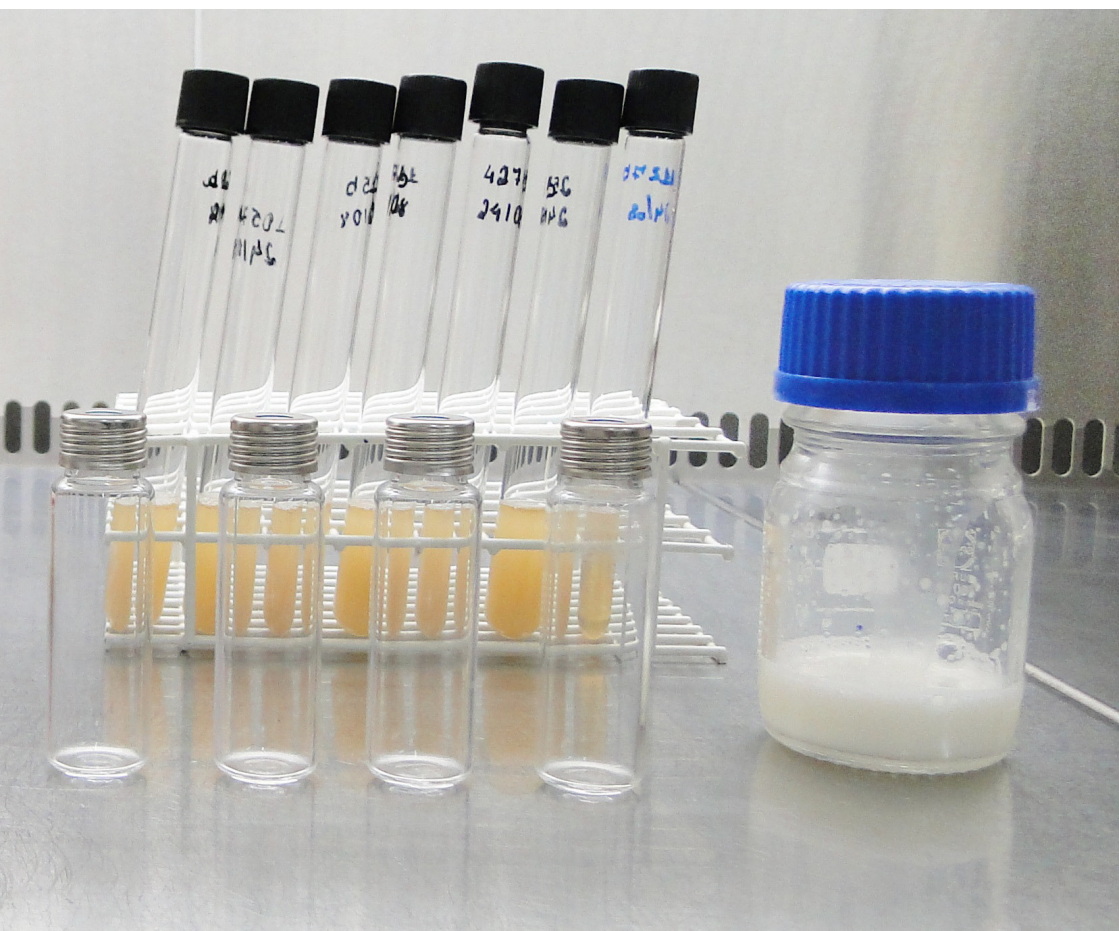


Compostos Voláteis de Leites Fermentados por Linhagens Selvagens de *Lactobacillus rhamnosus*



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agroindústria Tropical
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 129

Compostos Voláteis de Leites Fermentados por Linhagens Selvagens de *Lactobacillus rhamnosus*

Hilton Cesar Rodrigues Magalhães

Laura Maria Bruno

Deborah dos Santos Garruti

Thalita Cavalcante Rodrigues

Embrapa Agroindústria Tropical

Fortaleza, CE

2017

Unidade responsável pelo conteúdo e edição:

Embrapa Agroindústria Tropical
Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Pici
CEP 60511-110 Fortaleza, CE
Fone: (85) 3391-7100
Fax: (85) 3391-7109
www.embrapa.br/agroindustria-tropical
www.embrapa.br/fale-conosco

Comitê de Publicações da Embrapa Agroindústria Tropical

Presidente: *Gustavo Adolfo Saavedra Pinto*
Secretária-executiva: *Celli Rodrigues Muniz*
Secretária-administrativa: *Eveline de Castro Menezes*
Membros: *Janice Ribeiro Lima, Marlos Alves Bezerra, Luiz Augusto Lopes Serrano, Marlon Vagner Valentim Martins, Guilherme Julião Zocolo, Rita de Cássia Costa Cid, Eliana Sousa Ximendes*

Supervisão editorial: *Ana Elisa Galvão Sidrim*
Revisão de texto: *Marcos Antônio Nakayama*
Normalização: *Rita de Cassia Costa Cid*
Foto da capa: *Tiago Freitas*
Editoração eletrônica: *Arilo Nobre de Oliveira*

1ª edição

On-line (2017)

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Agroindústria Tropical

Compostos voláteis de leites fermentados por linhagens selvagens de *Lactobacillus rhamnosus* / Hilton Cesar Rodrigues Magalhães... [et al.]. – Fortaleza : Embrapa Agroindústria Tropical, 2017.

15 p. ; 14,8 cm x 21 cm. – (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Agroindústria Tropical, ISSN 1679-6543; 129).

Publicação disponibilizada on-line no formato PDF.

1. Culturas lácteas. 2. Aroma. 3. Compostos voláteis. 4. Queijo coalho. I. Bruno, Laura Maria. II. Garruti, Deborah dos Santos. III. Rodrigues, Thalita Cavalcante. IV. Série.

CDD 637.35

© Embrapa 2017

Sumário

Resumo	4
Abstract.....	6
Introdução.....	7
Material e Métodos.....	8
Resultados e Discussão.....	10
Conclusão	13
Referências	14

Compostos Voláteis de Leites Fermentados por Linhagens Selvagens de *Lactobacillus rhamnosus*

Hilton Cesar Rodrigues Magalhães¹

Laura Maria Bruno²

Deborah dos Santos Garruti³

Thalita Cavalcante Rodrigues⁴

Resumo

A pasteurização do queijo de coalho reduz a flora endógena do leite, implicando alterações nas características sensoriais dos queijos. A formação do aroma em leite fermentado resulta de metabólitos voláteis produzidos por culturas lácticas (*starters*). O objetivo deste trabalho foi determinar o perfil de compostos voláteis de culturas lácticas de seis linhagens de *Lactobacillus rhamnosus* de queijo de coalho artesanal com potencial para o desenvolvimento de uma cultura láctica que permita a fabricação de queijo de coalho de leite pasteurizado. Uma amostra de leite não fermentado foi também analisada como controle. Os compostos voláteis foram isolados por HS-SPME com a fibra DVB/CAR/PDMS e separados e identificados por GC-MS. As culturas lácticas de *Lactobacillus rhamnosus* das linhagens BRM032750 e BRM032751 produziram muitos dos compostos voláteis importantes para o aroma do leite fermentado e podem ser recomendadas para avaliar seu

¹ Farmacêutico, analista da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, hilton.magalhaes@embrapa.br

² Engenheira de alimentos, D.Sc. em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, laura.bruno@embrapa.br

³ Engenheira de alimentos, D.Sc. em Tecnologia de Alimentos, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, deborah.garruti@embrapa.br

⁴ Graduanda em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, thalitacavalcante3@hotmail.com

desempenho na fabricação de queijos, embora esse estudo deva ser acompanhado de análise sensorial, para verificar se o ácido acético, produzido em grande quantidade, não prejudica o sabor do produto. A linhagem BRM032752 também é promissora, pois, apesar de ter produzido menos compostos de interesse, gerou pouco ácido acético.

Termos para indexação: culturas lácticas, aroma, queijo de coalho.

Volatile Compounds of Milks Fermented by Wild Litter of *Lactobacillus rhamnosus*

Abstract

Pasteurization of “coalho” cheese reduces endogenous flora milk, resulting in changes in its sensory characteristics. The formation of aroma in fermented milk comes from volatile metabolites produced by lactic acid cultures (starters). The objective of this study was to determine the volatile profile of lactic acid cultures of six Lactobacillus rhamnosus strains of artisan “coalho” cheese with potential for the development of a lactic culture that allows the manufacture of cheese from pasteurized milk. An unfermented milk sample was also analyzed as control. The volatile compounds were isolated by HS-SPME technique with fiber DVB/CAR/PDMS, and separated and identified by GC-MS. The lactic cultures of Lactobacillus rhamnosus of BRM032750 and BRM032751 strains yielded many important volatile compounds to the aroma of fermented milk and can be recommended to evaluate their performance in cheese making, though this must be supported by sensory analysis to establish whether the acetic acid, produced in large amount, will impair the flavor of the product. The BRM032752 strain is also promising because, despite having produced fewer compounds of interest, yielded little acetic acid.

Index terms: lactic cultures, aroma, “coalho” cheese.

Introdução

As propriedades sensoriais típicas dos queijos fabricados a partir de leite cru são, aparentemente, resultado da diversidade de espécies que compõem a microbiota natural do leite (GARABAL et al., 2008). As enzimas proteolíticas de bactérias de ácido láctico (BAL) desempenham um papel importante na degradação da caseína e de peptídeos, levando à produção de aminoácidos livres, que contribuem diretamente para os gostos básicos do queijo e indiretamente para o seu sabor, uma vez que são precursores de outras reações catabólicas, dando origem a compostos voláteis de aroma (IRIGOYEN et al., 2007).

Entre os produtos lácteos regionais do Nordeste brasileiro, o queijo de coalho é um dos mais tradicionais. É um queijo semiduro, produzido principalmente com leite cru. Mas, para estar em conformidade com os requisitos das Normas Brasileiras (BRASIL, 1996), o leite para este tipo de queijo tem sido pasteurizado. Infelizmente, a pasteurização reduz a flora microbiana endógena do leite, implicando alterações nas características sensoriais dos queijos (DOLCI et al., 2008; NIKOLICK et al., 2008). Para superar essa limitação, existe uma demanda para o desenvolvimento de culturas autóctones específicas para queijos tradicionais que permitem a padronização da qualidade e segurança do produto, sem alterar as suas propriedades (DOLCI et al., 2008).

A formação do aroma em leite fermentado resulta de metabólitos produzidos por culturas lácticas (*starters*) ou ainda do próprio catabolismo da lactose, tendo como produto o ácido láctico (RESA et al., 2007). Além disso, outros produtos também podem surgir e são diretamente responsáveis pela formação do aroma e sabor dos leites fermentados, como acetaldeído, 2,3-butanodiona, acetona, peptídeos, acetato, etanol e outros (AMIOT, 1991; BONCZAR et al., 2002). Os principais produtos da fermentação do leite são compostos orgânicos tais como ácidos não voláteis (ácidos láctico ou pirúvico), ácidos voláteis (ácidos fórmico, acético e propiônico), compostos carbonílicos (acetaldeído, acetona, 2,3-butanediona e 3-hidróxi-butanona) e grupos heterogêneos de substâncias formadas pela degradação térmica de proteínas, gorduras e lactose (CHENG, 2010).

Apesar da extrema importância do aroma como indicador de qualidade, a análise química de compostos voláteis de derivados lácteos é muito complicada devido à natureza heterogênea da matriz. Entre várias técnicas de separação e pré-concentração de compostos voláteis formados pela biofermentação, a técnica de microextração em fase sólida (SPME – *solid phase microextraction*) parece ser uma das mais utilizadas. É um método livre de solvente, relativamente rápido, possui baixo custo e facilita o transporte do material extraído até o cromatógrafo (LIGOR, 2008; PAWLISZYN, 1999).

O objetivo deste trabalho foi investigar o perfil de compostos voláteis do aroma de seis linhagens de *Lactobacillus rhamnosus* isoladas de queijo de coalho artesanal com potencial para o desenvolvimento de uma cultura láctica que permite o fabrico de queijo de coalho de leite pasteurizado.

Material e Métodos

Linhagens bacterianas

Seis linhagens de *Lactobacillus rhamnosus* selvagens da coleção da Embrapa Agroindústria Tropical foram selecionadas para este trabalho:

- BRM 032528
- BRM 032529
- BRM 032531
- BRM 032750
- BRM 032751
- BRM 032752

Todos os microrganismos foram armazenados congelados a -80 °C em caldo Man, Rogosa e Sharpe (MRS) adicionado de glicerol 15% (v/v). Antes da utilização, as culturas foram ativadas em caldo MRS a 37 °C durante 24 h. Em seguida, as linhagens ativadas foram inoculadas

(3%, v/v) em leite em pó desnatado reconstituído a 10% e incubadas a 37 °C. Foi preparado também um branco, constituído do leite em pó desnatado, reconstituído a 10%. As análises foram feitas em duplicata.

Extração dos compostos voláteis

Os compostos voláteis da amostra de leite desnatado e das culturas lácticas foram isolados pela técnica de HS-SPME (*headspace solid phase micro extraction*) ou, em português, microextração em fase sólida do *headspace* (espaço formado sobre a amostra acondicionada em um sistema fechado). Em um *vial* (frasco) de 20 mL, colocaram-se 5 mL de amostra e adicionou-se 1 g de NaCl. O equilíbrio dos compostos voláteis no *headspace* foi atingido deixando o *vial* a 45 °C sob agitação por 10 minutos. Em seguida, a fibra de SPME DVB/CAR/PDMS (Divinilbenzeno/Carboxen/Polidimetilsiloxano), da Supelco (Sigma-Aldrich, Bellefonte, PA, EUA), com 100 μm de espessura de filme e 10 mm de comprimento foi introduzida no *vial* e exposta no *headspace* para extração dos voláteis. O tempo de exposição foi de 45 minutos, ainda a 45 °C, sob agitação.

Análise por cromatografia a gás e espectrometria de massas (CG-EM)

Os voláteis foram dessorvidos termicamente da fibra durante 10 minutos no injetor do cromatógrafo a gás acoplado a detector de massas (GC-MS – Shimadzu modelo QP2010). Foram utilizadas as seguintes condições cromatográficas: coluna DB5-MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm ; J&W Scientific Inc., Folsom, EUA), temperatura do injetor 260 °C, modo de injeção *split* numa razão 1:10, hélio como gás de arraste a 1,50 mL/min. A temperatura da coluna iniciou a 40 °C, foi mantida por 1 minuto, elevada até 120 °C numa razão de 4,0 °C/min e posteriormente elevada até 260 °C numa razão de 15 °C/min, temperatura mantida por 20 minutos. O tempo total da corrida cromatográfica foi de 50 minutos.

Os espectros de massas foram gerados por impacto de elétrons (70 eV), temperatura da linha de transferência e da fonte de íons de 260 °C e detector quadrupolo. Para identificação dos compostos voláteis, foi feita a comparação dos espectros de massa de cada substância com

os espectros da biblioteca do GC-MS (NIST 02). A identificação foi auxiliada pela comparação dos índices de retenção com dados da literatura (NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY, 2015; PHEROBASE, 2015).

Resultados e Discussão

A Tabela 1 apresenta a composição de voláteis do leite em pó desnatado reconstituído sem inoculação e dos leites fermentados pelas seis linhagens de *Lactobacillus rhamnosus*. Compostos com área do pico cromatográfico menor que $0,1 \times 10^6$ não foram considerados. A amostra de leite apresentou um perfil de voláteis muito pobre, com poucos compostos e pouca intensidade de área, sendo o etanol e a acetona os compostos majoritários. Esses compostos são encontrados no leite ainda cru (GADAGA et al., 2007). A acetona contribui para o sabor do leite (CARCOBA et al., 2000), mas a importância do etanol ainda não é muito clara (MOUNCHILI et al., 2005).

Tabela 1. Contagem de área dos picos dos compostos voláteis observados nos cromatogramas do leite em pó não fermentado e de amostras do leite fermentado por linhagens selvagens de *Lactobacillus rhamnosus* da coleção da Embrapa Agroindústria Tropical.

Composto volátil	IK ⁽¹⁾	Amostra (área x 10 ⁶)						
		Leite	BRM 032528	BRM 032529	BRM 032531	BRM 032750	BRM 032751	BRM 032752
Acetaldeído	< 600	1,53	16,11	-	-	9,77	8,62	-
Etanol	< 600	11,72	19,75	9,01	225,14	20,01	18,39	70,68
Acetona	< 600	8,93	26,8	11,94	-	39,48	99,37	122,53
2,2-dimetil-butano	< 600	-	-	-	-	-	-	10,84
2,3-butanodiona	< 600	-	44,41	32,22	-	31,8	-	23,83
3-metil-2-butanona	604	-	-	1,83	-	-	-	-
2-butanona	605	-	-	-	-	-	-	13,49
Acetato de etila	619	-	-	-	-	-	-	34,69
3-metil-butanal	640	-	0,95	0,22	-	2,92	0,73	12,3

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Composto volátil	IK ⁽¹⁾	Amostra (área x 10 ⁶)						
		Leite	BRM 032528	BRM 032529	BRM 032531	BRM 032750	BRM 032751	BRM 032752
Ácido acético	660	-	395,88	183,25	22,35	407,52	455,94	78,01
1-butanol	662	-	-	2,75	-	3,12	-	15,4
2-pentanona	692	-	11,12	-	-	-	-	-
Heptano	696	-	-	1,63	0,29	1,95	-	-
3-metil-1-butanol	710	-	2,91	2,72	-	8,45	3,09	21,08
3-metil-heptano	779	-	-	-	-	-	1,24	3,99
Ácido butanoico	785	-	-	-	-	8,22	-	-
Octano	797	1	-	-	4,86	3,66	-	-
Acetato de butila	798	-	-	-	-	-	8,12	4,2
1-hexanol	875	-	-	-	-	-	1,5	-
Acetato de 3-metil-butila	881	-	-	-	-	-	3,08	4,84
2-heptanona	894	-	30,83	-	-	40,42	39,91	-
Alfa-pineno	937	-	-	-	-	10,48	32,07	3,3
2-pentil-furano	994	-	-	-	-	5,53	-	-
Hexanoato de etila	1005	-	-	-	-	108,97	-	19,7
Ácido hexanoico	1009	-	28,49	-	-	102,06	82,93	12,03
Limoneno	1034	-	-	-	-	4,44	6,77	2,36
2-etil-1-hexanol	1038	-	-	-	-	4,35	-	-
Eucaliptol	1040	-	-	-	-	-	-	6,01
2-Nonanona	1096	-	43,91	16,59	-	95,42	-	-
Isoforona	1112	-	-	-	-	-	-	4,81
2,2,6-trimetil-ciclohexanona	1114	-	-	-	-	-	1,66	1,69
2,6-dimetil-ciclohexanol	1117	3,55	7,17	2,83	4,82	-	13,32	24,32
Ácido benzoico	1192	-	-	-	-	94,18	-	-
Ácido octanoico	1196	-	41,34	-	-	146,57	54,52	-
2-hidroxi-benzaldeído	1256	-	-	-	-	-	54,87	7,72
2-Undecanona	1298	-	19,04	2,43	-	38,65	6,5	-
Ácido decanoico	1386	-	-	-	-	15,07	-	-
Tetradecano	1392	-	-	-	1,33	4,59	2,16	3
Beta-ionona	1430	-	-	-	-	2,23	1,04	-
Epoxi-beta-ionona	1466	0,7	-	-	-	4,55	2,13	4,63
2-tridecanona	1489	-	-	-	-	16,69	2,85	-
Número total		6	14	12	6	27	23	24
Área total		27,43	688,71	267,42	258,79	1231,1	900,81	505,45

⁽¹⁾IK: índice de retenção de Kovats na coluna DB-5.

No total, foram identificados 41 compostos voláteis nos leites fermentados, sendo 10 cetonas, 9 aldeídos, 6 ácidos carboxílicos, 6 hidrocarbonetos, 6 terpenos e 4 ésteres. A linhagem BRM032750 apresentou o maior número de compostos voláteis (27) e a maior área total. Porém, seu principal composto majoritário foi o ácido acético, substância com odor de vinagre. Outros compostos majoritários foram os ácidos hexanoico e octanoico, de odor característico de leite cozido (MOUNCHILI et al., 2005); hexanoato de etila (odor doce, frutal) e 2-nonanona, que pode ter odor frutal ou de queijo, dependendo da concentração. Essa linhagem também apresentou mais acetaldeído do que o leite não fermentado, substância que contribui muito para o sabor de bebidas lácteas (POURAHMAD; ASSADI, 2005).

As linhagens BRM032751 e BRM032752 também apresentaram um rico perfil de voláteis, com média de 23 compostos. A BRM032751 apresentou área total muito mais elevada (quase 80% maior), em grande parte devido ao ácido acético (composto majoritário) e aos ácidos carboxílicos, mas não produziu 2,3-butanodiona (diacetil). Esse composto é derivado da fermentação do citrato presente no leite e é responsável pelo sabor amanteigado de bebidas lácteas (POURAHMAD; ASSADI, 2005). A BRM032751 foi mais rica em 2-hidroxi-benzaldeído (odor refrescante, cravo) enquanto BRM032752 destacou-se por ser a única linhagem que produziu acetato de etila, composto de odor frutal, doce, verde. Essa linhagem apresentou também a vantagem de produzir pouco ácido acético.

As linhagens BRM032528 e BRM032529 produziram poucos compostos, com perfis semelhantes entre si, variando apenas na área de alguns voláteis. A BRM032528 foi a linhagem que mais produziu acetaldeído entre todas as amostras analisadas, porém esse composto não foi detectado na linhagem BRM032529. A cultura da BRM032528 também produziu mais 2,3-butanodiona, 2-nonanona e ácido acético que a BRM032529, além de ácido hexanoico e ácido octanoico.

A linhagem BRM032531 apresentou o pior desempenho, com apenas 6 compostos detectados. No entanto, destacou-se pela alta produção de etanol e baixa produção de ácido acético, o que é um fator positivo, dada a qualidade desagradável do odor desse composto.

A acetona e 2-butanona são cetonas que contribuem para o sabor do leite fermentado, mas em menor importância, se compararmos com o acetaldeído (CARCOBA et al., 2000). Com exceção da BRM032531, as linhagens apresentaram áreas elevadas de acetona. Por outro lado, apenas a linhagem BRM032752 produziu 2-butanona.

Os ésteres de etila são originados da esterificação enzimática de ácidos e etanol e contribuem para o aroma frutado e sabor adocicado de produtos lácteos (MOLIMARD et al., 1996). O acetato de etila foi encontrado apenas no leite inoculado pela linhagem BRM032752, enquanto o acetato de butila e o acetato de 3-metilbutila foram encontrados nos leites inoculados pelas linhagens BRM032751 e BRM032752.

Os terpenos foram encontrados em pequenas concentrações em relação aos demais compostos. No entanto, isso não os faz menos importantes, pois são compostos altamente odoríferos. Os terpenos encontrados em leite e produtos lácteos parecem afetar positivamente o aroma de produtos lácteos e são provenientes da dieta de vacas leiteiras à base de uma mistura de plantas dicotiledôneas. Nas últimas décadas, têm sido usados como um dos biomarcadores para o rastreamento de queijos e derivados lácteos, já que têm o perfil modificado de acordo com a região onde são produzidos (TOSO et al., 2002; CHION et al., 2010; TORNAMBÉ et al., 2006).

Conclusão

As culturas lácticas de *Lactobacillus rhamnosus* das linhagens BRM032750 e BRM032751 produzem muitos dos compostos voláteis importantes para o aroma do leite fermentado. No entanto, como elas também produzem muito ácido acético, recomenda-se que o seu desempenho seja avaliado na fabricação de queijos, em um estudo acompanhado de análise sensorial, para verificar se a produção do ácido acético não interfere negativamente no sabor do produto. A linhagem BRM032752 também é promissora, pois, apesar de ter produzido menos compostos de interesse, gerou pouco ácido acético.

Referências

- AMIOT, J. **Ciencia y tecnologia de la leche: principios e aplicaciones**. Zaragoza: Acribia, 1991. p. 547.
- BONCZAR, G.; WSZOLEK, M.; SIUTA, A. The effects of certain factors on the properties of yoghurt made from ewe's milk. **Food Chemistry**, v. 79, p. 85-91, 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. Aprova regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, Seção 1, p. 3977. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1218>>. Acesso em: 02 dez. 2015.
- CARCOBA, R; DELGADO, T; RODRIGUEZ, A. Comparative performance of a mixed strain starter in cow's milk, ewe's milk and mixtures of these milks. **European Food Research and Technology**, v. 211, p. 141-146, 2000.
- CHENG, H. Volatile flavor compounds in yogurt: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 50, p. 938-950, 2010.
- CHION, A.R.; TABACCO, E.; GIACCONE, D.; PEIRETTI, P.G.; BATTELLI, G.; BORREANI, G. Variation of fatty acid and terpene profiles in mountain milk and "Toma piemontese" cheese as affected by diet composition in different seasons. **Food Chemistry**, v. 121, p. 393-399, 2010.
- DOLCI, P.; ALESSANDRIA, V.; ZEPPA, G.; RANTSIOU, K.; COCOLIN, L. Microbiological characterization of artisanal Raschera PDO cheese: analysis of its indigenous lactic acid bacteria. **Food Microbiology**, v. 25, p. 392-399, 2008.
- GADAGA, T. H.; VILJOEN, B. C.; NARVHUS, J. A. Volatile compounds in fermented milk. **Food Technology and Biotechnology**, v. 45, p. 195-200, 2007.

GARABAL J. I.; RODRÍGUEZ-ALONSO, P.; CENTENO, J. A. Characterization of lactic acid bacteria isolated from raw cows' milk cheeses currently produced in Galicia (NW Spain). **LWT - Food Science Technology**, v. 41, p. 1452-1458, 2008.

IRIGOYEN, A.; ORTIGOSA, M.; JUANSARAS, I.; ONECA, M.; TORRE, P. Influence of an adjunct culture of *Lactobacillus* on the free amino acids and volatile compounds in a Roncal-type ewe's-milk cheese. **Food Chemistry**, v. 100, p. 71-80, 2007.

LIGOR, M. Determination of volatile and non-volatile products of Milk fermentation processes using capillary zone electrophoresis and solid phase microextraction coupled to gas chromatography. **Journal of Separation Science**, v. 31, p. 2707-2713, 2008.

MOLIMARD, P; SPINLER, H. E. Compound involved in the flavor of surface mold-ripened cheeses: origins and properties. **Journal Dairy Science**, v. 79, 169-184, 1996.

MOUNCHILI, A.; WICHTEL, J. J.; BOSSET, J. O.; DOHOO, I. R.; IMHOF, M.; ALTIERI, D.; MALLIA, S.; STRYHN, H. HS-SPME gas chromatographic characterization of volatile compounds in milk tainted with off-flavor. **International Dairy Journal**, v. 15, p. 1203-1215, 2005.

NIKOLIC, M.; TERZIC-VIDOJEVIC, A.; JOVCIC, B.; BEGOVIC, J.; GOLIC, N.; TOPISIROVIC, L. Characterization of lactic acid bacteria isolated from Bukuljac, a homemade goat's milk cheese. **International Journal Food Microbiology**, v.122, p.162-170, 2008.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. Livro de Química na Web. Disponível em: <<http://webbook.nist.gov/chemistry>>. Acesso em: 15 dez. 2015.

PAWLISZYN, J. **Applications of solid phase microextraction**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1999. (RSC Chromatography Monographs).

PHEROBASE. **The database of pheromones and semiochemicals**. Disponível em: <<http://www.pherobase.com>>. Acesso em: 15 dez. 2015.

POURAHMAD, R.; ASSADI, M. Yoghurt production by Iranian native starter cultures. **Nutrition & Food Science**, v. 35, p. 410-415, 2005.

RESA, P.; BOLUMAR, T.; ELVIRA, L.; PÉREZ, G.; ESPINOSA, F. M. de. Monitoring of lactic acid fermentation in culture broth using ultrasonic velocity. **Journal of Food Engineering**, v. 78, p. 1083-1091, 2007.

TORNAMBÉ, G.; CORNU, A.; PRADEL, P.; KONDJAYAN, N.; CARNAT A.P.; PETIT, M.; MARTIN, B. Changes in terpene content in milk from pasture-fed cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 2309-2319, 2006.

TOSO, B.; PROCIDA, G.; STEFANON, B. Determination of volatile compounds in cows' milk using headspace GC-MS. **Journal of Dairy Research**, v. 69, p. 569-577, 2002.

Embrapa

Agroindústria Tropical



MINISTÉRIO DA
**AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO**

