transportado em latões de 50 litros. Para cada processamento de *slurry* e queijo Prato foram utilizados 20 e 240 litros de leite, respectivamente.

4.1.2.2. Coadjuvantes tecnológicos

- Cloreto de sódio comercial;
- Solução de cloreto de cálcio 50% com grau alimentício;
- Fermento lático mesofílico tipo LD, referência CH-N22, constituído de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*,

Lactococcus lactis subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* e *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, produzido pela Chr. Hansen;

- Coalho bovino em pó, produzido pela Chr. Hansen, referência St. 600. A força do coalho foi determinada para cada fabricação;
- Corante urucum líquido;
- Sorbato de potássio granulado, grau farmacêutico;
- Glutamina reduzida da marca Sigma, referência G4251.

4.2. Métodos

O desenvolvimento do trabalho seguiu o esquema geral apresentado na Figura 4.1, o qual foi repetido 3 vezes. As etapas de fabricação do coágulo fermentado salgado, do *slurry* e do queijo Prato, são descritas a seguir. Todos os equipamentos foram cuidadosamente limpos e sanitizados com solução de hipoclorito imediatamente antes da sua utilização.

4.2.1. Fabricação do coágulo fermentado salgado utilizado na produção do *slurry*

O coágulo fermentado salgado de queijo Prato foi fabricado de acordo com a metodologia tradicional de queijo Prato, descrita por VAN DENDER *et al.* (1986) e BALDINI (1998), até a etapa da dessoragem da massa. A partir daí, a massa foi tratada conforme descrito por KRISTOFFERSEN *et al.* (1967), para obtenção do coágulo fermentado salgado para a fabricação de *slurry* de queijo Prato, conforme etapas apresentadas na Figura 4.2.

No processo de fabricação do coágulo fermentado salgado, logo após a recepção, o leite foi tratado termicamente (68°C/2 minutos) e resfriado a 32°C. Em seguida adicionou-se cloreto de cálcio (250ppm), corante urucum (110ppm), fermento láctico mesofílico LD e coalho, cuja quantidade foi calculada para se obter a coagulação do leite em 45 minutos. Após a coagulação, fez-se o corte do

gel. Após repouso de 5 minutos a mistura soro/coágulo foi agitada por 20 minutos, sendo em seguida feita a 1ª dessoragem, que consistiu em retirar 30% do soro. Após a 1ª dessoragem, adicionou-se cerca de 20% de água a 80°C, de modo a aumentar a temperatura da mistura.

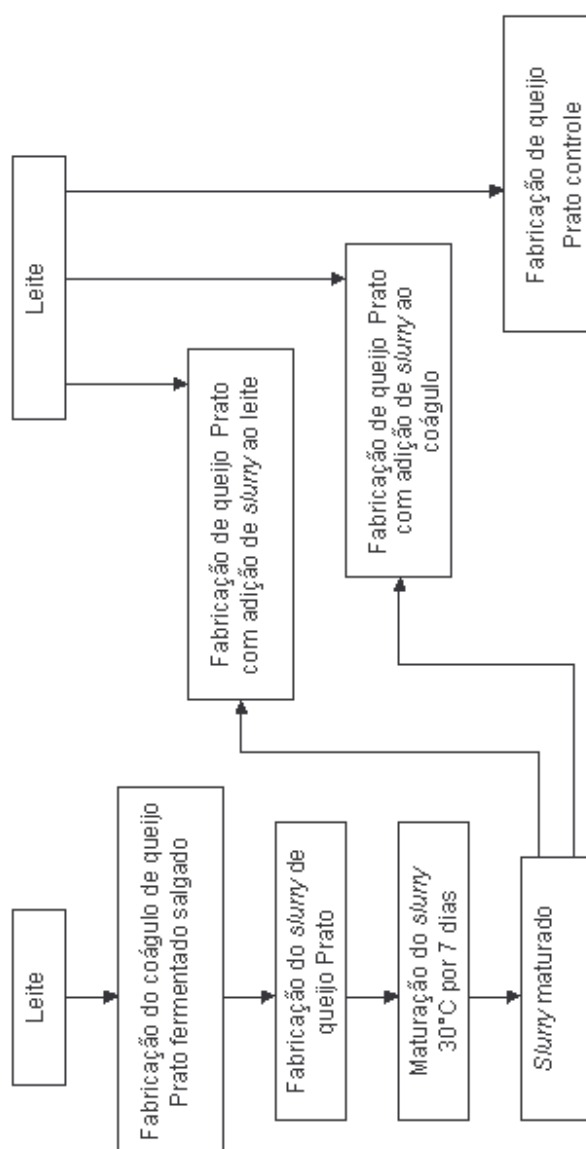


Figura 4.1. Esquema geral de desenvolvimento do trabalho (realizado em triplicata).

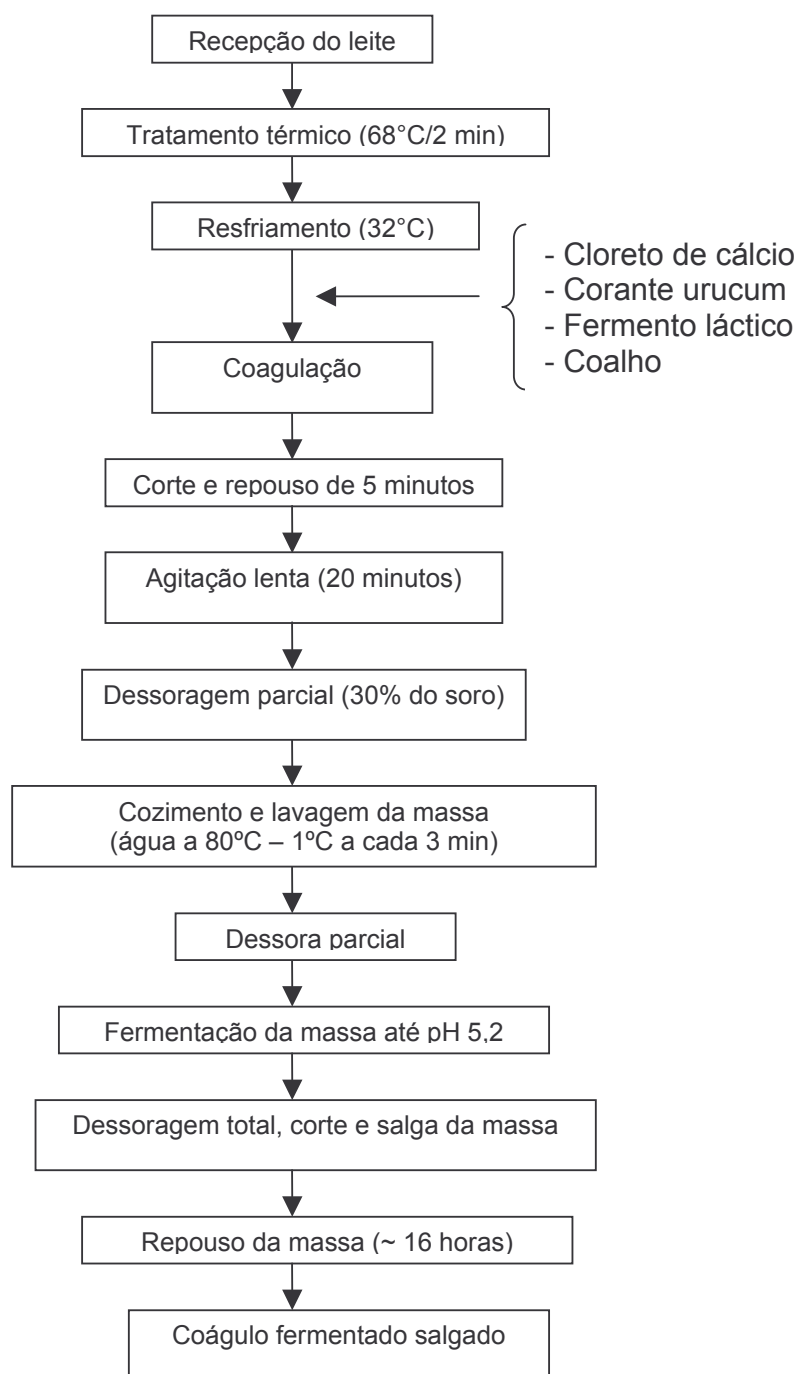


Figura 4.2. Fluxograma do processo de fabricação do coágulo de queijo Prato fermentado salgado.

coágulo/soro de 1°C a cada 3 minutos, até que se atingisse 40°C. Em seguida após uma dessora parcial da massa, que consistia em deixá-la mergulhada em soro, a mistura foi deixada em repouso para fermentação, até que o pH 5,2 fosse atingido. Neste ponto promoveu-se a dessoragem completa, a massa foi cortada em pequenos cubos, que foram salgados (2,3% de sal p/p) e deixados em repouso à temperatura ambiente por aproximadamente 16 horas. Após esse tempo, obteve-se o coágulo fermentado salgado, que foi utilizado para fabricação do *slurry*.

4.2.2. Fabricação do *slurry*

O *slurry* de queijo Prato foi preparado como descrito por KRISTOFFERSEN *et al.* (1967). Este consistiu na mistura durante 2 minutos, de 2 partes de coágulo fermentado salgado com 1 parte de solução esterilizada de sal a 5,2% aquecida a 45°C. Durante a mistura foram adicionados o sorbato de potássio (0,3% sobre o peso do coágulo fermentado salgado) e glutatona reduzida (100ppm). A mistura foi acondicionada em vidros esterilizados e armazenada em câmara BOD, para maturação, a 30°C por 7 dias, com agitação diária de 1 minuto. Foram preparadas amostras individuais em frascos de vidro para posterior análise e um frasco maior contendo a quantidade necessária (1% sobre o peso do leite) para os processamentos dos queijos.

4.2.3. Fabricação do queijo Prato

Para cada dia de processamento, o leite recebido (240 L) foi dividido em 3 porções de 80 litros para produção de 3 tanques de queijo Prato. Uma porção foi utilizada para fabricação do queijo controle, sem adição de *slurry*. A segunda porção foi utilizada para a fabricação do queijo Prato com adição de *slurry* ao leite e a terceira porção foi utilizada para fabricação de queijo Prato com a adição de *slurry* ao coágulo. O fluxograma geral de fabricação do queijo Prato, conforme

descrito por VAN DENDER *et al.* (1986) e BALDINI (1998), é apresentado na Figura 4.3.

Após a recepção, o leite foi tratado termicamente (68°C/2 minutos) e resfriado a 32°C. Em seguida, adicionou-se cloreto de cálcio (250ppm), corante urucum (110ppm), fermento láctico mesofílico tipo LD. No caso da fabricação de queijo com adição de *slurry* ao leite foi nesta etapa, juntamente com o fermento, que o *slurry* maturado por 7 dias a 30°C foi adicionado. Em seguida adicionou-se o coalho, para obter a coagulação em 45 minutos. Após a coagulação, o gel foi cortado em cubos de 0,5cm de aresta e após repouso de 5 minutos, a mistura soro/coágulo foi agitada por 20 minutos, sendo em seguida feita a 1ª dessoragem, que consistiu em retirar 30% do soro. Após a 1ª dessoragem, adicionou-se cerca de 20% de água a 80°C de modo a aumentar a temperatura da mistura coágulo/soro de 1°C a cada 3 minutos, até que se atingisse 40°C. Após se atingir o ponto de massa, foi feita a dessoragem da massa. No caso da fabricação dos queijos com adição de *slurry* ao coágulo, foi nesta etapa que o *slurry* de queijo Prato, maturado por 7 dias a 30°C foi adicionado. Após uma pré-prensagem da massa no tanque por 15 minutos, a massa foi enformada em formas de 1kg e encaminhada para a prensagem. A prensagem se deu em três etapas, da seguinte forma: 1ª prensagem - 15kg durante 20 minutos; 2ª prensagem – 21kg durante 30 minutos; 3ª prensagem – 27kg por 2 horas; 4ª prensagem sem peso durante 2h. Após a prensagem, os queijos foram salgados por imersão em salmoura com 20% de sal durante 12h. Posteriormente os queijos foram secos por 48h a 10°C. Depois de secos, os queijos foram embalados em plástico termo-encolhível e armazenados a 12°C, durante 40 dias.

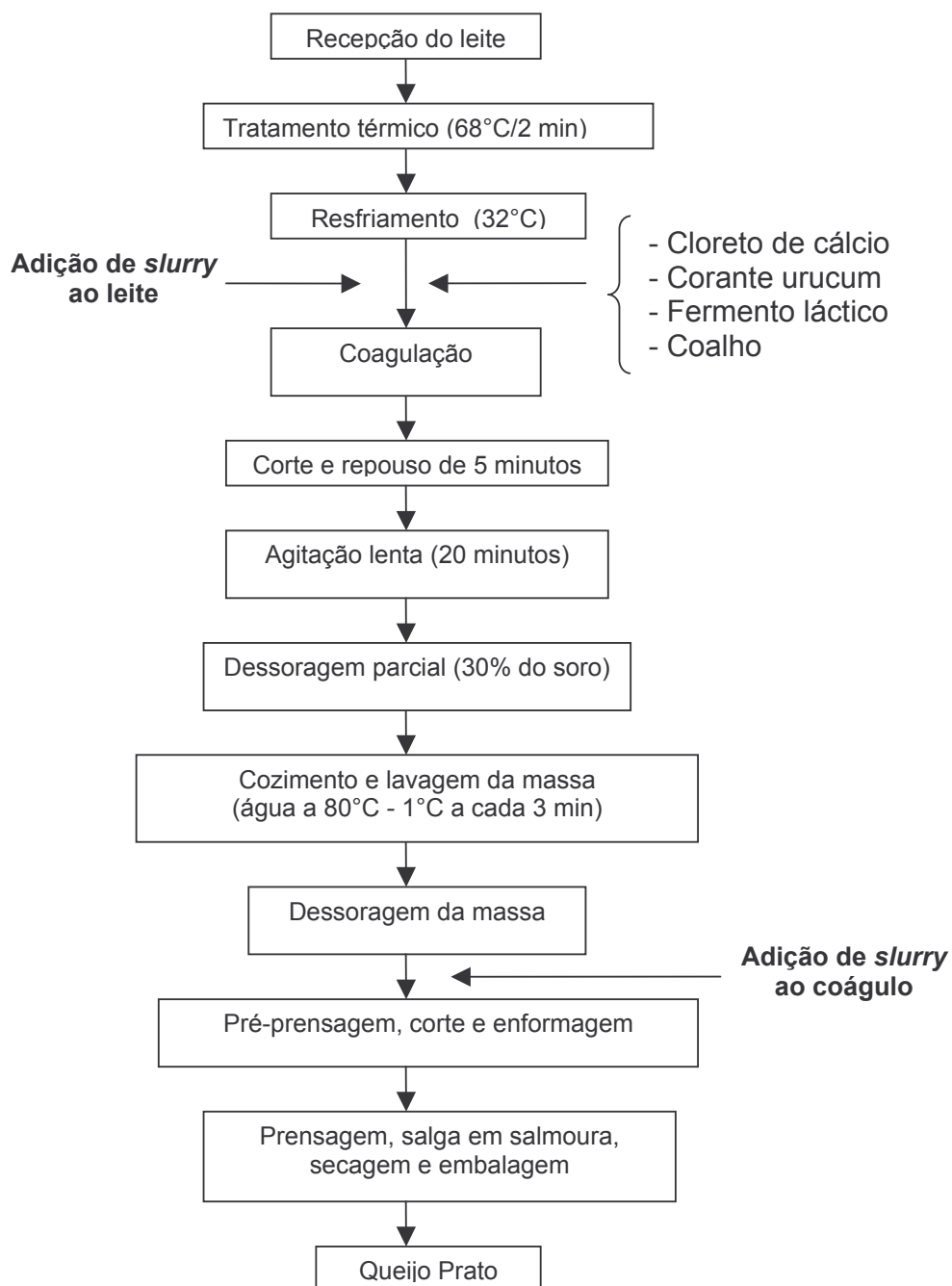


Figura 4.3. Fluxograma de fabricação do queijo Prato controle e com adição de *slurry* ao leite ou ao coágulo.

4.2.4. Procedimento de amostragem

Quando da chegada do leite cru integral na Planta Piloto de Processamento de Leite e Derivados do Departamento de Tecnologia de Alimentos, foram retiradas amostras de aproximadamente 1 litro de cada um dos latões, após estes terem sido devidamente misturados com auxílio de um agitador de aço inoxidável de placa perfurada. As amostras foram transferidas para frascos de vidro, para posterior análise.

Após a fabricação do *slurry* foram preparadas amostras individuais, acondicionadas em frascos de vidro e foram randomicamente escolhidos para as determinações analíticas imediatamente após a fabricação (tempo zero) e após 3, 5 e 7 dias de maturação. Os frascos foram devidamente agitados antes da coleta da amostra.

Os queijos após 1, 7, 14, 21, 28 e 40 dias de maturação, foram randomicamente escolhidos, amostrados segundo metodologia descrita por WOLFSCHOON-POMBO *et al.* (1983), triturados em um multiprocessador e homogeneizados, antes de serem utilizados para as determinações analíticas. Uma porção da amostra foi congelada para posterior avaliação do perfil eletroforético.

4.2.5. Determinações analíticas do leite

A caracterização do leite utilizado em cada processamento, foi baseada nas determinações de densidade a 15°C, acidez titulável (°D), pH, sólidos totais, gordura, proteína total, nitrogênio solúvel em pH 4,6, nitrogênio solúvel em TCA 12% e cinzas.

4.2.6. Determinações analíticas do *slurry*

Durante a fermentação os *slurries* foram avaliados quanto ao pH, acidez titulável (°D), nitrogênio total, nitrogênio solúvel em pH 4,6, nitrogênio em TCA 12% e teor de grupamentos amínicos livres, no dia em que foi preparado (tempo zero) e após 3, 5 e 7 dias de fabricação. Além disso, imediatamente após o preparo (tempo zero) e após 7 dias de maturação, os *slurries* foram avaliados quanto a sólidos totais, gordura, cinzas e teor de sal.

4.2.7. Determinações analíticas dos queijos

Para caracterizar a proteólise, os queijos foram avaliados quanto ao nitrogênio total, nitrogênio solúvel em pH 4,6, nitrogênio solúvel em TCA 12%, teor de tirosina, triptofano e grupamentos amínicos livres após 1, 7, 14, 21, 28 e 40 dias de maturação. Além disso, no primeiro dia e após 40 dias de maturação os queijos foram analisados quanto a umidade, gordura, cinzas e teor de sal. Foram calculados os índices de extensão e de profundidade de maturação, como a seguir:

$$\text{IEM} = \frac{\text{NS-pH 4,6}}{\text{NT}} \times 100$$

$$\text{IPM} = \frac{\text{NS-TCA 12\%}}{\text{NT}} \times 100$$

Onde:

IEM = índice de extensão de maturação

IPM = índice de profundidade de maturação

NT = nitrogênio total

NS-pH 4,6 = nitrogênio solúvel em pH 4,6

NS-TCA 12% = nitrogênio solúvel em ácido tricloroacético a 12%

4.2.8. Análises físico-químicas

- **Densidade:** foi utilizado termolactodensímetro como descrito por Atherton & Newlander (1981).
- **pH:** foi utilizado potenciômetro devidamente calibrado antes da realização da determinação.
- **Acidez titulável:** foi determinada utilizando-se solução de hidróxido de sódio N/9, em presença do indicador fenolftaleína, conforme descrito por Atherton & Newlander (1981).
- **Sólidos Totais:** foi determinado gravimetricamente, em estufa a 105 °C, conforme a AOAC 925.23 (1995). A porcentagem de umidade dos produtos analisados foi calculado por diferença (% umidade = 100 - % EST).
- **Gordura:** a porcentagem de gordura do leite, *slurries* e queijos, foi determinada pelo método de Gerber conforme descrito por Atherton & Newlander (1981).
- **Nitrogênio total (NT):** do leite foi feito pelo método semi-micro Kjeldahl, conforme BARBANO *et al.* (1989) e do *slurry* e queijo pelo método macro Kjeldahl conforme AOAC (1995). O teor de proteína total foi obtido multiplicando-se o valor do nitrogênio total por 6,38.
- **Cinzas:** foram determinadas após incineração a 550°C conforme AOAC (1995).
- **Teor de sal:** foi determinado pelo método de Volhard com modificações, conforme KOSIKOWSKI & MISTRY (1997).
- **Nitrogênio solúvel em pH 4,6:** o teor de nitrogênio solúvel em pH 4,6 foi determinado pela dosagem do nitrogênio no sobrenadante obtido após precipitação isoelétrica das caseínas. Para a análise do nitrogênio, foi utilizado a metodologia do macro-Kjeldahl (VAKALERIS & PRICE, 1959).
- **Nitrogênio solúvel em TCA 12%:** o teor de nitrogênio solúvel em TCA 12% foi determinado pela dosagem do nitrogênio no sobrenadante obtido após precipitação das proteínas em presença de ácido tricloroacético a 12%,

segundo o método descrito por Aschaffenburg & Drewry (1959). Para a análise do nitrogênio, foi utilizado a metodologia do macro-Kjeldahl.

- **Tirosina e de triptofano:** Os teores de tirosina e de triptofano solúveis foram determinados seguindo-se o método espectrométrico descrito por Vakaleris & Price (1959) com leitura em espectrofotômetro Beckman UD a 270 e 290 nm, conforme descrito por Baldini (1998). As fórmulas para o cálculo de tirosina e triptofano, são mostradas abaixo:

$$\begin{aligned}\text{Tirosina: Tyr (mM/L)} &= (0,95 \times A_{270} - 1,31 \times A_{290}) \times 2 \\ \text{Tyr (mg/100g de queijo)} &= \text{mM/L} \times 453\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Triptofano: Trp (mM/L)} &= (0,307 \times A_{290} - 0,020 \times A_{270}) \times 2 \\ \text{Trp (mg/100g de queijo)} &= \text{mM/L} \times 510,5\end{aligned}$$

Onde:

Tyr = tirosina

Trp = triptofano

A_{270} = absorbância no comprimento de onda 270nm

A_{290} = absorbância no comprimento de onda 290nm

- **Determinação dos teores de aminoácidos livres totais (em leucina):** foi determinado pela Reação com ninidrina-cádmio, conforme descrito por BALDINI (1998).

4.2.9. Avaliação do perfil eletroforético

A eletroforese foi feita para as amostras de queijos com 1, 7, 14, 21, 28 e 40 dias de maturação. Os extratos para eletroforese foram preparados dissolvendo-se em torno de 20mg de queijo (calculado para conter 0,4% de proteína na amostra) em 1mL de tampão, com aquecimento a 37°C durante 1 hora

e, após foi adicionado 5µL de 2 mercapto-etanol e, novamente foi aquecido na mesma temperatura durante 45 minutos.

A eletroforese em gel de poliacrilamida PAGE, foi executada com géis de separação de 9% e de concentração de 4%, em uma unidade vertical Mini Protean III xi (Bio-Rad), de acordo com o método modificado de ANDREWS (1983). A corrida das amostras foi feita a 120V, até o corante indicador atingir o final do gel. A coloração dos géis foi feita por imersão em Brilliant Blue Coloidal G, seguindo metodologia descrita por BLAKESLEY & BOEZI (1977).

4.2.10. Avaliação do perfil de textura dos queijos

A firmeza, a elasticidade e a coesividade do queijo prato foram avaliadas pela análise do perfil de textura (TPA – Texture Profile Analysis), utilizando-se o texturômetro TA-XT2 Stable Micro Systems.

Os queijos, após 1, 7, 14, 21, 28 e 40 dias de maturação, foram randomicamente escolhidos e amostrados segundo metodologia descrita por SILVA (1998), que consistiu em retirar uma fatia de aproximadamente 3cm da parte central do queijo. Desta fatia foram cortados 6 cilindros de queijo, tanto da parte central como da parte próxima a superfície, configurando dessa forma amostras ao acaso de toda a superfície da fatia de queijo. Foram corrigidos os tamanhos dos cilindros com um cortador, de maneira que todos os cilindros ficassem iguais (diâmetro=2,0cm e altura 2,4cm). Em seguida as amostras foram colocadas em filmes de plástico para evitar perda de umidade e deixadas em geladeira a 4-6°C, para análise após 1 hora. No momento de fazer as medidas, as amostras foram colocadas em pequena caixa de isopor com gelo. As amostras ao serem medidas estavam com temperatura em torno de 10°C. As condições de análise do perfil de textura foram: Velocidade constante de 2mm/s, distância que o

dispositivo comprime a amostra de 10 mm e força de contato de 5,0g. O probe utilizado foi cilindro metálico com 55mm de diâmetro (SMS P/55).

4.2.11. Análise sensorial dos queijos

A aceitabilidade, a aparência, o sabor e o sabor residual dos queijos, foram avaliados utilizando-se escala hedônica estruturada de nove pontos, ancorada nos extremos e no meio. Os atributos firmeza, cremosidade na boca e acidez, foram avaliados utilizando-se a escala do ideal de sete pontos. A preferência relativa entre as amostras foi avaliada com Teste de Ordenação de Preferência, solicitando aos provadores que ordenassem as amostras quanto a preferência, atribuindo valor 1 para a amostra mais preferida e 3 para a menos preferida.

As amostras de 2,5x1x1cm foram servidas a aproximadamente 7°C, em pratos plásticos codificados com números aleatórios de 3 dígitos. As 3 amostras (queijo controle e queijos obtidos com adição de *slurry* ao leite ou ao coágulo) foram apresentadas simultaneamente e o provador marcou suas apreciações e comentários em uma ficha única, a qual é apresentada na Figura 4.4. A ordem de apresentação das amostras foi sorteada entre os provadores seguindo-se o delineamento de MACFIE *et al.* (1989). Juntamente com as amostras foi oferecido aos provadores, biscoito salgado, água e palito. Os testes foram aplicados para os queijos do primeiro processamento com 21, 28 e 40 dias de maturação.

Os resultados das avaliações dos atributos firmeza, cremosidade na boca e acidez foram analisados por histogramas de porcentagem de notas na escala do ideal. Os resultados dos atributos aparência, sabor e sabor residual foram avaliados por análise de variância (ANOVA) de dois fatores (amostra e provador) e teste de média Tukey ao nível de 5% de significância. Para o cálculo da porcentagem de aceitação das amostras considerou-se a somatória das notas maiores que cinco. A porcentagem de rejeição foi calculada pela somatória das

notas menores que cinco. A somatória das notas iguais a 5 foram consideradas como indiferente para o consumidor.

Para a análise dos resultados do teste de preferência utilizou-se o método de FRIEDMAN, conforme citação em FERREIRA (2000). A soma das ordens recebidas por cada amostra foi comparada com os valores da Tabela de NEWELL e MACFARLANE para determinar se as amostras diferiam significativamente entre si. As amostras com as menores somas foram as mais preferidas (FERREIRA *et al.*, 2000).

AVALIAÇÃO SENSORIAL DE QUEIJO PRATO

Nome: _____ Data: _____

Você irá receber 3 amostras codificadas de queijo prato. Avalie as amostras da esquerda para a direita, uma de cada vez. Responda as questões a seguir, usando a escala correspondente:

a) Dê uma nota que indique o quanto você gostou ou desgostou da APARÊNCIA do QUEIJO usando a escala abaixo:

- 9- Gostei extremamente
- 8-
- 7-
- 6-
- 5- Nem gostei/nem desgostei
- 4-
- 3-
- 2-
- 1- Desgostei extremamente

AMOSTRA

VALOR DA ESCALA

b) Como você avalia A DUREZA (que é a força necessária para romper o queijo na primeira mordida) em relação ao que você gosta?

- 7- Muito mais duro do que eu gosto
- 6-
- 5-
- 4- Está do jeito que eu gosto
- 3-
- 2-
- 1- Muito menos duro do que eu gosto

AMOSTRA

VALOR DA ESCALA

c) Como você avalia CREMOSIDADE do produto NA BOCA (durante a mastigação) em relação ao que você gosta?

- 7- Muito mais cremoso do que eu gosto
- 6-
- 5-
- 4- Está do jeito que eu gosto
- 3-
- 2-
- 1- Muito menos cremoso do que eu gosto

AMOSTRA

VALOR DA ESCALA

Continua na próxima página

d) Indique o quanto você gostou ou desgostou do SABOR usando a escala abaixo:

- 9- Gostei extremamente
- 8-
- 7-
- 6-
- 5- Nem gostei/nem desgostei
- 4-
- 3-
- 2-
- 1-Desgostei extremamente

AMOSTRA

VALOR DA ESCALA

e) Como você avalia A ACIDEZ do produto em relação ao que você gosta?

- 7- Muito mais ácido do que eu gosto
- 6-
- 5-
- 4- Está do jeito que eu gosto
- 3-
- 2-
- 1- Muito menos ácido do que eu gosto

AMOSTRA

VALOR DA ESCALA

f) Indique o quanto você gostou ou desgostou do SABOR RESIDUAL (sabor que fica na boca) usando a escala abaixo:

- 9- Gostei extremamente
- 8-
- 7-
- 6-
- 5- Nem gostei/nem desgostei
- 4-
- 3-
- 2-
- 1-Desgostei extremamente

AMOSTRA

VALOR DA ESCALA

g) Ordene as amostras quanto a preferência:

+ preferida

- preferida

Comentários:

Figura 4.4. - Ficha utilizada para avaliação de aceitabilidade do queijo Prato.

4.2.12. Delineamento experimental

O delineamento estatístico adotado para o desenvolvimento da tese foi split-plot em blocos. O bloco foi a batelada de leite a ser processado, as parcelas foram os tratamentos aplicados e a sub-parcela o tempo de maturação. Foram realizados três experimentos em datas diferentes sendo que os tratamentos foram aleatorizados quanto à sequência de produção. Os três tratamentos avaliados foram: (1) queijo controle, fabricado pelo método tradicional para queijo Prato; (2) queijo Prato fabricado com a adição de *slurry* ao leite, juntamente com o fermento e (3) queijo Prato fabricado com a adição de *slurry* ao coágulo dessorado, antes da pré-prensagem.

Os queijos foram analisados após 1, 7, 14, 21, 28 e 40 dias de maturação. O efeito dos tratamentos, do tempo de maturação, bem como da interação entre os tratamentos e o tempo de maturação sobre as características estudadas foi avaliado por análise de variância (ANOVA) de acordo com esse delineamento. Os cálculos foram realizados com auxílio do programa estatístico SAS[®], versão 8e (SAS Institute, Inc, Cary, NC).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Caracterização do *slurry* de queijo Prato

A composição média do leite utilizado nos três processamentos para fabricação do coágulo fermentado salgado do queijo Prato, utilizado na fabricação do *slurry*, é apresentada na Tabela 5.1. Observa-se que o leite apresentou composição normal e encontrava-se dentro dos padrões de qualidade estabelecidos pelo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (1997).

Tabela 5.1. Composição média e desvios padrões (n=3) do leite utilizado para fabricação do coágulo de queijo Prato fermentado salgado utilizado na fabricação do *slurry*.

Determinações	Média	±	DP
pH	6,77	±	0,01
Acidez (°D)	16	±	1
Densidade (g/cm ³ a 15°C)	1,03	±	0,04
Sólidos Totais (%)	11,5	±	0,3
Gordura (%)	3,4	±	0,1
Proteína Total (%)	3,2	±	0,3
NS pH 4,6 (%)	0,10	±	0,01
NS TCA 12% (%)	0,03	±	0,00
Cinzas (%)	0,72	±	0,02

A composição média dos *slurries* obtidos nos três processamentos, no tempo zero, referente ao dia de fabricação do *slurry*, é apresentada na Tabela 5.2. Observa-se que os *slurries* apresentaram composição semelhante nos três processamentos. Além disso, a composição média dos *slurries* de queijo Prato foi similar à composição de *slurry* de queijo Cheddar obtido por KRISTOFFERSEN *et al.* (1967), que apresentou 41,5% de sólidos totais, 21,5% de gordura, 5,47% de sal na umidade e pH variando de 5,1 a 5,2.

Tabela 5.2. Composição do *slurry* obtido nos três processamentos no dia da fabricação (tempo zero).

Determinações	Processamento 1	Processamento 2	Processamento 3	Valor mais provável
pH	5,46	5,33	5,47	5,42 ± 0,08
Umidade* (%)	64,44	61,37	59,08	62 ± 3
Sólidos Totais (%)	35,56	38,63	40,92	38 ± 3
Gordura (%)	19,40	19,17	20,07	19,5 ± 0,5
NT (%)	2,07	1,81	2,05	2,0 ± 0,1
NS pH 4,6 (%)	0,16	0,16	0,16	0,16 ± 0,00
NS TCA 12% (%)	0,04	0,06	0,07	0,06 ± 0,02
Sal na Umidade (%)	5,10	5,12	5,16	5,13 ± 0,03
Cinzas (%)	4,75	4,54	4,27	4,5 ± 0,2

* Calculada por diferença (100-EST)

Após 7 dias de maturação a 30°C, os *slurries* apresentaram, em média, $60 \pm 2\%$ de umidade, $19,8 \pm 0,8\%$ de gordura, $4,5 \pm 0,1\%$ de cinzas e $5,4 \pm 0,2\%$ de sal na umidade. O conteúdo de umidade decresceu significativamente ($p=0,0227$) durante a maturação do *slurry*. Entretanto, o teor de gordura ($p = 0,5409$), de cinzas ($p = 0,3477$) e de sal na umidade ($p = 0,1276$) não foram significativamente afetados pelo período de maturação. A perda de umidade observada foi provavelmente resultado da evaporação durante a incubação a alta temperatura (30°C), associada à agitação diária. A perda média de umidade das amostras foi de 2,33% e foi menor do que a observada por RAMASAMY *et al.* (1996) para *slurry* de queijo Cheddar e por MAGDOUB *et al.* (1991) para *slurry* de queijo Ras, cujas perdas foram de 4,2 e 4,51%, respectivamente.

A Tabela 5.3. apresenta as características acompanhadas durante a maturação dos *slurries* obtidos nos processamentos 1, 2 e 3.

Tabela 5.3. Característica do *slurry* durante o período de maturação.

Processamento	Determinações	Tempo de maturação (dias)			
		0	3	5	7
Processamento 1	pH	5,46	5,63	5,38	5,26
	NT (%)	2,07	2,02	2,06	2,04
	NS-pH 4,6 (% NT)	7,98	12,07	14,77	15,95
	NS-TCA 12% (% NT)	2,11	4,69	5,72	7,42
	NS-pH 4,6 (mg leu/g queijo)	0,56	2,99	3,12	5,80
Processamento 2	pH	5,33	5,37	5,43	5,40
	NT (%)	1,81	2,15	1,90	1,91
	NS pH 4,6 (% NT)	8,92	11,66	13,48	15,37
	NS TCA 12% (% NT)	3,54	5,04	7,24	7,52
	NS-pH 4,6 (mg leu/g queijo)	1,72	4,92	5,73	7,30
Processamento 3	pH	5,47	5,37	5,75	5,51
	NT (%)	2,05	2,00	1,94	2,00
	NS pH 4,6 (% NT)	8,09	11,08	13,36	15,72
	NS TCA 12% (% NT)	3,70	5,51	5,97	8,05
	NS-pH 4,6 (mg leu/g queijo)	1,45	3,44	4,27	5,62

O tempo de maturação não afetou significativamente ($p = 0,5970$) o pH dos *slurries* (Figura 5.1), o qual apresentou-se dentro da faixa típica para queijo Prato, com valores médios variando de 5,38 a 5,52. Segundo KRISTOFFERSEN *et al.* (1967), o pH de *slurries* fabricados com adição de glutatona permaneceram constantes e em torno de 5,2 durante o período de maturação. Embora segundo SINGH & KRISTOFFERSEN (1970), um ligeiro aumento de pH, de 0,1 a 0,2 seja considerado normal durante a maturação de *slurries*, um ligeiro decréscimo, de 0,28 e 0,5 unidades de pH, foi observado durante a maturação de *slurry* de queijo Cheddar fabricado com leite de búfala (THAKAR, 1985, citado por THAKAR & UPADHYAY, 1992) e de *slurry* de queijo Cheddar fabricado com leite de vaca (RAMAZAMY *et al.*, 1996), respectivamente.

O tempo de maturação não afetou significativamente o nitrogênio total das amostras ($p = 0,6684$), entretanto o NS-pH 4,6 ($p = 0,0001$) e o NS-TCA12% ($p = 0,0002$) aumentaram significativamente durante o período de maturação, indicando intensa atividade proteolítica dos *slurries*. O nitrogênio solúvel a pH 4,6, o qual reflete a proporção das moléculas de proteínas decompostas, predominantemente em grandes peptídeos aumentou, em média, aproximadamente 94% (Figura 5.2) durante o período de maturação. Esse aumento foi inferior aos observados por RAMAZAMY *et al.* (1996) para *slurry* de Cheddar e por MAGDOUB *et al.* (1991) para *slurry* de queijo Ras, que obtiveram aumento de 228 e 195% no nitrogênio solúvel a pH 4,6, respectivamente.

O nitrogênio solúvel em TCA 12%, o qual reflete os produtos obtidos da degradação de grandes peptídeos previamente obtidos, aumentou aproximadamente 150% (Figura 5.3). Esta porcentagem de aumento é superior à obtida por THAKAR (1985) citado por THAKAR & UPADHYAY (1992) para *slurry* de queijo Cheddar fabricado com leite de búfala, que foi de 117%. Entretanto, é inferior ao aumento de 243% obtido por MAGDOUB *et al.* (1991) para *slurry* de queijo Ras.

Embora os *slurries* desse trabalho tenham sido preparados utilizando-se a mesma metodologia que RAMAZAMY *et al.* (1996) e MAGDOUB *et al.* (1991), as diferenças apresentadas pelos *slurries* na porcentagem de aumento das frações nitrogenadas solúveis a pH 4,6 e em TCA 12% são justificadas, por exemplo, em função dos diferentes tipos de queijos utilizados como base para a fabricação do *slurry*. Neste estudo trabalhou-se com queijo Prato, fabricado com coalho bovino em pó (Chr. Hansen, ref. St 600). Nos outros dois estudos os autores trabalharam com queijo Cheddar, sendo que MAGDOUB *et al.* (1991) utilizaram coalho de renina em pó e RAMAZAMY *et al.* (1996) não informaram o tipo de coalho utilizado. Além disso, neste estudo utilizou-se fermento láctico mesofílico tipo LD,

constituído de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* e *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, enquanto RAMAZAMY *et al.* (1996) utilizaram cultura de *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* e MAGDOUB *et al.* (1991) utilizaram fermento constituído de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, além de enzimas proteolíticas de bactérias psicrófilas.

A fração nitrogenada solúvel em pH 4,6, determinada por reação colorimétrica com ninidrina-cádmio (mg leucina/g queijo) aumentou significativamente ($p < 0,0001$) durante o período de maturação (Figura 5.4). Além disso, no mesmo período, o *slurry* de queijo Prato apresentou sabor característico do queijo. O desenvolvimento de sabor característico também foi observado para os *slurries* de queijos Cheddar por KRISTOFFERSEN *et al.* (1967), para queijo Suíço por SINGH, V.K. & KRISTOFFERSEN (1971) e para queijo Ras por MAGDOUB *et al.* (1991).

O desenvolvimento da proteólise e do sabor característico do queijo Prato indicaram que este produto poderia ser utilizado como uma fonte de enzimas e microrganismos para melhorar o flavor e acelerar a maturação do queijo Prato.

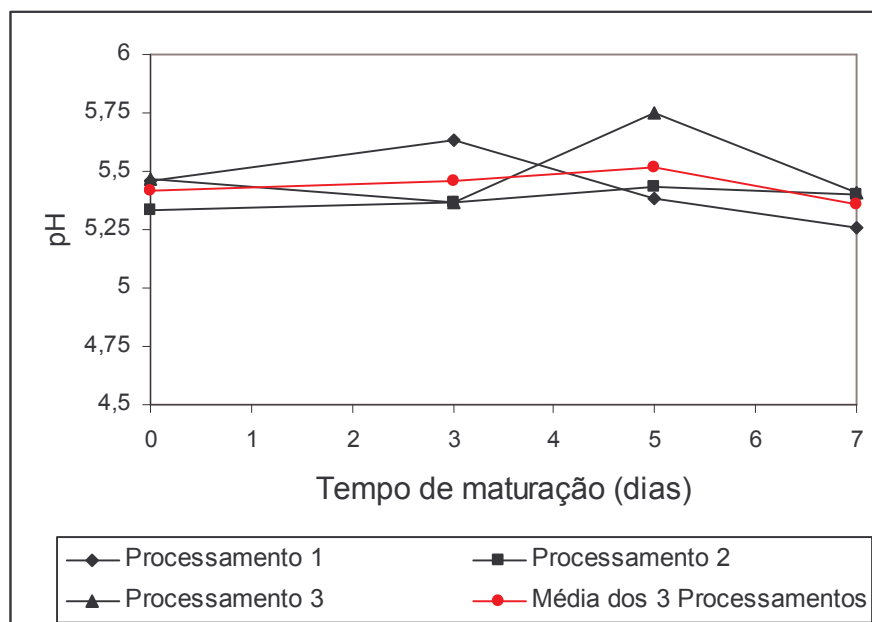


Figura 5.1. Efeito do tempo de maturação do slurry sobre o pH.

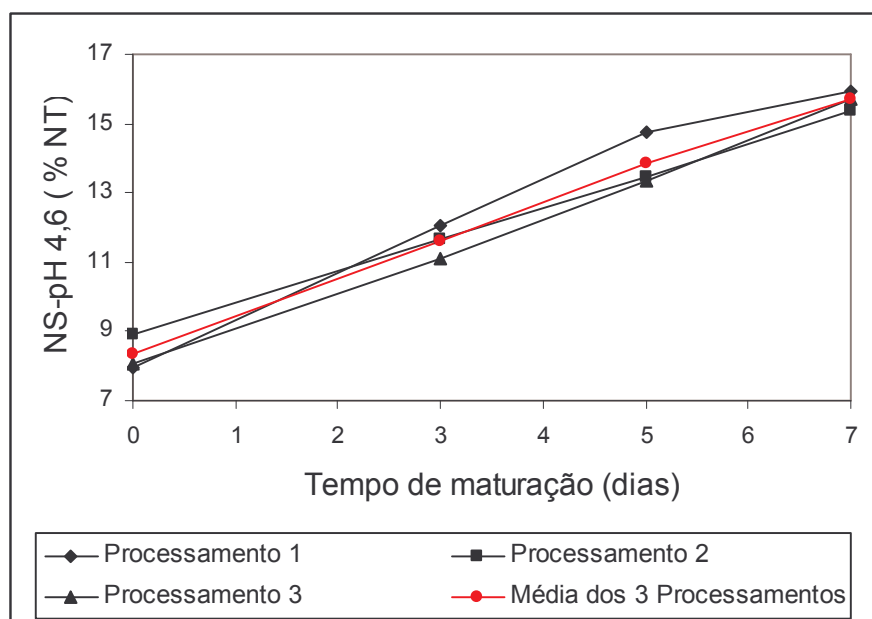


Figura 5.2. Efeito do tempo de maturação do slurry sobre o NS a pH 4,6.

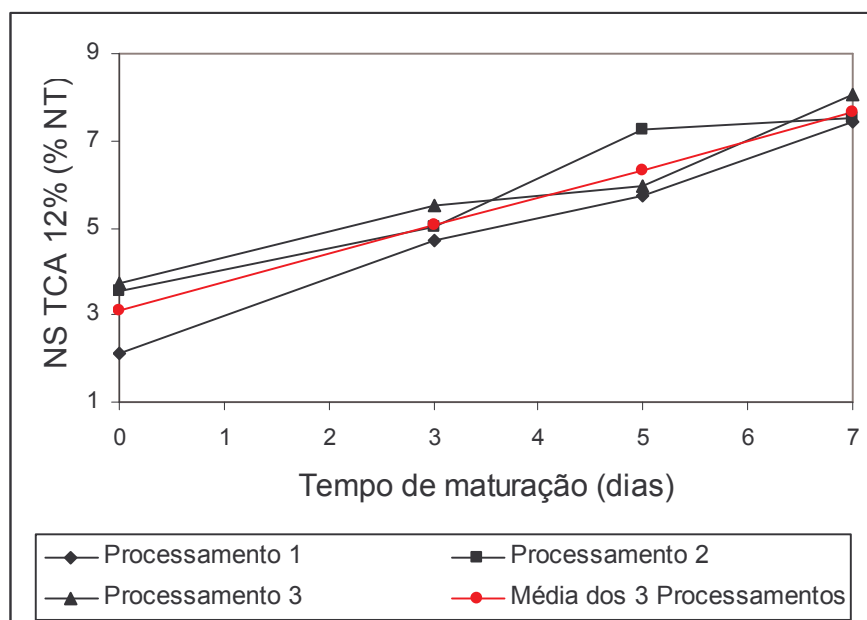


Figura 5.3. Efeito do tempo de maturação do *slurry* sobre o teor de NS em TCA 12%.

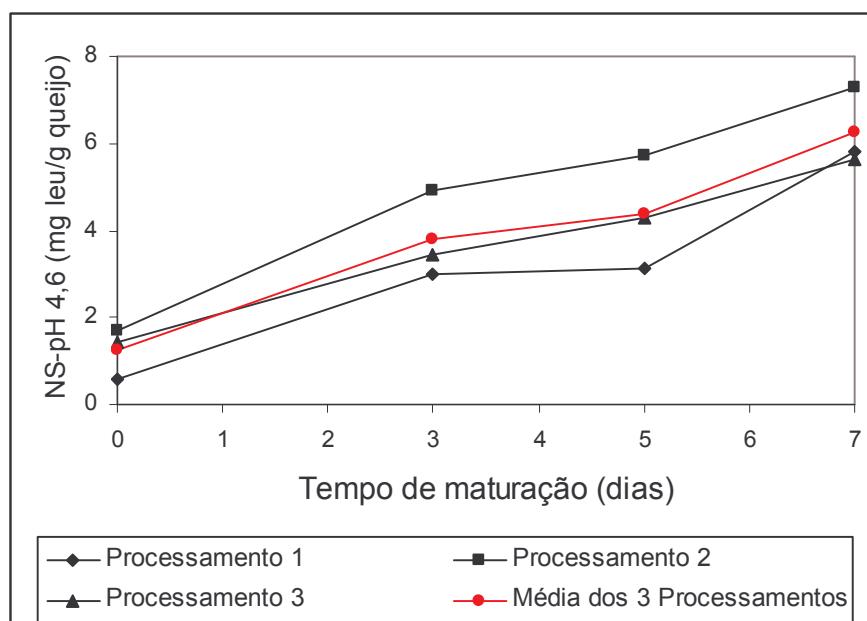


Figura 5.4. Efeito do tempo de maturação do *slurry* na fração nitrogenada solúvel em pH-4,6, determinada por reação colorimétrica com ninidrina-cádmio (mg leucina/g queijo).

5.2. Caracterização do queijo Prato

O leite utilizado na fabricação dos queijos, apresentou composição média característica, com teores médios de sólidos totais, gordura, proteína e cinzas de 11,70, 3,46, 3,03 e 0,69%, respectivamente. Os valores de pH e acidez titulável foram 6,76 e 15,96 °D, respectivamente.

A Tabela 5.4 apresenta a composição média dos queijos controle e obtidos com adição de *slurry* ao leite ou ao coágulo e as Figuras 5.5 e 5.6 apresentam o desenvolvimento do pH e da acidez dos queijos durante o período de maturação, respectivamente.

Tabela 5.4. Composição média dos queijos obtidos nos três processamentos.

	Queijo controle	Queijo obtido com adição de <i>slurry</i> ao leite	Queijo obtido com adição de <i>slurry</i> ao coágulo
pH	5,4 ± 0,2	5,39 ± 0,07	5,35 ± 0,01
Umidade (%)	44,9 ± 0,2	45,1 ± 0,2	45,2 ± 0,6
Gordura (%)	28 ± 1	28 ± 2	27,3 ± 0,3
Proteína total* (%)	19,7 ± 0,1	19,60 ± 0,05	19,7 ± 0,1
NS-pH 4,6 (%)	0,30 ± 0,02	0,32 ± 0,01	0,32 ± 0,02
NS-TCA 12% (%)	0,10 ± 0,02	0,13 ± 0,00	0,13 ± 0,01
Cinzas (%)	4,0 ± 0,1	4,0 ± 0,4	3,91 ± 0,05
Sal (%)	2,1 ± 0,2	2,2 ± 0,2	1,82 ± 0,01
Sal na Umidade (%)	4,6 ± 0,4	4,8 ± 0,5	4,03 ± 0,01

* NT x 6,38

Observa-se na Tabela 5.4 que, imediatamente após a fabricação, os queijos controle e obtidos com adição de *slurry* ao leite ou ao coágulo apresentaram composição química semelhante, entretanto, com teor de umidade e sal ligeiramente superiores ao usualmente observado para queijo Prato. Os queijos adicionados de *slurry* ao leite e ao coágulo, apresentaram umidade ligeiramente maior que o queijo controle (0,2 e 0,3%, respectivamente). DULLEY (1976) &

CONNER (1988), já haviam observado aumento de umidade em torno de 2%, quando os queijos eram adicionados de *slurry*. Além disso, segundo o Regulamento Técnico de Identidade dos Queijos (Portaria nº 146 do Ministério da Agricultura e abastecimento), os queijos classificados como com teor médio de umidade (queijos de massa semi-dura) podem apresentar umidade variando de 36 a 45,9%. Segundo FURTADO & LOURENÇO-NETO (1994) o queijo Prato deve apresentar de 42 a 44% de umidade, 26 - 29% de gordura, 1,6 a 1,9% de sal. Os queijos Prato obtidos em estudos conduzidos por BALDINI (1998) e SILVA (1998) apresentaram, respectivamente 40,37 e 40,97% de umidade, 31,87 e 32,28% de gordura e 1,77 e 1,42% de sal.

O tempo de maturação afetou significativamente o pH ($p=0,0109$) e a acidez titulável ($p<0,0001$) dos queijos obtidos (Figuras 5.5 e 5.6). Os valores de pH encontram-se dentro, ou próximo da faixa esperada para esse tipo de queijo, variando de 5,2 a 5,4 (Furtado & LOURENÇO-NETO, 1994). Com relação à acidez titulável, observa-se que o queijo controle apresentou acidez titulável dentro da faixa esperada para esse tipo de queijo, que é de 0,73 a 0,82 (WOLFSCHOON-POMBO, 1983) do 1º ao 40º dia de maturação. Por outro lado, os queijos obtidos com adição de *slurry* ao leite ou ao coágulo apresentaram acidez maior que a usualmente esperada para esse tipo de queijo, entretanto, os tratamentos não afetaram significativamente o pH ($p=0,6766$) e a acidez titulável ($p=0,3818$) dos queijos. O maior valor de acidez desses queijos deve-se, provavelmente, às características do *slurry* adicionado, que apresentava pH de aproximadamente 5,4.

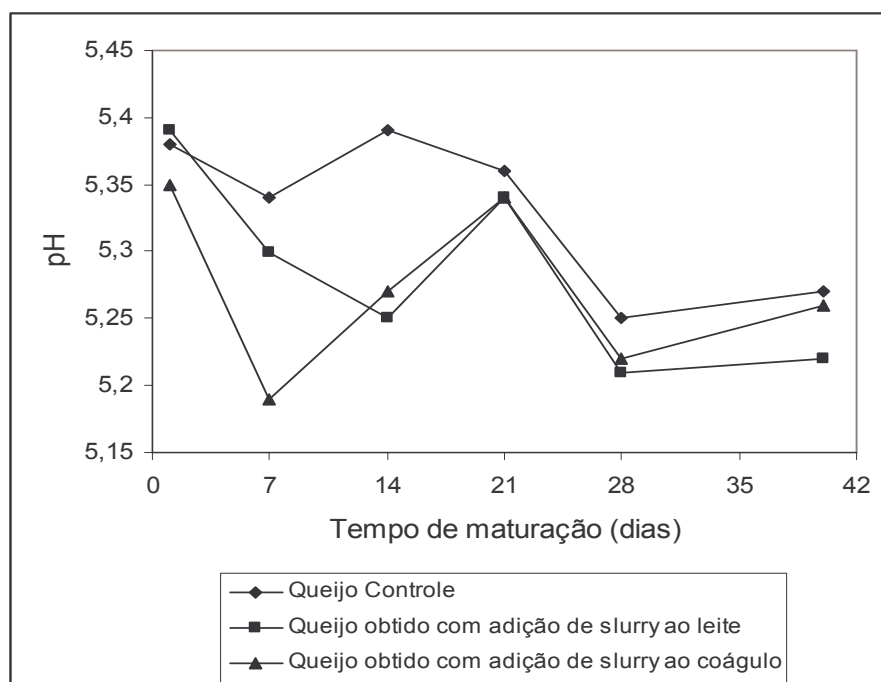


Figura 5.5. Desenvolvimento do pH dos queijos durante o período de maturação.

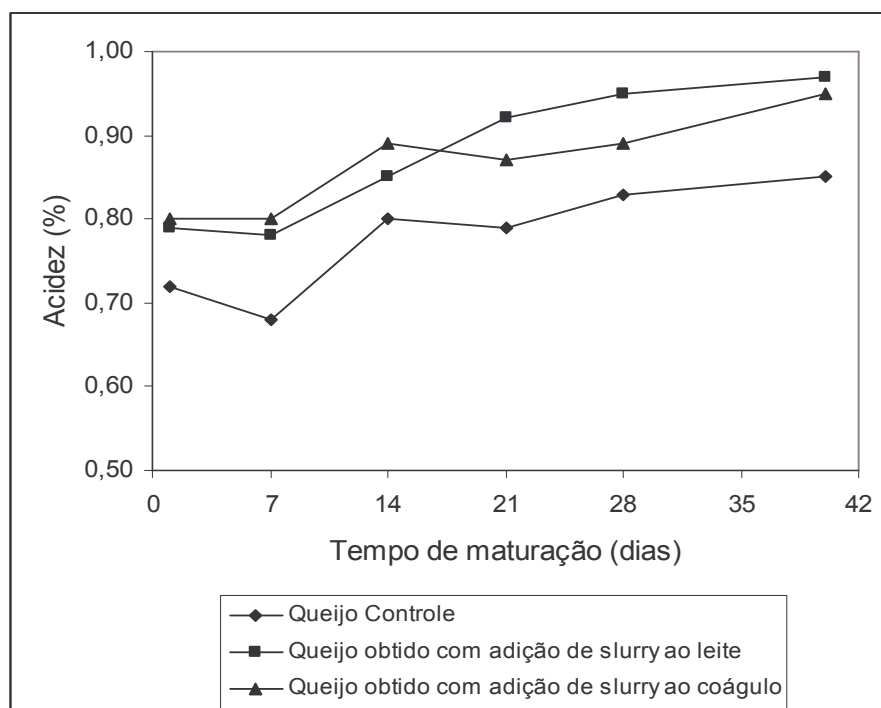


Figura 5.6. Desenvolvimento da acidez dos queijos durante o período de maturação.

5.3. Efeito da adição do *slurry* no desenvolvimento da proteólise dos queijos

Durante a maturação dos queijos, a proteína é hidrolisada por enzimas proteolíticas em diversos produtos, variando desde grandes peptídeos a aminoácidos livres e mesmo amônia. A proporção desses respectivos produtos pode variar amplamente em função do tipo de queijo considerado, e, para um mesmo tipo de queijo, em função das condições de processamento e maturação (LAWRENCE *et al.*, 1987; FOX & LAW, 1991).

As Tabelas 5.5 e 5.6 apresentam, respectivamente, os índices de extensão (IEM) e profundidade (IPM) de maturação para os queijos controle e adicionados de *slurry* ao leite ou ao coágulo, durante o período de maturação.

Tabela 5.5. Índice médio de extensão de maturação (IEM*) dos queijos obtidos nos 3 processamentos.

Tempo de Maturação (dias)	Queijo controle	Queijo obtido com adição de <i>slurry</i> ao leite	Queijo obtido com adição de <i>slurry</i> ao coágulo
1	10 ± 1	10,5 ± 0,7	10 ± 1
7	10,6 ± 0,9	12 ± 1	11 ± 1
14	12,6 ± 0,3	13,4 ± 0,9	13,1 ± 0,9
21	14 ± 2	15 ± 2	14 ± 2
28	14,4 ± 0,7	15 ± 1	15 ± 2
40	16 ± 1	19 ± 3	17 ± 3

*IEM = $\text{NS-pH}_{4,6}/\text{NT} \times 100$ (%)

Tabela 5.6. Índice médio de profundidade de maturação (IPM*) dos queijos obtidos nos 3 processamentos.

Tempo de Maturação (dias)	Queijo controle	Queijo obtido com adição de <i>slurry</i> ao leite	Queijo obtido com adição de <i>slurry</i> ao coágulo
1	3,4 ± 0,8	4,2 ± 0,2	4,4 ± 0,3
7	4,1 ± 0,5	5,2 ± 0,4	5,2 ± 0,4
14	5,3 ± 0,7	6,6 ± 0,3	6,8 ± 0,4
21	5,9 ± 0,9	7,0 ± 0,5	7,5 ± 0,4
28	6,6 ± 0,5	7,7 ± 0,1	7,9 ± 0,5
40	8 ± 1	10,2 ± 0,8	11 ± 2

*IPM = NS-TCA12%/NT x 100 (%)

O tempo de maturação afetou significativamente ($p < 0,0001$) o IEM, o qual aumentou durante os 40 dias de maturação dos queijos (Figura 5.7). Entretanto, os tratamentos, ou seja, a adição de *slurry* ao leite ou ao coágulo, não afetaram significativamente ($p = 0,2201$) o IEM. Este índice reflete a proporção de moléculas de proteínas que foram decompostas, predominantemente em grandes peptídeos, a partir da degradação da caseína por ação do agente coagulante e de proteinases naturais do leite. A quantidade residual de coagulante no queijo, é especialmente afetada pelo pH e pelo tratamento térmico da mistura coágulo/soro durante a fabricação (STADHOUDER & HUP, 1975). Valores típicos de quimosina retida nos queijos variam de 0%, para queijos submetidos a altas temperaturas durante o processo de fabricação, como por exemplo Mussarela, Parmesão e Emmental, a 6% para queijo Cheddar e 20% para queijos de alta umidade e baixa temperatura de cozimento, como o queijo Camembert (FOX *et al.*, 2000). Para o queijo Gouda, que é similar ao queijo Prato, os teores residuais de coalho na massa são de 10% (VISSER, 1993).

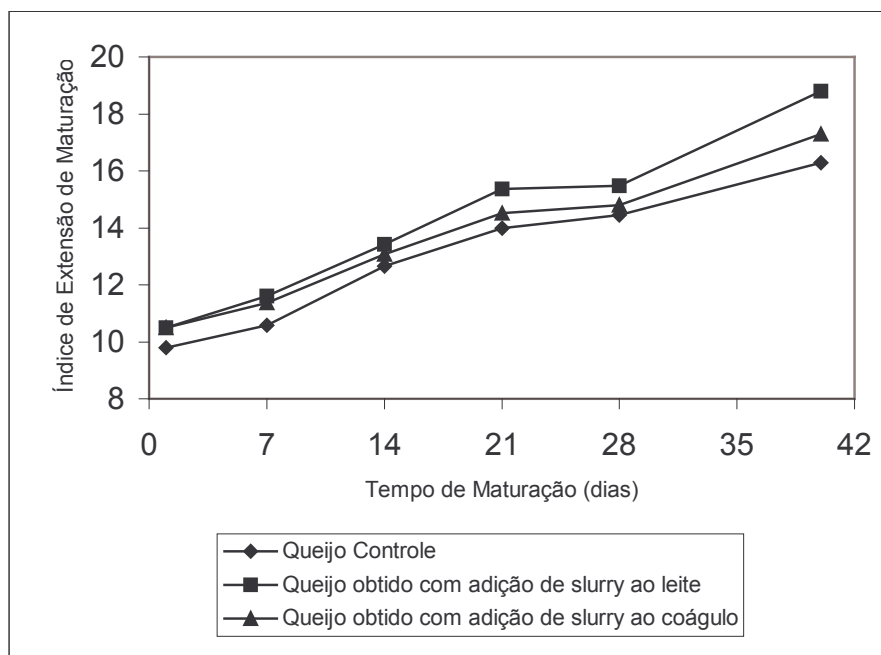


Figura 5.7. Efeito do tempo de maturação sobre o índice de extensão de maturação.

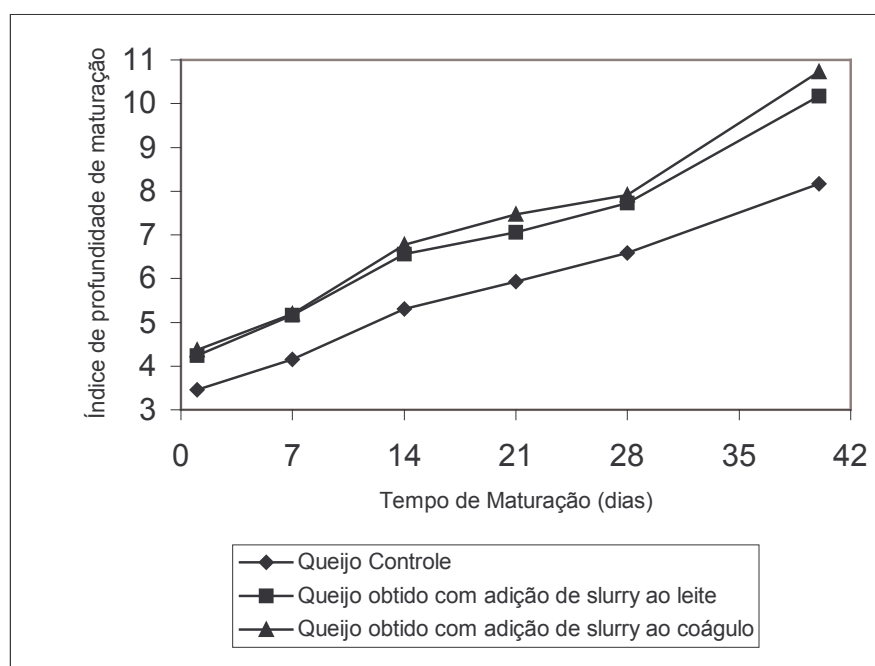


Figura 5.8. Efeito do tempo de maturação sobre o índice de profundidade de maturação.

A atividade proteolítica nos queijos é determinada principalmente pelos níveis presentes de coalho residual e proteínas nativas do leite, pela concentração de sal na umidade, pela temperatura de maturação, pelo tipo de coagulante usado e pelas mudanças no pH durante a maturação (LAWRENCE *et al.*, 1987). A influência de todos esses fatores justifica plenamente os diferentes valores de IEM encontrados na literatura para o queijo Prato. Por exemplo, WOLFSCHOON-POMBO (1983) encontrou valores que variaram de 5,1 a 8,2 para queijo Prato após 4 dias de maturação e de 11,9 a 14, após 30 dias de maturação. Durante um período de maturação de 40 dias, o índice de extensão de maturação observado variou de 7,08 a 14,33 (Silva, 1998), de 6,84 a 13,89 (BALDINI, 1998) e de 12 a 31 (COSTA-JÚNIOR & PINHEIRO, 1998), o que representou aumentos de aproximadamente 102, 103 e 158%, respectivamente. No presente estudo, os índices de extensão de maturação variaram, em média, de 9,78 a 16,28 para os queijos controles, de 10,49 a 18,79 para queijos fabricados com adição de *slurry* ao leite e de 10,49 a 17,29 para os queijos fabricados com adição de *slurry* ao coágulo (Figura 5.7). Esses valores representaram aumento médio de aproximadamente 67, 80 e 64% no índice de extensão de maturação durante 40 dias, para os queijos controle e para os queijos fabricado com adição de *slurry* ao leite ou ao coágulo, respectivamente.

O índice de profundidade de maturação reflete a formação de substâncias de baixo peso molecular, entre os quais estão os aminoácidos, acumuladas durante o período de maturação, devido principalmente a ação proteolítica das enzimas microbianas sobre os compostos nitrogenados oriundos da degradação da caseína (WOLFSCHOON-POMBO & LIMA, 1989).

O tempo de maturação afetou significativamente ($p < 0,0001$) o índice de profundidade de maturação, o qual aumentou durante os 40 dias de maturação dos queijos (Figura 5.8). Entretanto, os tratamentos, ou seja, a adição de *slurry* ao leite ou ao coágulo, não afetaram significativamente, ($p=0,0663$) o índice de

profundidade de maturação. Porém, observa-se na Figura 5.8 que existe uma tendência que sugere uma maior proteólise quando o *slurry* foi adicionado, quer seja ao leite ou ao coágulo. Essa tendência é corroborada quando se avalia o efeito do tempo de maturação e dos tratamentos sobre a concentração de tirosina, triptofano e leucina solúveis nos queijos, que são apresentados nas Figuras 5.9, 5.10 e 5.11, respectivamente.

Os teores de tirosina ($p=0,0380$) e leucina ($p<0,0001$) aumentaram significativamente durante o tempo de maturação dos queijos, entretanto, o tempo de maturação não afetou significativamente ($p=0,8881$) a concentração de triptofano. Segundo VAKALERIS & PRICE, (1959), durante o processo de maturação, pode ocorrer a decomposição do triptofano por processos enzimáticos, que passa a não absorver mais na região do ultravioleta. Os tratamentos, ou seja, a adição de *slurry* ao leite ou ao coágulo, afetaram significativamente o teor de tirosina ($p = 0,0552$) e triptofano ($0,0231$) e não afetaram significativamente ($p = 0,1458$) o teor de leucina nos queijos.

Diferentes autores observaram diferentes índices de profundidade de maturação para o queijo Prato. Por exemplo, o IPM aumentou de 2,52 para 7,36 (SILVA, 1998) ou de 6,84 para 13,89 (BALDINI, 1998), após 40 dias de maturação. Esses valores representam aumentos médios de 192 e 103% no IPM depois de 40 dias. No presente estudo o IPM aumentou 136, 140 e 146% para o queijo controle e para os queijos adicionados de *slurry* ao leite ou ao coágulo, respectivamente.

Embora não sejam estatisticamente significantes a nível de 5%, os dados obtidos sugerem que a adição de *slurry* ao leite e ao coágulo acelera o desenvolvimento da proteólise e, conseqüentemente, a maturação dos queijos. Com base nos resultados desse trabalho, e no fato de que vários autores (KRISTOFFERSEN *et al.*, 1967; KOSIKOWSK & IWASAKI, 1975, SUTHERLAND, 1975; DULLEY, 1980; ABDEL-BAKY *et al.*, 1982; SINGH & KANAWJIA, 1988; SALUJA & SINGH, 1989; RABIE, 1989; KUMAR & TEWARI, 1990; CORSETTI *et*

al., 1998; PÉREZ *et al.*, 2002) observaram que a adição de *slurry* pode acelerar a maturação ou melhorar o sabor dos queijos aos quais são adicionados, acredita-se que estudos complementares devam ser conduzidos para o queijo Prato.

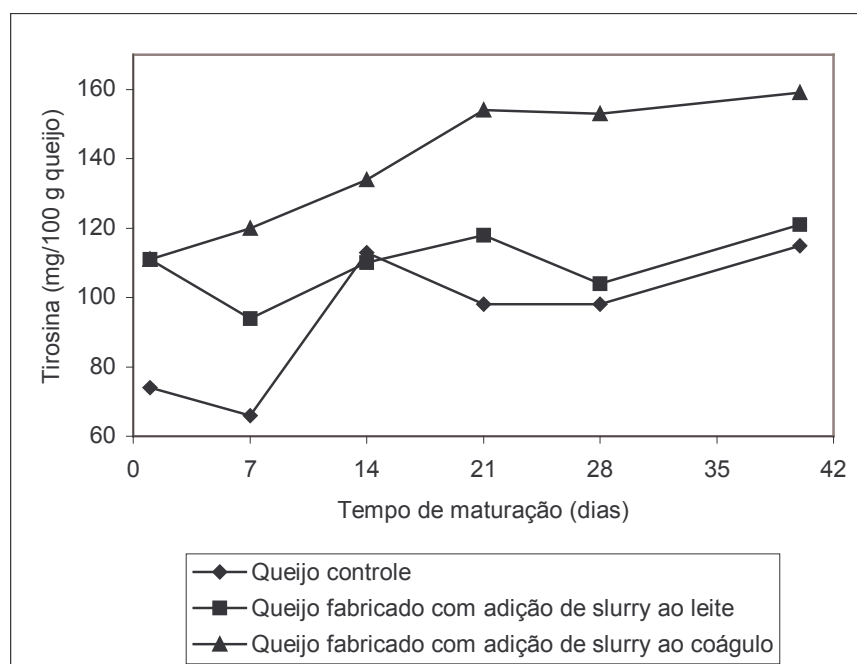


Figura 5.9. Efeito do tempo de maturação sobre a formação de tirosina solúvel.

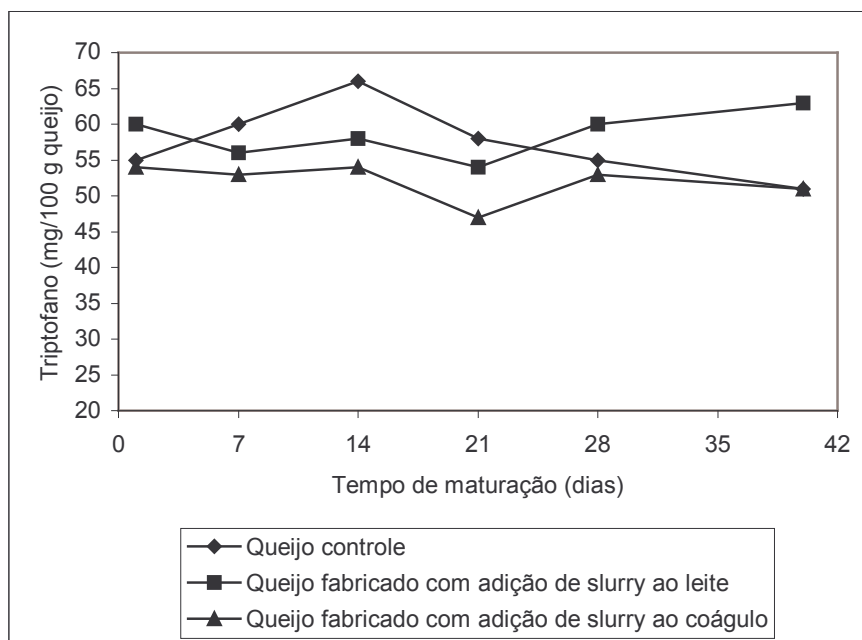


Figura 5.10. Efeito do tempo de maturação sobre a formação de triptofano solúvel.

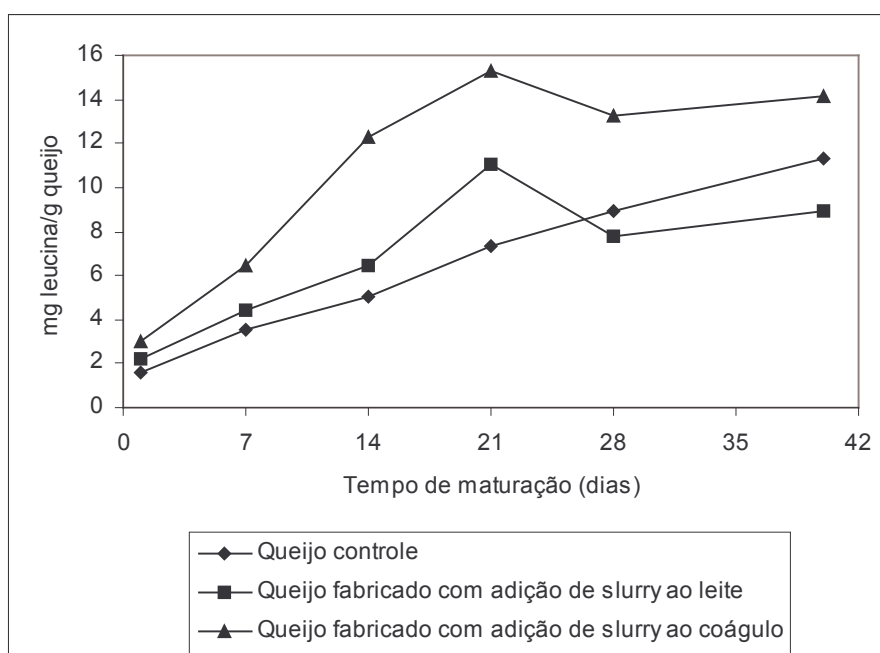


Figura 5.11. Efeito do tempo de maturação sobre a fração nitrogenada solúvel em pH - 4,6, determinada por reação colorimétrica com ninidrina-cádmio (mg leucina/g queijo).

5.4. Avaliação do perfil eletroforético das proteínas

A Figura 5.12 apresenta o perfil eletroforético dos queijos controle e obtidos com adição de *slurry* ao leite ou ao coágulo para o processamento 1. Os principais componentes da caseína (CN), bem como os produtos derivados da β -CN (fração γ -CN), via hidrólise pós-secreção por proteinases do leite, são claramente visíveis.

Observa-se que imediatamente após a fabricação, no 1º dia de maturação, já havia ocorrido uma degradação parcial da fração α_{s1} -CN (bandas 1, 2 e 3 da Figura 5.12 para queijos obtidos com adição de *slurry* ao leite, ao coágulo e queijo controle, respectivamente), característica esta observada pela formação de bandas de α_{s1} -I-CN advindas da ação do coalho durante o processamento. A α_{s1} -CN possui várias ligações peptídicas que são susceptíveis a quimosina, e são prontamente hidrolisadas em queijos como Cheddar (FOX & LAW, 1991), Prato (FOLEGATTI *et al.*, 1997) e Gouda (KRAUSE *et al.*, 2002). Observa-se ainda, que para o queijo obtido pela adição de *slurry* ao leite (Figura 5.12, banda 1) a banda de α_{s1} -I-CN aparece com intensidade ligeiramente maior. Essa diferença pode ser consequência da diferença do pH do leite durante o processo de fabricação, uma vez que a adição de *slurry* ao leite (pH~5,42) pode ter contribuído para a redução do pH durante o processo de fabricação do queijo, afetando consequentemente a ação da quimosina, a qual é, mais ativa a pH mais baixo (WATKINSON *et al.*, 2001).

O perfil eletroforético (Figuras 5.12) mostra claramente que durante a maturação houve um contínuo aumento no fragmento intermediário da caseína, a α_{s1} -I-CN, e uma concomitante redução da intensidade das bandas de α_{s1} -CN, indicando a hidrólise da mesma. Entretanto, após 40 dias de maturação, observa-se que a α_{s1} -I-CN não foi totalmente hidrolisada. O mesmo foi observado por MARCOS *et al.* (1979) que avaliou o comportamento eletroforético de 34

variedades de queijos europeus e observou a resistência às futuras degradações da α_{s1} -CN em queijos obtidos com leite de vaca e adição de renina.

Os resultados mostram o aparecimento das bandas de γ -CN, visíveis com 1 dia de maturação, evidenciando uma possível ação da plasmina, atuando sobre a hidrólise da β -CN. Embora a β -CN tenha sido visivelmente menos degradada que a α_{s1} -CN, o que também foi observado por outros autores para o queijo Prato (FOLEGATTI, 1997; BALDINI, 1998), observa-se uma diminuição da intensidade da banda de β -CN, especialmente após 21 dias de maturação. A β -CN é preferencialmente degradada pela plasmina e pelo sistema proteinase/peptidase produzido pelo fermento láctico (VISSER, 1981) e, segundo FOX & LAW (1991), embora a concentração de β -CN diminua durante a maturação de queijos maturados por bactérias lácticas, os β -peptídeos normalmente produzidos pela renina não aparecem, sugerindo que a plasmina e/ou proteinases bacterianas são responsáveis por hidrólises subseqüentes desses peptídeos.

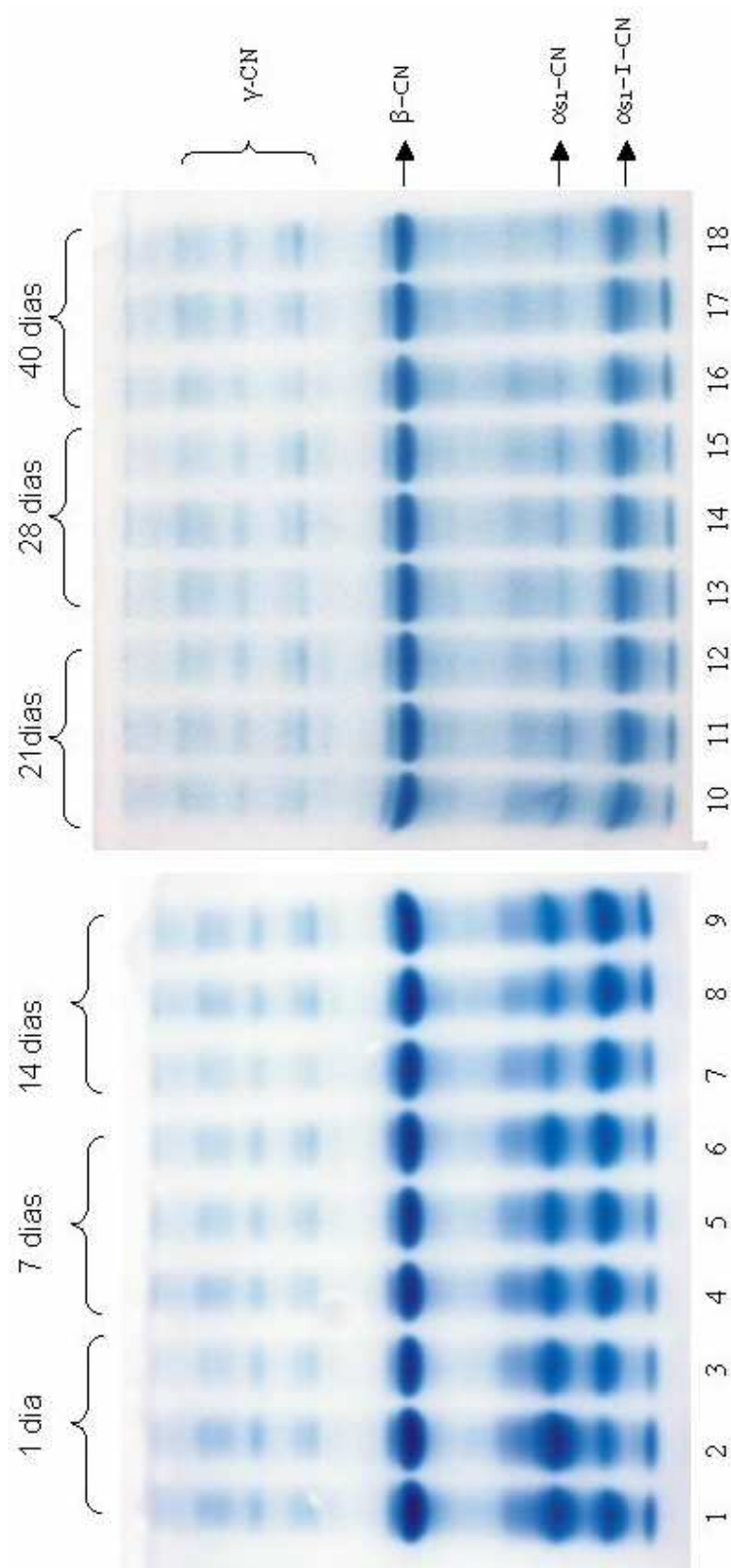


Figura 5.12. Perfil eletroforético dos queijos obtidos com adição de *slurry* ao leite ou ao coágulo e dos queijos controle durante o período de maturação. (Bandas 1, 4, 7, 10, 13 e 16: queijo obtido com adição de *slurry* ao leite com 1, 7, 14, 21, 28 e 40 dias de maturação, respectivamente; Bandas 2, 5, 8, 11, 14 e 17: queijo obtido com adição de *slurry* ao coágulo com 1, 7, 14, 21, 28 e 40 dias de maturação, respectivamente; Bandas 3, 6, 9, 12, 15 e 18: queijos controle com 1, 7, 14, 21, 28 e 40 dias de maturação, respectivamente).

O pH pode ter afetado o comportamento de degradação das frações α_{s1} -CN e β -CN dos queijos. Estudos em queijos modelos conduzidos por WATKINSON *et al.* (2001), demonstraram que a taxa relativa de degradação da α_{s1} -CN foi mais rápida no menor pH (pH 5,2), provavelmente devido à maior atividade da quimosina no menor pH, entretanto, no pH mais alto (pH 6,2), a taxa de degradação da β -CN foi maior, provavelmente devido à maior atividade da plasmina no mais alto pH. Os queijos obtidos nestes experimentos apresentaram pH variando de 5,2 a 5,4 (Figura 5.5), o qual é típico de queijo Prato (FURTADO E LOURENÇO-NETO, 1994) e encontra-se na faixa de maior degradação da α_{s1} -CN (WATKINSON *et al.*, 2001).

A concentração de sal dos queijos também influencia a estrutura da fração caseína e, conseqüentemente, a sua proteólise da caseína, que é dependente tanto da especificidade das enzimas como da acessibilidade das ligações peptídicas à ação das enzimas (FOX *et al.*, 2000). A relação entre a taxa de degradação da α_{s1} -CN e da β -CN e o teor de sal na umidade é praticamente linear, sendo que a taxa de degradação diminui com o aumento do teor de sal (LAWRENCE *et al.*, 1987). Segundo THOMAS (1981), citado por LAWRENCE *et al.* (1987), quando queijo Cheddar foi maturado por 28 dias com 4, 6 e 8% de sal na umidade, a degradação de α_{s1} -CN foi de 95, 70 e 40% respectivamente, enquanto a β -CN foi degradada nas proporções de 50, 20 e 5%, respectivamente. Já segundo AWAD *et al.* (1998) o aumento da concentração de NaCl para $\geq 5\%$ reduziu a proteólise da β -CN, mas não da α_{s1} -CN. O teor de sal na umidade dos queijos obtidos no primeiro experimento, cujo perfil eletroforético é apresentado na Figura 5.12, é de 4,20% para o queijo controle, 4,38% para o queijo obtido com adição de *slurry* ao leite e 4,03% para o queijo obtido com adição de *slurry* ao coágulo, o que indica que o teor de sal dos queijos provavelmente não afetou distintamente a intensidade da proteólise dos queijos.

5.5. Efeito da adição de *slurry* no perfil de textura dos queijos.

As Figuras 5.13, 5.14, e 5.15 apresentam, respectivamente, o efeito do tempo de maturação e dos tratamentos sobre as características de firmeza, elasticidade e coesividade dos queijos, obtidos através do Perfil de Textura Instrumental (TPA). A firmeza TPA é a força necessária para o produto atingir uma dada deformação. A elasticidade TPA é a velocidade com que o material deformado volta a sua condição original, após ser retirada a força deformante. E a coesividade TPA é a força necessária para que o dispositivo usado na compressão se desloque da amostra.

Através da avaliação estatística, verificou-se que o tempo de maturação afetou significativamente a firmeza ($p = 0,0524$), a elasticidade ($p = 0,0030$) e a coesividade dos queijos ($0,0017$). Os tratamentos, ou seja, a adição de *slurry* ao leite ou ao coágulo, não afetaram significativamente a firmeza ($p = 0,1064$), a elasticidade ($p = 0,1037$) e a coesividade ($p=0,1062$) dos queijos. Entretanto, a interação entre os tratamentos e o tempo de maturação afetou significativamente a firmeza ($p = 0,0154$) e a coesividade ($p=0,0493$) dos produtos. O efeito principal de um fator somente pode ser interpretado individualmente se não houver nenhuma evidência de que o fator interage com outro. Se a interação entre dois fatores foi significativa, a análise deve ser feita conjuntamente. Desta forma, os efeitos significativos a serem discutidos incluem o efeito da interação entre os tratamentos e o tempo de maturação para a firmeza e a coesividade, bem como o efeito do tempo de maturação para a elasticidade dos queijos.

No que diz respeito à firmeza dos produtos obtidos, observa-se na Figura 5.13, que o queijo controle teve um comportamento típico da maturação de queijo Prato, ou seja, uma redução da firmeza ao longo da maturação, também observada por outros autores (SILVA, 1998; SPADOTI, 2003, DORNELLAS, 2003). Para o queijo obtido com adição de *slurry* ao coágulo, observou-se um

comportamento semelhante ao controle, entretanto, com menor redução da firmeza, embora ambos os queijos, tenham apresentado firmeza praticamente idêntica após um dia de maturação.

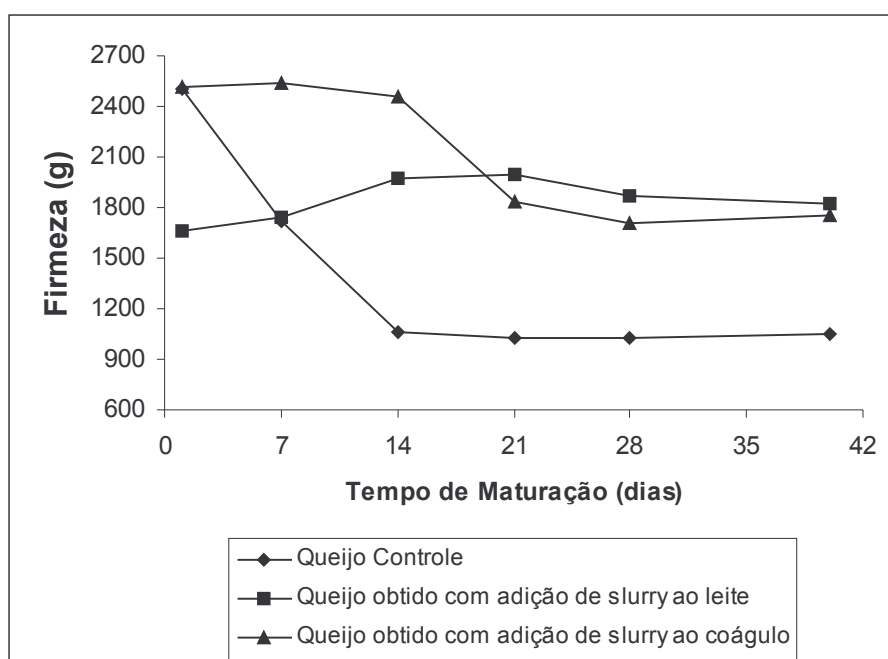


Figura 5.13. Firmeza média ($n = 3$) dos queijos durante o período de maturação.

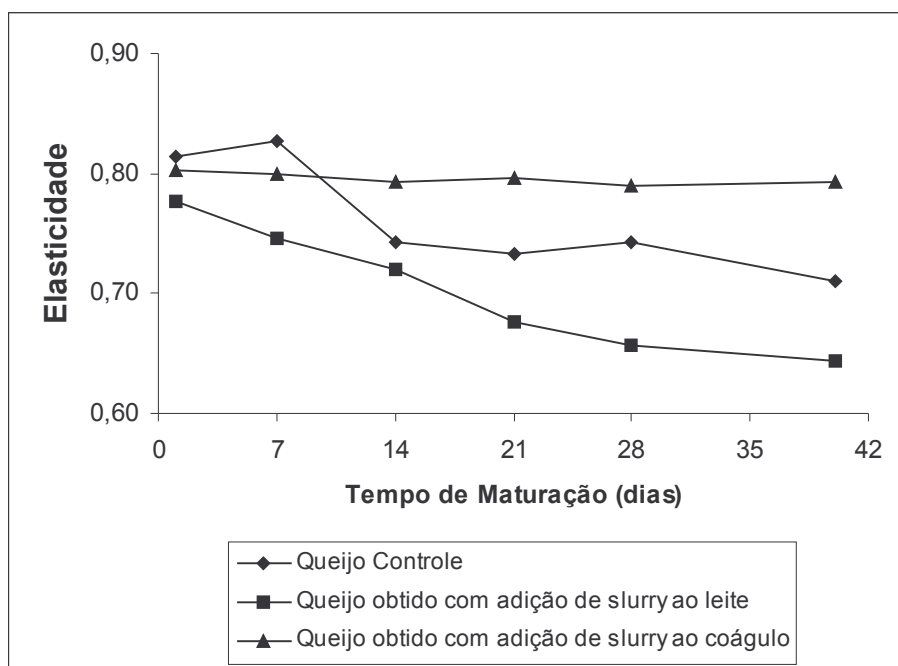


Figura 5.14. Elasticidade média (n = 3) dos queijos durante o período de maturação.

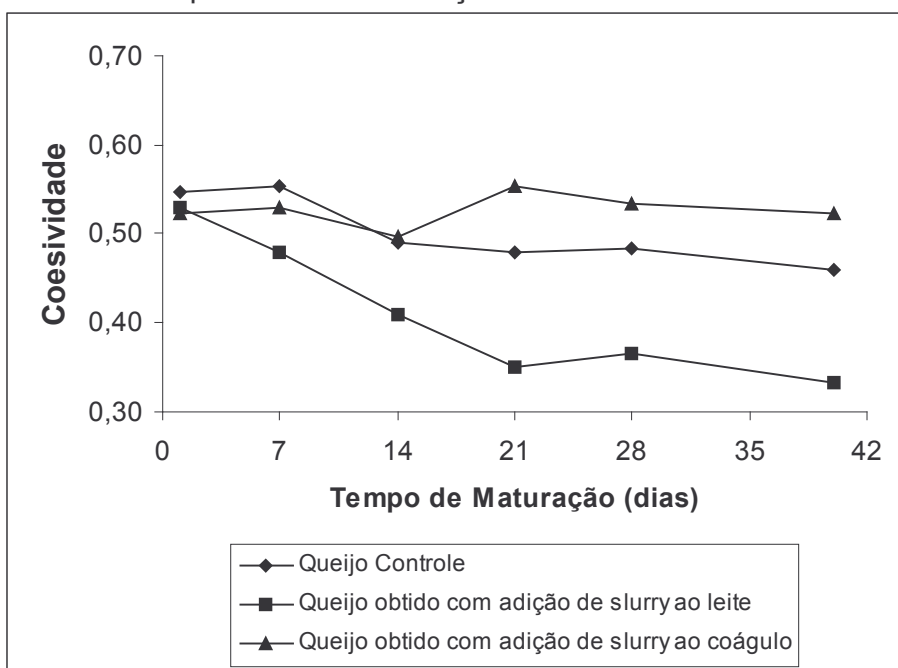


Figura 5.15. Coesividade média (n = 3) dos queijos durante o período de maturação.

A textura de um queijo novo muda com relativa rapidez quando as estruturas da molécula de α_{S1} -caseína são clivadas pelo coalho residual. A hidrólise da fração α_{S1} -caseína, e a conseqüente formação de α_{S1-I} -caseína provoca o enfraquecimento da rede protéica, promovendo o amaciamento do queijo (FOX *et al.*, 1996).

Entretanto, observa-se na Figura 5.13 que a firmeza do queijo Prato obtido com adição de *slurry* ao leite apresentou um comportamento completamente distinto dos demais. A firmeza apresentou ligeiro aumento logo no início da maturação e em seguida permaneceu praticamente constante durante todos os 40 dias de maturação. O mesmo foi observado para o queijo Prato por BALDINI (1998). Segundo o autor, o aumento da firmeza, que foi de aproximadamente 22% do primeiro ao quadragésimo dia de maturação, pode ter ocorrido devido à evaporação da água na superfície do queijo e ao gradiente de sal e umidade dos queijos. O efeito da perda de água do queijo pode anular a diminuição normal de firmeza, devido à hidrólise da matriz protéica (LAWRENCE *et al.*, 1987).

Entretanto, conforme se observa na Tabela 5.7, os queijos obtidos nesse trabalho apresentaram pequena variação no teor de umidade e sal na umidade do primeiro ao quadragésimo dia de maturação. Além disso, a despeito das variações na relação sal/umidade e do fato da concentração de sal no interior ser inicialmente muito menor que próximo à superfície do queijo, uma vez que a salga do queijo Prato é realizada em salmoura, isso aparentemente não afetou o perfil de decomposição das proteínas ao longo da maturação, conforme observou-se através do perfil eletroforético das proteínas. Apesar de ter havido a completa hidrólise da α_{S1} -caseína (Figura 5.12), não se observou o concomitante amaciamento do queijo.

Tabela 5.7. Teor de umidade (%) e de sal na umidade (%) (n=3) dos queijos controle e obtidos com adição de *slurry* ao leite ou ao coágulo após 1 e 40 dias de maturação.

Processamentos	Amostras	% Umidade		% Sal na umidade	
		1 dia de maturação	40 dias de maturação	1 dia de maturação	40 dias de maturação
Processamento 1	Queijo controle	45,2 ± 0,6	44,21 ± 0,06	4,20 ± 0,05	4,26 ± 0,01
	Queijo obtido com adição de <i>slurry</i> ao leite	45,26 ± 0,05	45,2 ± 0,2	4,38 ± 0,02	4,37 ± 0,02
	Queijo obtido com adição de <i>slurry</i> ao coágulo	44,7 ± 0,2	44,5 ± 0,2	4,03 ± 0,01	3,99 ± 0,05
Processamento 2	Queijo controle	44,8 ± 0,1	45,9 ± 0,4	4,98 ± 0,02	4,54 ± 0,05
	Queijo obtido com adição de <i>slurry</i> ao leite	44,8 ± 0,9	45,2 ± 0,2	4,70 ± 0,09	4,40 ± 0,05
	Queijo obtido com adição de <i>slurry</i> ao coágulo	45,1 ± 0,7	46,0 ± 0,1	4,04 ± 0,06	4,99 ± 0,01
Processamento 3	Queijo controle	44,9 ± 0,4	45,2 ± 0,3	4,52 ± 0,04	4,45 ± 0,02
	Queijo obtido com adição de <i>slurry</i> ao leite	45,3 ± 0,3	44,9 ± 0,5	4,59 ± 0,05	4,65 ± 0,05
	Queijo obtido com adição de <i>slurry</i> ao coágulo	45,8 ± 0,7	44,4 ± 0,3	4,02 ± 0,06	4,82 ± 0,02

De JONG (1976) demonstrou existir uma alta correlação entre firmeza do queijo e a quantidade de α_{s1} -caseína intacta, provavelmente porque os peptídeos liberados pela hidrólise da caseína são solúveis na água e não podem contribuir para a matriz protéica. Entretanto, para o queijo como Cheddar, a hidrólise da α_{s1} -caseína pode refletir no aumento da firmeza e diminuição da elasticidade do queijo, conforme também observou-se para o queijo Prato neste estudo. Segundo LAWRENCE *et al.* (1987) a clivagem de cada ligação peptídica gera dois novos grupos iônicos, que competirão pela água disponível no sistema. Desta forma, a

água disponível para solvatação das cadeias de proteínas se liga aos novos grupos iônicos, tornando o queijo mais firme e menos deformável.

O efeito da proteólise na consistência do queijo está também intimamente relacionado ao pH na fase de dessoragem da massa, o qual determina os teores de minerais e de coalho residual no queijo (LAWRENCE *et al.*, 1984). No menor pH, verifica-se maior solubilização do cálcio micelar, o que resulta num aumento da razão entre cálcio solúvel e cálcio ligado à caseína (cálcio coloidal). Por exemplo, o cálcio solúvel, como uma porcentagem do cálcio total no coágulo, aumenta de 5 para 40% quando o pH decresce de 6,15 para 5,2 (FOX, *et al.* 2000). Por outro lado a solubilização do cálcio micelar promovida pela alteração do pH, afeta a firmeza do queijo. Recentemente CORTEZ (informação pessoal) observou que a redução do pH do queijo Mussarela implicou num aumento significativo na porcentagem de cálcio solúvel no queijo e diminuiu significativamente sua firmeza. Efeito contrário foi observado, quando o pH foi aumentado. Além disso, a menor pH de drenagem, maior quantidade de renina permanece no coágulo, e maior a sua atividade (WATKINSON *et al.*, 2001). O pH do *slurry* adicionado ao leite para a fabricação dos queijos foi de 5,26, 5,40 e 5,51 para os processamentos 1, 2 e 3, respectivamente (Tabela 5.3), o que, possivelmente, reduziu o pH durante a fabricação dos queijos, resultando em maior retenção de coalho e maior desmineralização da micela e, conseqüentemente, em queijos menos firmes desde o 1º dia de maturação (Figura 5.13). Além disso, através do perfil eletroforético das proteínas, observou-se que para os queijos obtidos com adição de *slurry* ao leite (Figura 5.12, banda 1) a banda de α_{S1} -caseína aparece com intensidade ligeiramente maior quando comparada aos queijos controle e obtido com adição de *slurry* ao coágulo já no primeiro dia de maturação.

A elasticidade dos queijos diminuiu significativamente durante o período de maturação e, embora não tenha sido significativamente afetado pelos tratamentos,

o queijo obtido com adição de *slurry* ao leite apresentou desde o início da maturação uma menor elasticidade. A diminuição da elasticidade do queijo Prato durante a maturação, também foi observada por outros autores (SILVA, 1998; BALDINI, 1998; SPADOTTI, 2003 e DORNELLAS, 2003). Entretanto desses autores, somente BALDINI (1998), observou concomitantemente o aumento da firmeza e a diminuição da elasticidade, conforme observado especificamente para o queijo obtido com adição de *slurry* ao leite (Figuras 5.13 e 5.14) nesse trabalho. A obtenção de queijo mais firme e menos deformável, está possivelmente relacionado à geração de novos grupos iônicos obtidos pela clivagem da ligação peptídica, os quais se ligam à água disponível no sistema (LAWRENCE *et al.*, 1987).

A coesividade dos queijos diminuiu significativamente durante o tempo de maturação (Figura 5.15), entretanto, diminuiu mais rápido e atingiu valores menores para os queijos obtidos com adição de *slurry* ao leite. A diminuição da coesividade ao longo do período de maturação é, provavelmente, decorrência do aumento da degradação da caseína e foi também observado por SILVA (1998), BALDINI (1998), SPADOTTI (2003) e DORNELLAS (2003). Para o queijo Prato obtido com adição de *slurry* ao leite a coesividade diminuiu mais rápido e atingiu valores menores, possivelmente, porque esse queijo apresentou índice de extensão de maturação ligeiramente maior que os demais (Figura 5.7). Além disso, já no 1º dia de maturação observou-se que a banda de α_{s1} I-caseína apareceu com intensidade ligeiramente maior, indicando uma maior degradação da α_{s1} -caseína.

5.6. Avaliação sensorial dos queijos

A Tabela 5.8 apresenta os resultados médios obtidos na avaliação da aparência, do sabor e do sabor residual dos queijos com 21, 28 e 40 dias de maturação. As Figuras 5.16, 5.17, e 5.18, apresentam a porcentagem de aceitação e rejeição com relação a aparência, sabor e sabor residual para os

queijos controle, obtido com adição de *slurry* ao leite e ao coágulo, aos 21, 28 e 40 dias de maturação.

Tabela 5.8. Médias dos resultados obtidos na avaliação da aparência, do sabor e do sabor residual dos queijos após 21, 28 e 40 dias de maturação*.

Amostras	Aparência			Sabor			Sabor residual		
	21 d**	28 d	40 d	21 d	28 d	40 d	21 d	28 d	40 d
Queijo Controle	7,70 ^a	7,51 ^a	7,56 ^a	7,37 ^{ab}	7,45 ^a	7,59 ^a	6,97 ^a	6,83 ^a	6,97 ^a
Queijo obtido com adição de <i>slurry</i> ao leite	7,10 ^b	6,67 ^b	7,45 ^a	6,89 ^b	6,89 ^a	7,18 ^a	6,48 ^a	5,83 ^b	6,18 ^{ab}
Queijo obtido com adição de <i>slurry</i> ao coágulo	7,40 ^{ab}	7,13 ^{ab}	7,43 ^a	7,62 ^a	6,91 ^a	7,13 ^a	7,00 ^a	6,56 ^{a b}	5,91 ^b

* Os valores com a mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade.

** d = dia

No que diz respeito à aparência dos queijos, observa-se na Tabela 5.8, que com 21 dias de maturação, o queijo adicionado de *slurry* ao leite diferiu significativamente do queijo controle, porém não diferiu do queijo obtido com adição de *slurry* ao coágulo, o qual não diferiu do queijo controle. Já após 40 dias de maturação, os queijos não diferiram significativamente quanto à aparência. Apesar da diferença apresentada, analisando-se a porcentagem de aceitação e rejeição dos produtos, observa-se na Figura 5.16, que todos os queijos apresentaram alta porcentagem de aceitação durante todo o período avaliado.

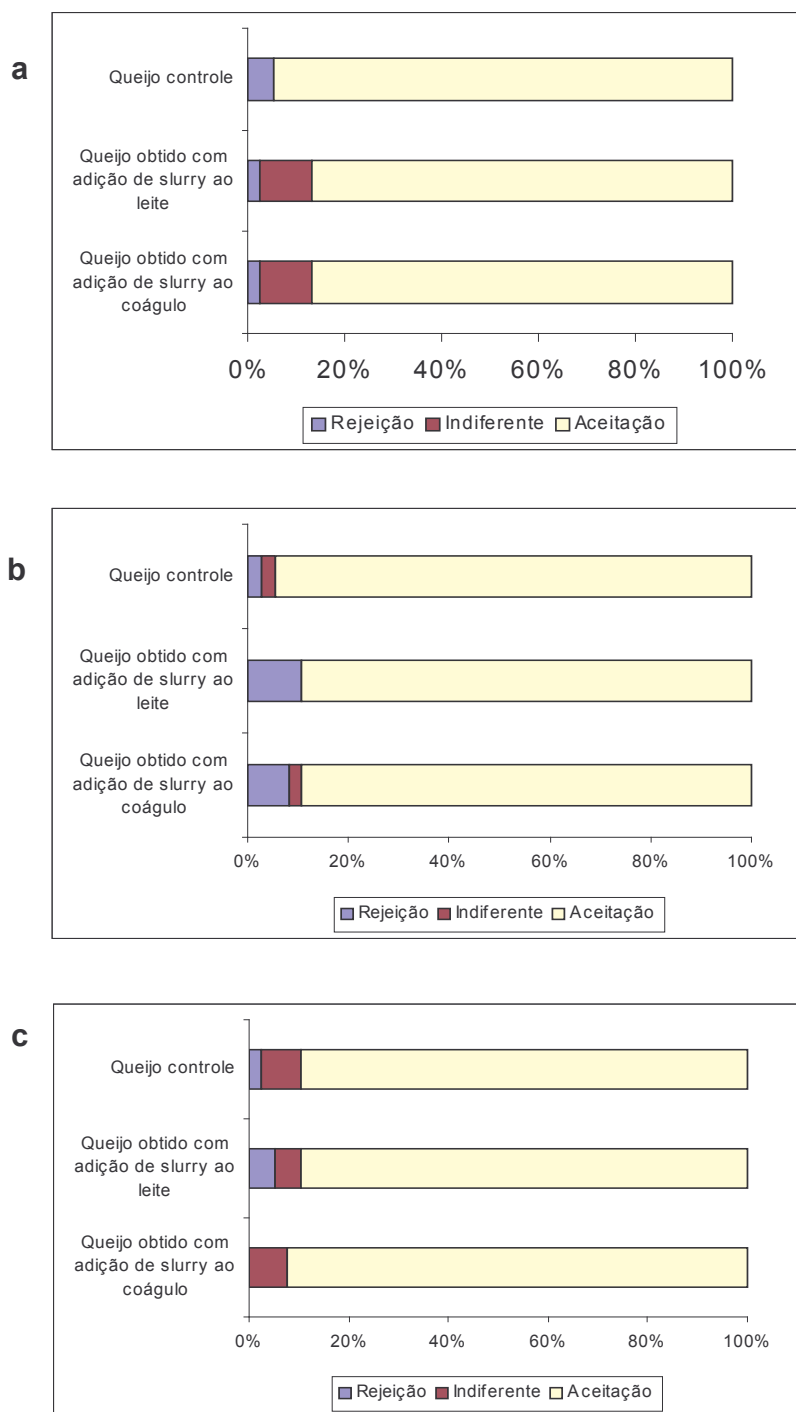


Figura 5.16. Aparência dos queijos durante a maturação:(a) com 21 dias; (b) com 28 dias e (c) com 40 dias de maturação.

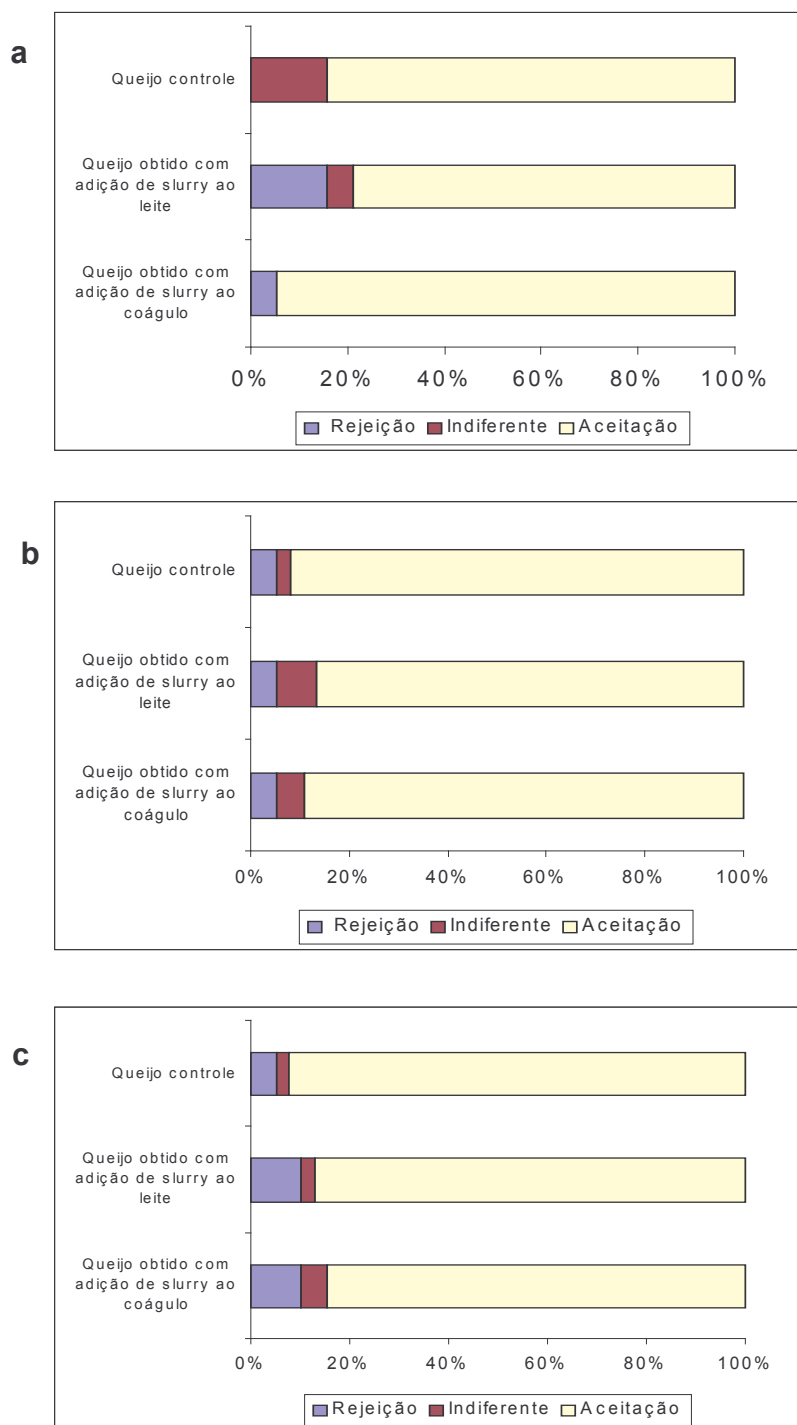


Figura 5.17. Sabor dos queijos durante a maturação: (a) com 21 dias; (b) com 28 dias e (c) com 40 dias de maturação.

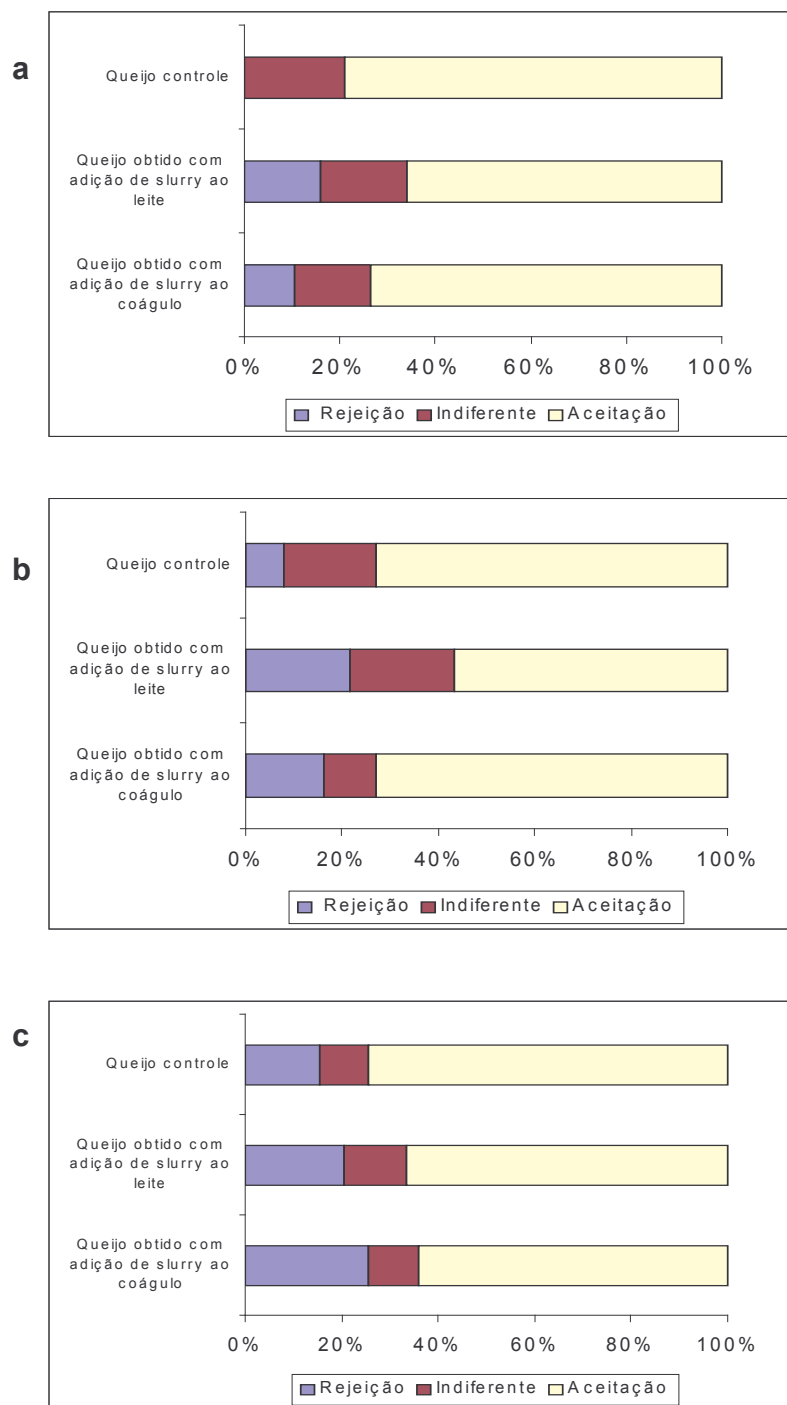


Figura 5.18. Sabor residual dos queijos durante a maturação: (a) com 21 dias; (b) com 28 dias e (c) com 40 dias de maturação.

Com relação ao sabor, após 21 dias de maturação, os queijos adicionados de *slurry* ao leite ou ao coágulo não diferiram significativamente do queijo controle, embora tenham diferido significativamente entre si. O queijo adicionado de *slurry* ao leite foi o que obteve a menor média (Tabela 5.8) e, conseqüentemente, apresentou a maior porcentagem de rejeição, que foi de aproximadamente 16%, como se observa na Figura 5.17-b. A partir daí, com 28 e 40 dias de maturação, observa-se que os queijos não apresentaram diferença significativa em relação ao sabor.

Quando os resultados da avaliação do sabor dos queijos foram expressos através da porcentagem de aceitação e rejeição dos produtos (Figura 5.17), observou-se que com o avanço da maturação, houve um ligeiro aumento na porcentagem de rejeição dos queijos obtidos com adição de *slurry*, os quais apresentaram uma rejeição aproximadamente 5% maior que o queijo controle após 40 dias de maturação (Figura 5.17-c).

Com relação ao sabor residual, os queijos com 21 dias de maturação não diferiram significativamente entre si (Tabela 5.8). Entretanto, observa-se na Figura 5.18-a, uma importante diferença entre a porcentagem de aceitação e rejeição dos produtos com relação ao sabor residual. Os queijos obtidos com adição de *slurry* ao leite ou ao coágulo apresentaram aproximadamente 16 e 11% de rejeição, respectivamente, enquanto o queijo controle não apresentou rejeição (0%). Aos 28 dias de maturação o queijo adicionado de *slurry* ao leite diferiu significativamente do queijo controle e apresentou a menor média, indicando ter o sabor residual mais desagradável ao paladar do consumidor. Já após 40 dias de maturação, o queijo adicionado de *slurry* ao coágulo foi o que apresentou a menor média e diferiu significativamente do queijo controle.

Avaliando-se a porcentagem de aceitação e rejeição dos produtos com relação ao sabor residual ao longo do período de maturação (Figura 5.18), observa-se claramente um aumento na porcentagem de rejeição de todos os produtos, sendo que aos 40 dias de maturação a porcentagem de rejeição do

queijo controle e dos queijos adicionados de *slurry* ao leite ou ao coágulo atingiu aproximadamente 15, 20 e 25%, respectivamente.

O período de maturação para o queijo Prato exigido pela Legislação Brasileira é de no mínimo 25 dias. Embora não se tenha avaliado o tipo de sabor residual dos queijos, este possivelmente está relacionado ao sabor amargo, que é um problema comum durante a maturação e estocagem de queijos. O sabor amargo deve-se principalmente ao acúmulo de peptídeos específicos, geralmente insolúveis ou apolares, de baixo peso molecular durante a proteólise (FOX *et al.*, 2000).

Os resultados obtidos para sabor e sabor residual pela avaliação sensorial corroboram com os resultados observados quando avaliou-se o índice de profundidade de maturação (IPM) dos queijos apresentados na Tabela 5.6. Observa-se nesta tabela, que aos 14 dias de maturação o IPM dos queijos obtidos com a adição de *slurry*, apresentavam valores iguais ou superiores ao IPM do queijo controle aos 28 dias de maturação.

Avaliando-se sensorialmente o sabor e o sabor residual dos produtos, os resultados sugerem que ocorreu uma maior proteólise nos queijos adicionados de *slurry*, o que pode ter levado a sabores mais fortes e de menor aceitabilidade para o consumidor acostumado ao paladar do queijo Prato encontrado no mercado brasileiro.

Os atributos firmeza, cremosidade e acidez foram avaliados usando-se a escala do ideal de sete pontos. Os resultados dessa avaliação para o queijo controle e os queijos obtidos com a adição de *slurry* ao leite ou ao coágulo aos 21, 28 e 40 dias de maturação são apresentados nas Figuras 5.19, 5.20 e 5.21, respectivamente.

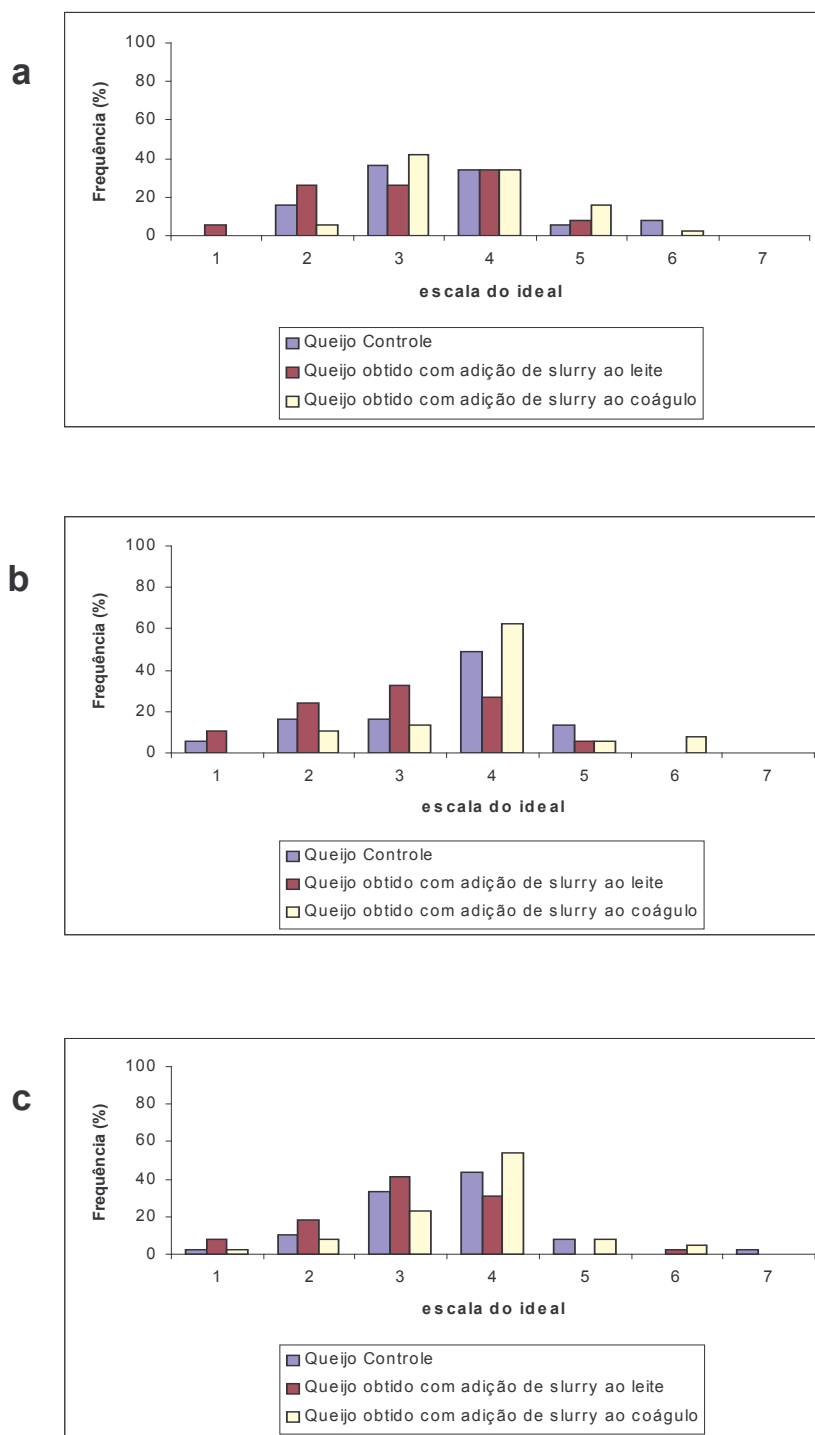


Figura 5.19. Firmeza dos queijos durante a maturação: (a) com 21 dias; (b) com 28 dias e (c) com 40 dias de maturação.

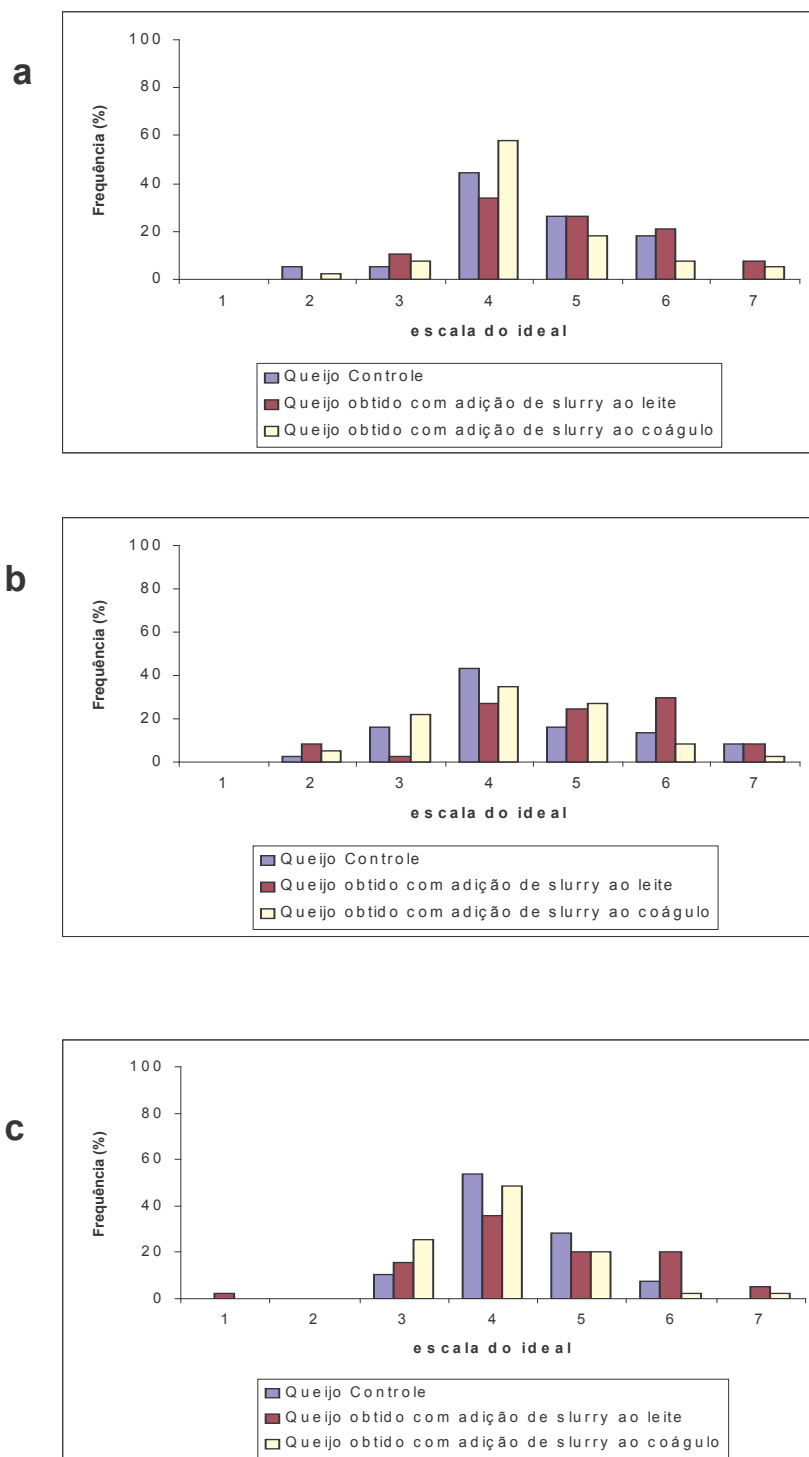


Figura 5.20. Cremosidade dos queijos durante a maturação: (a) com 21 dias; (b) com 28 dias e (c) com 40 dias dias de maturação.

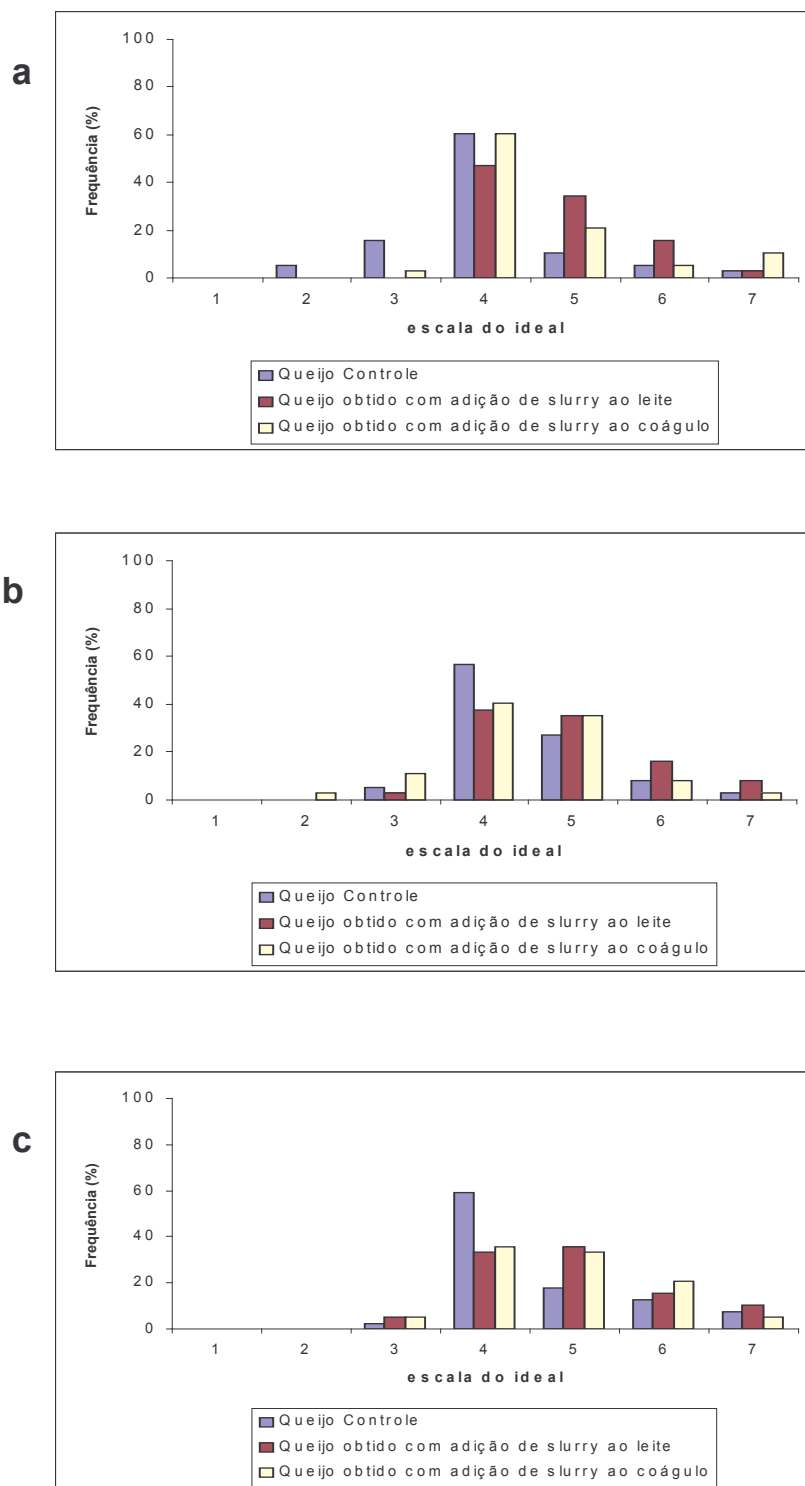


Figura 5.21. Acidez dos queijos durante a maturação: (a) com 21 dias; (b) com 28 dias e (c) com 40 dias de maturação.

Pelo histograma apresentado na Figura 5.19-a, observa-se que com 21 dias de maturação, com relação a firmeza, as amostras obtiveram a mesma porcentagem de nota 4, ou seja, aproximadamente 34% dos provadores indicaram que a amostra “está do jeito que eu gosto”. Além disso, já com 21 dias de maturação todos os queijos apresentaram uma tendência maior a estarem menos duros do que o provador gosta, característica observada por uma maior frequência de notas 1, 2 e 3. Essa tendência se confirmou com o avanço da maturação (Figura 5.19-b e c), porém o queijo obtido com adição de *slurry* ao coágulo obteve maior frequência de nota 4 com 28 e 40 dias de maturação, indicando uma preferência do consumidor pela característica de firmeza desse queijo com 28 e 40 dias de maturação.

Com relação a cremosidade dos produtos, observa-se na Figura 5.20-a, que aos 21 dias de maturação todas as amostras apresentaram a maior frequência de notas 4, o que indica que a cremosidade do produto estava do jeito que o provador gosta. Por outro lado, nota-se uma tendência do provador a avaliar as amostras como mais cremosas do que ele gosta, tendência esta caracterizada por uma frequência relativamente alta de notas 5, 6 e 7. Com o avanço da maturação essa tendência foi mais acentuada para queijo obtido com adição de *slurry* ao leite, enquanto que o queijo controle e o obtido com adição de *slurry* ao coágulo tiveram mais notas próximas ao ideal (Figura 5.20-b e c).

Comparando-se os resultados da avaliação sensorial para firmeza e cremosidade, tem-se uma indicação da consequência da proteólise nas características de textura dos queijos. Tanto para o queijo controle como os queijos fabricados com adição de *slurry* ao leite ou ao coágulo, o provador indicou que os queijos apresentaram uma tendência de estarem menos duros e mais cremosos com o avanço da maturação.

Com relação à acidez, observa-se na Figura 5.21-a, que com 21 dias de maturação todas as amostras apresentaram uma maior porcentagem de notas 4, indicando que a acidez dos queijos apresentava-se do jeito que o consumidor gosta. Porém, os queijos com adição de *slurry* já apresentavam uma pequena tendência de maior acidez do que o consumidor gosta, caracterizada por uma maior frequência de notas 5, 6 e 7. Com o avanço da maturação, observou-se uma tendência do consumidor a achar todas as amostras mais ácidas do que ele gosta, incluindo o controle. De fato, conforme discutido anteriormente, a acidez titulável dos queijos aumentou significativamente durante o período de maturação (Figura 5.6) e atingiu valores que não são usuais para o queijo tipo Prato.

A Tabela 5.9 apresenta os resultados do teste de preferência dos queijos com 21, 28 e 40 dias de maturação. Considerando-se que no teste de ordenação de preferência foi atribuída nota 1 à amostra mais preferida, o produto que obteve as menores notas, é o produto mais preferido.

Observa-se na Tabela 5.9. que com 21 dias de maturação, que o queijo obtido com adição de *slurry* ao coágulo não diferiu significativamente do queijo controle, e ambos foram os mais preferidos pelos provadores. O queijo obtido com adição de *slurry* ao leite foi o menos preferido e diferiu significativamente dos demais.

Tabela 5.9. Resultado do teste de preferência para os queijos com 21, 28 e 40 dias de maturação*.

Amostras	Tempo de maturação (dias)		
	21	28	40
Queijo controle	69 ^b	74 ^{ab}	66 ^b
Queijo obtido com adição de <i>slurry</i> ao leite	91 ^a	86 ^a	88 ^a
Queijo obtido com adição de <i>slurry</i> ao coágulo	68 ^b	62 ^b	80 ^{ab}

* Letras iguais na mesma coluna indicam não haver diferença significativa a 5%.

Após 28 dias de maturação o queijo controle não diferiu significativamente dos outros queijos, porém o queijo obtido com adição de *slurry* ao coágulo foi significativamente mais preferido quando comparado com o queijo obtido com adição de *slurry* ao leite. Embora os queijos controle e adicionado de *slurry* ao coágulo não tenham diferido significativamente entre si, observou-se que o queijo com adição de *slurry* ao coágulo apresentou a menor somatória de notas (Tabela 5.9), indicando uma maior preferência do provador por este produto.

Já com 40 dias de maturação, houve uma alteração desse panorama. Os queijos obtidos com adição de *slurry* ao coágulo, que apresentaram com 21 e 28 dias de maturação a menor somatória, indicando a maior preferência do consumidor, com 40 dias de maturação, apesar de ainda não diferirem significativamente do queijo controle, apresentou uma somatória bastante próxima do valor obtido para o queijo adicionado de *slurry* ao leite (que vinha sendo o menos preferido), indicando que os provadores apontaram para uma perda da qualidade do produto.

A preferência do provador está possivelmente relacionada ao sabor residual dos queijos. Observa-se na Figuras 5.18, que apresenta a avaliação do sabor residual dos queijos com 21, 28 e 40 dias de maturação, que com o avanço

da maturação houve um aumento na porcentagem de rejeição para todos os queijos. Porém, observou-se que para o queijo obtido com adição de *slurry* ao coágulo o aumento na porcentagem de rejeição foi mais acentuado após 40 dias.

6. CONCLUSÕES

- A fração nitrogenada solúvel dos *slurries* aumentou significativamente durante o período de maturação (7 dias a 30°C), indicando intensa atividade proteolítica. O nitrogênio solúvel a pH 4,6, aumentou, em média, aproximadamente 94% e o nitrogênio solúvel em TCA 12%, aumentou aproximadamente 150%;
- Após 7 dias de maturação a 30°C, os *slurries* apresentaram sabor característico de queijo Prato. O desenvolvimento da proteólise e do sabor característico, indicaram que este produto poderia ser utilizado como uma fonte de enzimas e microrganismos para melhorar o sabor e acelerar a maturação do queijo;
- Os queijos controle e obtidos com adição de *slurry* ao leite ou ao coágulo, apresentaram composição química semelhante, indicando que adição de *slurry* não afeta a composição dos queijos;
- Os tratamentos, ou seja, a adição de *slurry* ao leite ou ao coágulo não afetaram significativamente o índice de extensão e profundidade de maturação. Existe uma tendência de maior proteólise quando da adição do *slurry* ao leite ou ao coágulo. Os tratamentos afetaram significativamente o teor de tirosina e triptofano e não afetaram significativamente o teor de leucina nos queijos;
- Durante a maturação houve um contínuo aumento no fragmento intermediário da caseína, α_{s1} -I-CN, e uma concomitante redução da intensidade das bandas de α_{s1} -CN, indicando sua hidrólise para todos os queijos. No 1º dia de maturação no queijo obtido pela adição de *slurry* ao leite, a banda α_{s1} -I-CN apareceu com intensidade maior. Durante o período

de maturação ocorreu um aumento levemente maior da intensidade das bandas de α_{s1} -I-CN para os queijos fabricados com adição de *slurry* ao leite ou ao coágulo, em relação ao queijo controle;

- A firmeza dos queijos foi significativamente afetada pela interação entre os tratamentos e o tempo de maturação. A firmeza diminuiu ao longo do tempo de maturação para os queijos controle e obtido com adição de *slurry* ao coágulo e aumentou ligeiramente para o queijo obtido com adição de *slurry* ao leite;
- A elasticidade dos queijos diminuiu significativamente durante o período de maturação e não foi significativamente afetada pelos tratamentos;
- A coesividade dos queijos diminuiu significativamente durante o período de maturação. A coesividade diminuiu mais rápido e atingiu valores menores para o queijo obtido com adição de *slurry* ao leite;
- A avaliação sensorial indicou que após 21 dias de maturação os queijos controle e obtidos com adição de *slurry* ao coágulo foram os preferidos pelos provadores. Após 40 dias de maturação o queijo controle foi o mais preferido.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL BAKY, A.A.; EL FAK, A.M.; RABIE, A.M.; EL NESHEWY, A.A. Cheese slurry in the acceleration of Cephalotype “Ras” cheese ripening. **Journal of Food Protection**, London, v. 45, n. 10, p. 894-897, 1982.

ABDEL BAKY, A.A.; EL NESHEWY, A.; RABIE, A.H.M.; FARAHAT, S.M. Ripening changes in Cephalotype “Ras” cheese slurries. **Journal of Dairy Research**, London, v. 2, n. 49, p. 337-341, 1982.

ANDREWS, A.T. Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins. **Journal of Dairy Research**, London, v.50, n.1, p.45-55, 1983.

ASCHAFFENBURG, R.; DREWRY, J. New procedure for the routine determination of the various non casein proteins of milk. In: **INTERNATIONAL DAIRY CONGRESS**, 15, London, 1959. **Proceedings**, London, International Dairy Federation, 1959. n. 3, p. 1631-1637.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJOS. Produção Brasil - Queijos comuns em estabelecimentos sob Inspeção Federal. São Paulo, 2000.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of AOAC international. 16. Ed. Washington, 1995. v. 1-2.

ATHERTON, H.V.; NEWLANDER, J.A. **Chemistry and testing of dairy products**. 2.ed., Westport: AVI, 1981. 396 p.

AWAD, S.; LÜTHI-PENG, Q.Q.; PUHAN, Z. Proteolytic activities of chymosin and porcine pepsin of buffalo, cow, and goat whole and β -casein fractions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, n. 12, p. 4997-5007, 1998.

BALAJIAH, V.; JOSHI, V.K. Effect of starter cultures on flavour characteristics and changes in the level of soluble protein content during ripening of Gouda cheese. **Indian Journal of Dairy Science**. New Delhi, v.33, n.3, p.390-392, 1980.

BALDINI, V.L.S. Proteólise em queijo tipo prato durante a maturação. (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas/ Universidade de São Paulo, Brasil, 1998. 208 p.

BARBANO, D.M. & CLARK, J.L. Kjeldahl procedures for determination of milk total nitrogen for traditional Kjeldahl equipment. Departament of Food Science, Cornell University, Ithaca, N.Y., 14853, 1989.

BISHT, R.S. & JHA, Y.K. Storage stability of cheese spread from acidified milk curd. **Journal Food Science Technology**, Mysore, v. 36, n. 1, p. 15-18, 1999.

BLAKESLEY, R.W.; BOEZI, J.A. A new staining technique for proteins in polyacrylamide gels using brilliant blue G250. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v.82, p. 580-582, 1977.

BRASIL. Ministério do Estado da Agricultura e do Abastecimento. Aprova o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de queijo prato. Portaria nº 146 de 11 de setembro de 1996 e a Portaria nº 358, de 4 de setembro de 1997. In: Nova Legislação de Produtos Lácteos e de Alimentos para fins especiais diet, light e enriquecido. São Paulo:Fonte Comunicações e Ed., 1998. p. 87-89.

CONNER, T. Advances in accelerated ripening of cheese. **Cultured Dairy Products Journal**, Washington, v. 23, n. 4, p. 21-25, 1988.

CORSETTI, A.; GOBBETTI, M.; SMACCHI, E.; DE ANGELIS, M.; ROSSI, J. Accelerated ripening of Pecorino Umbro cheese. **Journal of Dairy Research**, London, v. 65, p. 631-642, 1998.

COSTA-JÚNIOR, L.C.G. Influência da relação caseína/gordura nas características físico-químicas do queijo Prato. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 53, n. 305, p. 29-49, 1998.

CREAMER, L.K. & OLSON, N.F. Rheological evaluation of maturing Cheddar cheese. **Journal of Food Science**, Champaign, v.47, n.2, 631-646, 1982.

DE JONG, Protein breakdown in soft cheese and its relation to consistency. 1-Proteolysis and consistency of Noordhollandse Meshanger cheese. **Neth. Milk Dairy Journal**. Wageningen, v. 30, p. 242-250, 1976.

DORNELLAS, J.R.F. Contribuição ao estudo da fabricação de queijo Prato a partir de retentados obtidos por ultrafiltração de leite com ou sem pré-fermentação. (Doutorado), UNICAMP, Brasil, 2003. 201 p.

DULLEY, J.R. The utilization of cheese slurries to accelerate the ripening of Cheddar cheese. **The Australian Journal of Dairy Technology**, Victoria, v. 31, p. 143-148, 1976.

DULEY, T.A. Studies on accelerated cheese ripening for process cheese spread manufacture. **Food Science and Technology**, Mysore, Abst., v.41, n.5, p.1704-B, 1980.

DUMAIS, R.; BLAIS, A.; CONRAD, F. Queso. In: AMIOT, J. Zaragoza **Ciencia y Tecnologia de la Leche**: Acribia, 1991. p. 249-296.

EL SODA, M.A. Acceleration of cheese ripening: recent advances. **Journal of Food Protection**, Des Mines, v. 49, n. 5, p. 395-399, 1986.

EL-SODA, M.A. The role of lactic acid bacteria in accelerated cheese ripening. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam v. 12, n. 1-3, p. 239-252, 1993.

EL-SODA, M.; MADKOR, S.A.; TONG, P.S. Evaluation of comercial adjuncts for use in cheese ripening: 4. Comparison between attenuated and not attenuated lactobacilli. **Milchwissenschaft**, Munich, v.55, n.5, 2000.

EL SODA, M.; PANDIAN, S. Recent developments in accelerated cheese ripening. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 7, p. 2317-2335, 1991.

FARKYE, N.Y.; FOX, P.F. Objective indices of cheese ripening. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, p. 37-40, august, 1990.

FERNÁNDEZ-GARCIA, E.; LÓPEZ-FANDIÑO, R. REVIEW: Accelerated ripening of ewe's milk cheeses. **Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos**, Valencia, v. 34, n. 4, p. 353-367, 1994.

FERREIRA, V.L.P. *et al.* **Análise Sensorial**: Testes Discriminativos e Afetivos. Campinas – SP. SBCTA, 2000. 127 p.

FOLEGATTI, M.I.S; ANTUNES, A.J.; ROIG, S.M. Influence of three rennet types on the ripening process of the brazilian Prato cheese. **Milchwissenschaft**, Munich, v. 52, n. 6, p. 318- 322, 1997.

FOX, P.F. ed. **Cheese**: Chemistry, Physics and microbiology. Maryland. An Aspen Publication, 1993. v.1, 577p.

FOX, P.F. Proteolysis during cheese manufacture and ripening. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 72, n. 6, p. 1379-1400, 1989.

FOX, P.F.; GUINEE, T.P.; COGAN, T.M.; MCSWEENEY, P.L.H. **Fundamentals of Cheese Science**. An Aspen Publication. Gaithersburg, Maryland, 2000. 587 p.

FOX, P.F.; LAW, J. Enzymology of Cheese Ripening. **Food Biotechnology**, New York, v. 5, n. 3, p. 239-262, 1991.

FOX, P.F.; LUCEY, J.A.; COGAN, T.M. Glycolysis and related reactions during cheese manufacture and ripening. **Food Science and Nutrition**, London, v. 29, p. 237-253, 1990.

FOX, P.F.; WALLACE, J.M.; MORGAN, S.; LYNCH, C.M.; NILAND, E.J.; TOBIN, J. Acceleration of cheese ripening. **Antonie van Leeuwenhoek**, Netherlands, v. 70, p. 271-297, 1996.

FURTADO, M.M. **A Arte e a Ciência do Queijo**. Ed.2, São Paulo: Globo, 1991. 297p.

FURTADO, M.M.; LOURENÇO NETO, J.P.M. **Tecnologia de queijos**: Manual técnico para a produção industrial de queijos. São Paulo: Dipemar, 1994. 118 p.

HARPER, W.J.; BLASER, C.D. Free fatty acid production in Cheddar cheese and cheese slurries made with polynsaturated milk fat. **Milchwissenschaft**, Munich, v. 36, n. 3, p. 134-136, 1981.

HARPER, W.J.; CARMONA, A.; KRISTOFFERSEN, T. Protein degradation in Cheddar cheese slurries. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 36, n. 3, p. 503-506, 1971.

HARPER, J.; IYER, M.; KNIGHTON, D.; LELIEVRE, J. Effects of whey proteins on the proteolysis of Cheddar cheese slurries (a model for the maturation of cheeses made from ultrafiltered milk). **Journal Dairy Science**, Champaign, v.72, n.2, p.333-341, 1989.

HARPER, W.J.; KRISTOFFERSEN, T. Biochemical aspects of flavor development in Cheddar cheese slurries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 18, n. 4, p. 563-566, 1970.

HARPER, W.J.; KRISTOFFERSEN, T.; WANG, J.Y. Fornation of free fatty acids during the ripening of fat modified cheese slurries. **Milchwissenschaft**, Munich, v. 33, n. 10, p. 604-608, 1978.

HOSKEN,S. & GAUDERETO,L.Q. Influência da cultura láctica na qualidade do queijo Prato variedade lanche. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. Juiz de Fora. Maio-junho, p. 1-8, 1973.

HUFFMAN, L.M. & KRISTOFFERSEN, T. Role of lactose in Cheddar cheese manufacturing and ripening. **New Zealand Journal of Dairy Science and Technology**, Palmerston North, v. 19, n. 2, p. 151-162, 1984.

IZCO, J.M.; TORRE, P.; BARCINA,Y. Maduracion acelerada de los quesos. Revision. **Alimentaria**, Madrid, v. 36, n. 303, p. 135-144, 1999.

KANAWJIA, S.K.; RAJESH,P.; SINGH, S. Research in Gouda Cheese Technology – A Review. **Indian Journal Dairy Science**, New Delhi, v. 44, n. 8, p. 485-495, 1991.

KEBARY, K.M.K.; SEHAM, H.S.; FARAG, I. Effect of lysozyme on the quality of Cephalotype Ras cheese slurry. **Cultured Dairy Products**, Washington, v. 27, n. 4, p. 13-20, 1992.

KIRBY, C.J. Maduracion acelerada de quesos. **Revista Española de Lecheria**, Madrid, n.11, p.42 – 49, 1989.

KOSIKOWSK, F.V. & IWASAKI, T. Changes in Cheddar cheese by commercial enzyme preparations. **Journal Dairy Science**, Champaign, v.58, n.7, p.963-970, 1975.

KOSIKOWSKI, F.V. & MISTRY, V.V.; **Cheese and Fermented Milk Foods: Procedures and Analysis**. 3.ed. Michigan, Ann Arbor, 1997. v.2, p.330.

KRAUSE, W.; KOCH, J.; BÖHM, A.; PARTZSCH, M. Chemical and electrophoretic investigation of the ripening of Gouda and Karsdorfer acid curd cheeses. **Milchwissenschaft**, Munich, v. 57, n. 2, p. 83-87, 2002.

KRISTOFFERSEN, T.; MIKOLAJCIK, E.M.; GOULD, I.A. Cheddar cheese flavor. IV. Directed and accelerated ripening process. **Journal of Dairy science**, Champaign, v. 50, n. 3, p. 292-297, 1967.

KUMAR, V. & TEWARI, B.D. Quality of dried cheese manufactured from accelerated ripened curd and Cheddar cheese. **Indian Journal Dairy Science**, New Delhi, v. 43, n. 4, p. 620-624, 1990.

LAW, B.A. The accelerated ripening of cheese by the use of non-conventional starters and enzymes. A preliminary assesment. **Bulletin of IDF**, Bruxelas, n. 108, p. 40-48, 1978.

LAW, B.A. Accelerated ripening of cheese. **Dairy Industries International**, London, v. 45, n. 5, p. 15-22-48, 1980.

LAW, B.A. Accelerated ripening of non Cheddar cheese. **IDF Bulletin**, Doc. 209, Bruxelas, n. 209, p. 45-52, 1987.

LAWRENCE, R.C.; CREAMER, L.K.; GILLES, J. Texture development during cheese ripening. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 70, n. 8, p. 1748-1760, 1987.

LAWRENCE, R.C.; HEAP, H.A.; GILLES, J. A controlled approach to cheese technology. **Journal Dairy Science**, Champaign, v.70, n.8, p.1748-1760, 1987.

MACFIE, H.J.; BRATCHELL, N.; GREENHOFF, K.; VALLIS, L. Designs to balance the effect of order of presentation and first-order-carry-over effects in hall tests. **Journal of Sensory Studies**, Westport, Connecticut, n. 4, p.129 – 148, 1989.

MAGDOUB, M.N.I.; EL-SAMRAGY, Y.A.; EL-NOCKRASHY, S.A.; EFFAT, B.A. Utilization of psychrotrophic bacterial protease for acceleration of flavor development in RAS cheese slurry. **Cultured Dairy Products Journal**, Washington, v. 26, n. 4, p. 24-28, 1991.

MARCOS, A.; ESTEBAM, M.A.; LEÓN, F.; FERNÁNDEZ-SALGUERO, J. Electrophoresis patterns of European cheeses: comparison and quantitation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 62, n. 6, p. 892-900, 1979.

MARTÍNEZ-CUESTA, M.C.; PALENCIA, P.F.; REQUENA, T.; PELÁEZ, C. Enhancement of Proteolysis by a *Lactococcus lactis* Bacteriocin Producer in a Cheese Model System. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, n. 9, p. 3863-3867, 1998.

MARTINS, J.F.P.; MORI, E.E.M.; FIGUEIREDO, I.B.; FERNANDES, A.G. Maturação do queijo tipo Prato: Influência da adição de *Pediococcus* na aceleração do processo. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 10, p. 141-151, 1979.

MENEZES, H.C. Detecção prévia de amargor em queijo tipo Prato. **Leite e Derivados**, São Paulo, n. 9, p. 33-36, 1993.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Divisão de Normas Técnicas, Brasília/DF, 1997. p. 239.

MINUSSI, R.C.; FURTADO, M.M.; MOSQUIM, M.C.A.V. Avaliação de métodos para a aceleração da maturação do queijo Prato. **Revista do instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 50, n. 291, p. 31-42, Juiz de Fora, 1995.

MORENO, I.; VIALTA, A.; LERAYER, A.I.S.; DESTRO, M.T. A importância da microbiota adicionada e autóctone na maturação de queijos Prato. **Indústria de Laticínios**, São Paulo, v. 7, n. 39, 59-62, 2002.

MUEHLENKAMP-ULATE, M.R. & WARTHESEN, J.J. Evaluation of several nonstarter Lactobacilli for their influence on Cheddar cheese slurry proteolysis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.82, n.7, 1370-1378, 1999.

NUÑES, M.; RODRÍGUEZ-MARÍN, M.A.; MEDINA, M. ; GAYA, P. The effect of ripening and cooking temperatures on proteolysis and lipolysis in Manchego cheese. **Food Chemistry**, London, v. 21, p. 115-123, 1986.

OLIVEIRA, J.S. **Queijo**: fundamentos tecnológicos. São Paulo: Ícone, 1986. 146p.

PARRA, L.; CASAL, V.; GÓMEZ, R. Contribution of *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* IFPL 359 and *Lactobacillus casei* subsp. *Casei* IFPL 731 to the proteolysis of caprine curd slurries. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 65, n. 4, p. 711-715, 2000.

PÉREZ, V.S.; ROJAS, C.I.; VILLAVICENCIO, M.N.; MORGADO, R.H. Cambios en la maduración del queso con el uso de “cheese slurry”. **Alimentaria**, Madrid, v. 38, n. 330, p. 81- 84, 2002.

RABIE, A. M. Acceleration of blue cheese ripening by cheese slurry and extracellular enzymes of *Penicillium roqueforti*. **Le Lait**. Paris, v. 69, p. 305 -314, 1989.

RABIE, A. M.; EL-NESHAWY, A.A.; ABDEL BAKY, A.A.; ABOU EL-ELLA, W.M.; EMARA, E.A. Enhancement of flavour development in Ras cheese made by direct acidification. **Food Chemistry**, London, v.21, p.5-16, 1986.

RAMASAMY, D.; NARASIMHAN, R.; KHAN, M.MD.H.; VIJAYALAKSHMI, R. Effect of proteolytic enzymes on flavour development of Cheddar cheese slurry. **Indian Journal Dairy Science**, New Delhi, v. 49, n. 9, p. 607- 612, 1996.

ROBERTS, M.; WIJESUNDERA, C.; BRUINEMBERG, P.G.; LINSOWTIN, G.K.Y. Development of an aseptic cheese curd slurry system for cheese ripening studies. **The Australian Journal of Dairy Technology**, Victoria, v.50, n.2, p.66-69, 1995.

ROGICK, F.A. Estudo sobre a tecnologia do queijo Prato. **Boletim Indústria Animal**, Nova Odessa, v.12, p.131-148, 1951.

ROSSI, D.A.; ABREU, L.R.; FURTADO, M.M.; MOURA, C.J. Sobre a coagulação do leite: Revisão. **Revista do Instituto Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 53, nºs 301, 302 e 303, p. 85-89, 1998.

SALUJA, J.M.; SINGH, S. Development of processed cheese spread using accelerated ripened Cheddar slurries. **Journal Food Science Technology**, Mysore, v. 26, n.1, p. 29-31, 1989.

SAMPLES, D.R.; DILL, S.L.; RICHTER, DILL, C.W. Effects of glutathione on volatile sulfhydryl production in Cheddar cheese slurries. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 68, suppl.1, p. 262-263, 1985.

SILVA, A.T. Maturação do queijo tipo Prato: influência da adição de enzimas proteolíticas no processo. (Mestrado), UNICAMP, Brasil, 1998. 119p.

SINGH, S.; KANAWJIA, S.K. Effect of incorporation of cheese slurry and supplementation with *Lactobacillus casei* on the quality of buffalo milk Cheddar cheese. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 25, n. 5, p. 276-279, 1988.

SINGH, S.; KRISTOFFERSEN, T. Factors affecting flavor development in Cheddar cheese slurries. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 53, n. 5, p. 533-536, 1970.

SINGH, S. & KRISTOFFERSEN, T. Influence of lactic cultures and curd milling acidity on flavor of Cheddar curd slurries. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 54, n. 19, p. 1589-1595, 1971.

SINGH, V. K. & KRISTOFFERSEN, T. Accelerated ripening of Swiss cheese curd. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 54, n. 3, p. 349 - 354, 1971.

SPADOTI, L.M. Avaliação de propriedades do queijo tipo Prato obtido por modificações no processo tradicional de fabricação. (Doutorado), UNICAMP, Brasil, 2003. 228 p.

STHADHOUDERS, J. & HUP, G. Factors affecting bitter flavour in Gouda cheese. **Netherland Milk Dairy Journal**, Wageningen, v.29, p.335-353, 1975.

SUTHERLAND, B.J. Rapidly ripened cheese curd slurries in processed cheese manufacture. **The Australian Journal of Dairy Technology**, Victoria, v. 30, n. 4, p. 138 - 142, 1975.

THAKAR, P.M.; UPADHYAY, K.G. Cheese curd slurry: a review. **Cultured Dairy Products Journal**, Washington, v. 27, n. 1, p. 9 – 12, 1992.

THOMAS, T.D. Role of lactic acid bacteria and their improvement for production of better fermented animal products. **New Zealand Journal of Dairy Science and Technology**, Palmerston North, n. 20, p. 1 - 10, 1985.

VAKALERIS, D.G.; PRICE, W.V. A rapid spectrophotometric method for measuring cheese ripening. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 42, n. 2, p. 264-276, 1959.

VAN DENDER, A. G. F.; DO VALLE, J.L.E.; ARDITO, E.F.G.; FIGUEIREDO, I.B. Estudo de métodos de aceleração no processo de fabricação do queijo tipo Prato. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 11, n. 247, p. 3 - 13, 1986.

VISSER, S. Proteolytic enzymes and their relation to cheese ripening and flavor: an overview. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 1, p. 329-350, 1993.

VISSER, S. Proteolytic enzymes and their action on milk proteins. **Netherland Milk Dairy Journal**, Wageningen, v.35, p.65-70, 1981.

VUJICIC, I.F.; SKRINJAR, M.; VULIC, M. Role of protease from *Penicillium Roqueforti* in the modification of chesse slurry and Trappist cheese ripening. **Acta Alimentaria**, Budapest, v.25, n.1, p.13-23, 1996.

WALSTRA, P.; GEURTS, T.J.; NOOMEN, A.; JELLEMA, A.; VAN BOEKEL, M.A.J.S. **Dairy Technology**: Principles of Milk Properties and Process, New York, Marcel Dekker, 1999. 727 p.

WATKINSON, P.; COKER, C.; CRAWFORD, R.; DODDS, C.; JOHNSTON, K.; McKENNA, A.; WHITE, N. Effect of cheese and ripening time on model cheese textural properties and proteolysis. **International Dairy Journal**, London, n. 11, p. 455 - 464, 2001.

WILKINSON, M.G. Acceleration of cheese ripening. In: FOX, P.F., ed. **Cheese**: chemistry, physics and microbiology. General aspects. London: Elsevier Applied Science, 1993. V. 1, p. 523-555

WOLFSCHOON-POMBO, A.F. Índices de Proteólise em alguns Queijos Brasileiros. **Boletim do Leite**. Rio de Janeiro, v. 51, n. 661, p. 1-8, 1983.

WOLFSCHOON POMBO, A.F.; FURTADO, M.M. O queijo Prato da região sul de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Tecnologia de Brasília**, Brasília, v. 14, n. 5,6, p. 50-54, 1983.

WOLFSCHOON POMBO, A.F.; LIMA, A. Extensão e profundidade de proteólise em queijo Minas Frescal. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 44, n. 261-266, p. 50-54, 1989.