



UTILIZAÇÃO DE FOSFOLIPASES EM QUEIJOS - UMA REVISÃO

Edna Marina de Oliveira Domingos^a, Adriano Gomes da Cruz^b, Denise Sobral^c, Junio César Jacinto de Paula^c, Renata Golin Bueno Costa^c

^a Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados - UFJF/Embrapa/EPAMIG ILCT, Juiz de Fora, MG, Brasil.

^b Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), Departamento de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^c Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), Instituto de Laticínios Cândido Tostes (ILCT), Juiz de Fora, MG, Brasil.

Resumo

As enzimas são grandes aliadas nos processos industriais de vários segmentos e estão ganhando força no mercado pelas várias possibilidades de facilitar e melhorar processos e produtos. Apesar deste crescimento ser observado em vários segmentos, o de alimentos tem grande destaque devido as possíveis modificações em matérias-primas e obtenção de produtos específicos. No setor lácteo, a produtividade e funcionalidade dos produtos têm sido destaques quando se trata do uso de enzimas, e a fosfolipase vem ganhando destaque pelos impactos positivos em leite e derivados. Apesar de existir um número reduzido de trabalhos publicados, alguns autores apresentam resultados positivos quanto ao uso da fosfolipase em lácteos, principalmente em queijos de massa filada.

Palavras-chave: enzima; rendimento; lipídeos; bioquímica.



1. INTRODUÇÃO

Classificam-se como enzimas, um grupo de proteínas produzidas pelos organismos vivos, que têm a habilidade de acelerar os processos bioquímicos. Por essa razão, muitas vezes são chamadas de biocatalisadores. A ação das enzimas é específica, cada uma catalisa somente um tipo de reação (Vidal & Netto, 2018).

Presentes em microrganismos, animais e vegetais, elas são usadas direta ou indiretamente pela humanidade há milhares de anos, mas sua importância só foi reconhecida em meados do século XIX, quando cientistas descobriram como atuam. Essa maior compreensão possibilitou o emprego dessas proteínas especiais em processos industriais de diferentes áreas: médica, alimentícia, têxtil, química, de papel e celulose e muitas outras. (Fernandes et al., 2007).

Atualmente, o mercado enzimático vem apresentando um crescimento significativo devido à ampla variedade de oferta em aplicações industriais. As enzimas empregadas nas indústrias de papel, couro e biocombustíveis tendem a um aumento de produção, porém são as direcionadas à indústria de alimentos que representam grande parte desse mercado (Martins et al., 2019).

Para aplicação de enzimas em escala industrial, alguns fatores como, especificidade, estabilidade de armazenamento, disponibilidade e custos devem ser avaliados. Além desses, também deve ser determinado o potencial da enzima por meio do pH, temperatura, potencial iônico, tempo de reação e substrato (Monteiro & Silva, 2009).

No setor alimentício, as enzimas têm papel importante, além do uso com o objetivo de modificar matérias-primas e obter produtos específicos, elas podem influenciar na composição, no processamento e na deterioração dos alimentos. A Tabela 1 apresenta as principais enzimas utilizadas na indústria de alimentos, sua origem e aplicações (Silva et al., 2017).



Tabela 1. Principais enzimas utilizadas nas indústrias de alimentos.

Enzima	Origem	Aplicação
Amilase	<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. oryzae</i> , <i>Bacillus subtilis</i> ,	Melhorador de massas e produção de xaropes
Celulase	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Trichoderma reesei</i>	Preparação de concentrados líquidos de café, clarificação de sucos
Glicose Oxidase	<i>Aspergillus niger</i>	Eliminação da glicose dos sólidos do ovo
Invertase	<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	Mel artificial
Lactase	<i>Sacharomyces fragilis</i>	Hidrolise da lactose
Lipase	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Rhizopus spp</i> , <i>Mucor spp</i>	Sabor ao queijo
Pectinase	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Rhizopus spp</i> , <i>Penicillium</i>	Clarificação de vinho e de suco de frutas
Protease	<i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	Clarificação de cerveja e amaciante de carne

Fonte: Monteiro & Silva, 2009.

Dentre as indústrias de alimentos, os laticínios contam tanto com as enzimas naturais do leite, quanto as adicionadas no processo de produção com objetivos tecnológicos. A composição do leite proporciona condições favoráveis para as reações biológicas, as quais podem ser responsáveis por resultados benéficos ou indesejáveis em produtos lácteos (Silva et al., 2018).

As proteases, lactases, transglutaminase e lipases, são algumas enzimas utilizadas no setor lácteo. As proteases são utilizadas para coagulação do leite e aceleração no processo de maturação de queijos. As lactases possibilitam a fabricação de produtos com reduzidos teores de lactose e as transglutaminase auxiliam no melhoramento de textura (Sum, 2011). As lipases auxiliam na melhoria de sabor no queijo.

Dentre os vários benefícios tecnológicos que as enzimas proporcionam nas indústrias, a melhoria na produtividade e funcionalidade dos produtos se destacam.



Devido a gama de enzimas utilizadas no processamento de lácteos, esse artigo fará um relato das fosfolipases que são lipases que atuam sobre os fosfolipídeos do leite e os benefícios tecnológicos advindos do uso da enzima.

2. FOSFOLIPÍDEOS

Os lipídeos estão presentes no leite na forma de glóbulos esféricos constituídos por uma camada, denominada membrana do glóbulo de gordura, composta de proteínas, fosfolipídeos, glicolipídeos, esteróis e glicerídeos (Tabela 2). A membrana do glóbulo de gordura protege o lipídeo da ação enzimática e impede que os glóbulos se fundam ou floculem (El-Loly, 2011).

Os fosfolipídeos representam cerca de 0,5-1% do total de gordura do leite e estão presentes majoritariamente (em torno de 65%) na membrana do glóbulo de gordura (Karahan & Akin, 2017). Os principais fosfolipídeos são as fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina e esfingomiéline aproximadamente na proporção de 2:2:1, respectivamente (Fox et al., 2015).

Os fosfolipídeos tem papel de destaque nas propriedades tecnológicas pelas suas propriedades emulsificantes, devido a composição da molécula ser composta de uma parte hidrofílica e outra hidrofóbica (Contarini & Povolo, 2013). No sorvete, a presença de fosfolipídeos possibilita que aconteça a mistura de cristais de gelo e água na forma líquida. Em produtos aerados como glacê e coberturas batidas proporciona aumento de volume (Casado et al., 2012; Karahan & Akin, 2017). Na manteiga, os fosfolipídeos estão relacionados com a separação de fases durante o processo de bateção e atua como agente de nucleação, auxiliando na formação de cristais menores de gordura (Karahan & Akin, 2017). No leite tem papel importante na cristalização da gordura o que impacta no aspecto sensorial e tecnológico de creme de leite (Casado et al., 2012).



Tabela 2. Composição da membrana do glóbulo de gordura

Componentes	mg/ 100g no glóbulo de gordura	% (m/m) na membrana
Proteína	900	41
Fosfolipídeos	600	27
Cerebrosídeos	80	3
Colesterol	40	2
Glicerídeos neutros	300	14
Água	280	13

Fonte: Fox et al., 2015.

Além da parte tecnológica, os fosfolipídeos têm efeitos na prevenção de doenças cardíacas, câncer e inflamação e infecções gastrointestinais. Estima-se uma ingestão alimentar média de 2 a 8 g de fosfolipídeos por dia por meio de grãos de cereais, sementes oleaginosas, ovos, peixes, carne bovina e leite. Dentre os fosfolipídeos, os esfingolipídios e seus produtos de digestão (ceramidas e esfingosina) são considerados como os compostos mais bioativos, sendo os derivados do leite a principal fonte dos esfingolipídios (Contarini & Povolo, 2013). Por estarem presentes majoritariamente no glóbulo de gordura, os produtos com maior teor de gordura como creme de leite, manteiga e *buttermilk* apresentam maior quantidade dos fosfolipídeos.

3. LIPASES

As enzimas que têm como substrato os lipídeos podem ser diferenciadas em lipases e esterases de acordo com o comprimento da cadeia de éster, natureza do substrato (emulsificado ou não) e cinética enzimática. No entanto, os dois termos são utilizados sem distinção na literatura científica (Thierry et al., 2017).

Para ocorrer uma ação lipolítica é necessário o rompimento da membrana que pode ocorrer por ação mecânica ou enzimática pela fosfolipase e glicosidase. A lipase catalisa a hidrólise de ésteres para produzir ácidos graxos livres, glicerol, diacilglicerol e monoglicilglicerol. A ruptura do glóbulo de gordura gera um aumento da



superfície de contato e frequência elevando a eficácia da lipólise (Nascimento et al., 2016).

No leite, as lipases presentes atuam nas posições sn1 e sn3 dos triacilgliceróis e podem ser de origem microbiana ou endógena (naturalmente presente no leite). A lipase endógena não resiste ao processo de pasteurização e é sensível às proteases e à oxidação. Já as de origem microbiana, por serem mais resistente ao tratamento térmico, requerem cuidado, pois a presença de forma ocasional, pode causar modificações indesejáveis em produtos lácteos com maior tempo de vida útil (Vidal & Netto, 2018).

Quando utilizadas com objetivo tecnológico, as lipases de origem microbianas se sobressaem, pois sua produção se torna mais viável e mais segura, por apresentar alto rendimento, facilidade de manipulação genética, variadas atividades catalíticas e rápido crescimento de microrganismos em meios baratos (Ramalho et al., 2019).

Por se tratar de uma enzima bem versátil, a lipase se torna atraente para as indústrias de alimentos. No setor lácteo, é utilizada para realçar aroma, modificar sabor e acelerar maturação de queijos. Além disso, atua na fabricação de gordura de leite lipolisada que é a gordura láctea modificada para elaboração de outros produtos como, aromas de manteiga para margarina, xaropes, cobertura de chocolate, cremes e molhos artificiais e aditivos saborizantes de queijos. Além disso, atuam nos processos de panificação, bebidas, carnes e laticínios. (Sampaio, 2020; Sum, 2011).

Mesmo com os vários benefícios que a enzima proporciona às indústrias, o alto valor de produção faz com que a aplicação biotecnológica em escala industrial seja reduzida. Conhecer as condições ótimas da aplicação da lipase e as diferenças e semelhanças entre os diferentes suportes de imobilização é fundamental para um melhor aproveitamento em diversos processos industriais (Ramalho et al., 2019).

O uso de diferentes suportes para imobilização das enzimas lipolíticas, apresentam alguns benefícios quanto ao uso em escala industrial, a possibilidade de operar em sistemas de fluxo contínuo reduzindo custos de um determinado produto é um desses benefícios, além da estabilidade térmica e ao pH, a fácil recuperação e a redução de inibição por produtos e fácil redução (Nascimento et al., 2016).



4. FOSFOLIPASES

As fosfolipases referem-se a um grupo de lipases que se diferenciam conforme a hidrólise de fosfolípidos e lípidos (Borrelli & Trono, 2015).

A fosfolipase hidrolisa as ligações de éster de fosfolípidos, e dependendo do local de hidrólise pode gerar diversos produtos, como liso-fosfolípidos, ácidos graxos livres, diacilgliceróis, fosfato colina, fosfatídicos (Borrelli & Trono, 2015).

As fosfolipases são divididas de acordo com o local de clivagem na molécula de fosfolípido em quatro classes:

- Fosfolipase A (PLA): são acil-hidrolases que são subdivididas em PLA1 (EC 3.1.1.32) que hidrolisa a primeira ligação acil éster na posição sn1 do fosfolípido e PLA2 (EC 3.1.1.4) que hidrolisa a segunda ligação acil éster (posição sn2). Dessa reação da PLA1 e PLA2 originam-se um ácido graxo livre e 2-acil lisofosfolípido ou 1-acil lisofosfolípido, respectivamente. Algumas fosfolipases podem ser denominadas apenas PLA, pois apresentam baixa seletividade para as posições sn1 e sn2.
- Fosfolipase B (PLB) (EC 3.1.1.5): são enzimas capazes de hidrolisar ambas as ligações acil éster na posição sn1 e sn2.
- Fosfolipase C (PLC) (EC 3.1.4.3): são fosfodiesterases que clivam a ligação glicerofosfato liberando assim diacilglicerol e um composto fosforilado.
- Fosfolipase D (PLD) (EC 3.1.4.4): são fosfodiesterases que cliva a ligação fosfodiésterica terminal, que remove o grupo polar que está ligado ao grupo fosfato e libera ácido fosfatídico (PA) (Borrelli & Trono, 2015; De Maria et al., 2007).

Segundo Nielsen e Hoier (2009), as fosfolipase aplicadas na fabricação de alimentos vêm sendo notadas pelo aumento de rendimento e impactos positivos na qualidade dos produtos, além de ser considerada uma proposta sustentável do ponto de vista ambiental.

As enzimas fosfolipase têm grande aplicação para diversos ramos industriais, principalmente para as empresas de alimentos. Podem ser empregadas na produção de óleo vegetal, amido, ingredientes de panificação e em lácteos onde atua como estabilizante, emulsificantes em produtos como leite, queijos, sorvetes e manteigas (De Maria et al., 2007; Karahan & Akin, 2017; Trancoso-Reyes et al., 2014).



Além disso, as fosfolipases são específicas e apresentam pouca atividade na atuação em diacilglicerol e triacilglicerol presentes no leite, que são mais hidrolisados pelas lipases. Portanto, as fosfolipases não liberam ácidos graxos de cadeia curta (voláteis) presentes nos diacil e triacilglicerol que podem causar defeitos de sabor em queijos. Os fosfolipídeos apresentam principalmente ácidos graxos não voláteis como ácidos palmítico, oleico e esteárico, que não causam impacto no aroma do queijo (Kelly et al., 2008).

A importância dos fosfolipídeos na tecnologia de fabricação em alguns produtos lácteos intensifica a aplicação da fosfolipase. Com grande interesse por parte das indústrias em aumentar a produção de queijos, um método enzimático foi desenvolvido, por meio do tratamento do leite com fosfolipase para fabricação desses produtos que além de melhorar o rendimento, não prejudica a qualidade do produto final (Karahhan & Akin, 2017; Kelly et al., 2008).

Embora seja um produto de importância socioeconômica para o cenário brasileiro de produção de lácteos, Brito (2019), afirma que a literatura científica ainda apresenta um reduzido número de publicações relativa à aplicação de fosfolipase na fabricação de queijos.

5. FOSFOLIPASE COMERCIAL A1

Segundo Tafes (2019), a aplicação da fosfolipase para a fabricação de queijos com objetivo de aumentar o rendimento é uma tecnologia considerada recente, foi introduzida em 2005 por Novozymes A/S e Christian Hansen que desenvolveu uma enzima com o objetivo de aumentar o rendimento da fabricação de queijos, através do aumento da retenção da gordura na coalhada (Hansen, 2017).

A fosfolipase utilizada em queijos é a fosfolipase A1, uma solução padronizada de enzima produzida por *Fusarium venenatum* através de fermentação submersa de uma cepa de *Aspergillus oryzae*. A sua função é otimizar o processo de coagulação do leite, aumentando o rendimento em queijo pelo aumento das propriedades de emulsificação dos fosfolipídeos do leite destinado à fabricação de queijo (Brito, 2019; Casado et al., 2012).

A enzima hidrolisa a ligação ester sn1 do fosfolipídeo gerando lisofosfolipídeo e ácidos graxos (Lilbaek et al., 2006). Quando adicionado ao leite durante o processo



de fabricação, essa enzima hidrolisa os fosfolípidos da membrana dos glóbulos de gordura, gerando um composto (lisofosfolípido) altamente emulsificante que emulsiona água e gordura durante o processamento e reduz a sinérese. Também os fosfolípidos interagem com as proteínas, formando complexos lipoproteicos (Lilbaek et al., 2006; Kelly et al., 2008). Esse processo mantém os componentes do leite no queijo, promovendo um aumento do rendimento de 3,2%, melhora a emulsificação e a capacidade de retenção de água no queijo (Lilbaek et al., 2006).

Essa reação promovida pela fosfolipase aumenta a retenção de gordura e umidade na coalhada, normalmente de 85% a 95% da gordura e 75% da proteína do leite continuam retidas na coalhada (De Maria et al., 2007). A fosfolipase comercial A1 não interfere nas propriedades de coagulação do queijo (Kelly et al., 2008).

A enzima permanece estável até 45 °C, acima dessa temperatura inicia-se a desnaturação da enzima, até ocorrer uma inativação irreversível. Mais de 90% da enzima é destruída durante o processo de pasteurização (72 °C/15 s), portanto, para a fabricação de queijos, é importante a adição após o tratamento térmico do leite (Hansen, 2017).

Quanto ao pH, a fosfolipase comercial A1 permanece estável para os intervalos de pH que ocorrem durante o processo normal de fabricação do queijo, pH este, comparável ao da lipase de *A. niger* que apresenta pH ótimo de 5,5 (Nascimento et al., 2016).

Segundo o fabricante, a dosagem recomendada para o uso de fosfolipase comercial A1 é baseada no teor de gordura do leite; quanto maior o teor de gordura, maior o volume aplicado para a fabricação de queijos. A proporção é de 5 LEU-P (Lecitase units) / g de gordura, sendo LEU-P a unidade que expressa a força da enzima fosfolipase, que neste caso é de 2.300 LEU-P/mL (Trancoso-Reyes et al., 2014).

Alguns trabalhos apresentam resultados satisfatórios do uso da fosfolipase comercial A1. A aplicação da enzima PLA1 no queijo Mussarela reduziu a perda de gordura no soro e aumentou o rendimento ajustado em mais de 1%, sem alteração nos atributos sensoriais e de funcionalidade, nem no processamento posterior do soro (Höier et al., 2006). Lilbaek et al. (2006) também verificaram que a enzima



melhorou o rendimento do queijo Mussarela com um aumento 3,2% e no rendimento ajustado de 1,45% sem prejudicar as propriedades funcionais de escurecimento, derretimento e elasticidade da Mussarela. A hidrólise do fosfolipídio antes da coagulação do leite melhorou a umidade e a retenção de gordura durante a drenagem do soro.

Por outro lado no queijo mexicano Chihuahua, cuja tecnologia de fabricação assemelha-se ao Cheddar, não foi verificado aumento no rendimento com o uso da enzima fosfolipase. Possivelmente pela forma de fabricação da Mussarela, em que ocorre perda de gordura da massa durante a filagem na água quente, e a enzima pode ter apresentado um efeito mais evidente na retenção da gordura nesse queijo. Porém, quando o queijo Chihuahua foi fabricado com fosfolipase e bactérias produtoras de exopolissacarídeo, essa associação provocou uma melhoria no rendimento e aumento do teor de umidade e de gordura. Outro fato interessante observado pelos autores foi o aumento do teor de proteína nos queijos fabricados com a fosfolipase comercial A1, que pode ser uma interação dos lisofosfolídeos com as proteínas do leite (Trancoso-Reyes et al., 2014).

No queijo Minas Frescal é possível a utilização da fosfolipase em escala industrial, com impactos positivos no rendimento, sem alteração sensorial no produto. Foi observado um maior teor de umidade e de gordura nos queijos fabricados com a fosfolipase e um maior rendimento, passando de 15,8 kg queijo/100kg leite (sem a enzima) para 16,5kg queijo/100kg leite (com a fosfolipase). O leite utilizado na fabricação desse queijo foi padronizado para 2,7-2,9% gordura, abaixo do normalmente utilizado para esse queijo, em média, 3,2% (m/m) de gordura (Brito, 2019).

O impacto ambiental pelo uso da fosfolipase na produção de lácteos contribui para redução do aquecimento global em cerca de 230 kg de CO₂ equivalente × (1.000 kg de Mussarela), em média 40% a 50% do produto. Esse efeito é devido a economia geral na redução de custos de produção, portanto, a enzima pode contribuir com a redução das emissões de gases com efeito de estufa (Nielsen & Høier, 2009).



6. LEGISLAÇÃO

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é responsável pela regulamentação das preparações enzimáticas através da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 53 e 54 de 07 de outubro 2014. As fosfolipase tipo A1, A2 e C estão previstas na lista de enzimas de origem microbiana que podem ser utilizadas na produção de alimentos em geral no Brasil. A resolução não aborda a quantidade de enzima que pode ser utilizada e não especifica os alimentos (BRASIL, 2014a,b).

A Portaria nº 146 de 07 de março de 1996, aprova o Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos que autoriza o uso de lipases na elaboração de queijos de média e baixa umidade (BRASIL, 1996). No entanto, não faz menção sobre o uso da fosfolipase, possivelmente por se tratar de uma enzima recente (2005) e essa legislação ser anterior a essa data.

7. CONCLUSÃO

O mercado enzimático está em expansão em diferentes setores industriais e se mostra promissor principalmente para o setor lácteo. A simplificação na produção em escala industrial pode diminuir o custo do produto e impulsionar o uso de enzimas por diferentes públicos.

Apesar de poucos trabalhos publicados, alguns autores mostraram resultados positivos para o uso de fosfolipase, principalmente em queijos de massa filada.



8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Brasil. Portaria Nº 146, de 07 de março de 1996. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. Diário Oficial da União: Brasília, DF, 11 mar. 1996.

Brasil. Resolução de Diretoria Colegial – RDC Nº 53, de 07 de Outubro de 2014. Dispões sobre a lista de enzimas, aditivos alimentares e veículos autorizados em preparações enzimáticas para uso na produção de alimentos em geral. Diário Oficial da União: Brasília, DF, nº194, 08 out. 2014a.

Brasil. Resolução de Diretoria Colegial – RDC Nº 54, de 07 de Outubro de 2014. Regulamento Técnico sobre Enzimas e Preparações Enzimáticas para Uso na Produção de Alimentos em Geral. Diário Oficial da União: Brasília, DF, nº194, p. 120, 08 out. 2014b.

Borrelli, G. M., & Trono, D. (2015). Recombinant lipases and phospholipases and their use as biocatalysts for industrial applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(9), 20774–20840. <https://doi.org/10.3390/ijms160920774>

Brito, M. C. (2019). Efeitos Da Utilização De Enzima Fosfolipase Na Fabricação De Queijo Minas Frescal. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do leite e derivados) - Universidade Federal de Juiz de Fora- MG

Casado, V., Martín, D., Torres, C., & Reglero, G. (2012). Phospholipases in Food Industry: A Review. *Methods in Molecular Biology*, 861(October 2015), 3–30. <https://doi.org/10.1007/978-1-61779-600-5>

Contarini, G., & Povolo, M. (2013). Phospholipids in milk fat: Composition, biological and technological significance, and analytical strategies. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(2), 2808–2831. <https://doi.org/10.3390/ijms14022808>

De Maria, L., Vind, J., Oxenbøll, K. M., Svendsen, A., & Patkar, S. (2007). Phospholipases and their industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74(2), 290–300. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0775-x>

El-Loly, M. M. (2011). Composition, properties and nutritional aspects of milk fat globule membrane - a Review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 61(1), 7–32. <https://doi.org/10.2478/v10222-011-0001-0>

Fernandes, M., Milagres, A., & Mussatto, S. (2007). Enzimas - Poderosa Ferramenta na Indústria. *Ciência Hoje*, 41(April), 28–33.

Fickers, P., Destain, J., & Thonart, P. (2008). Les lipases sont des hydrolases atypiques : principales caractéristiques et applications. *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment*, 12(2), 119–130.

Fox, P. F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P. L. H., & O'Mahony, J. A. (2015). *Dairy*



Chemistry and Biochemistry. Springer.

Hansen, C. (2017). *Uma nova opção para aumentar o rendimento do seu queijo*. Informativo Ha la biotec, n.140, 1–4.

Høier, E., Lilbæk, H., Broe, M. L., & Sørensen, N. K. (2006). Enhancing cheese yield by phospholipase treatment of cheese milk. *Australian Journal of Dairy Technology*, 61(2), 179–182.

Karahan, L. E., & Akin, M. S. (2017). Phospholipase Applications in Cheese Production. *Journal of Food Science and Engineering*, 7(6), 4–8.
<https://doi.org/10.17265/2159-5828/2017.06.004>

Kelly, A. L., Huppertz, T., & Sheehan, J. J. (2008). Pre-treatment of cheese milk: Principles and developments. *Dairy Science and Technology*, 88(4–5), 549–572.
<https://doi.org/10.1051/dst:2008017>

Lilbæk, H. M., Broe, M. L., Høier, E., Fatum, T. M., Ipsen, R., & Sørensen, N. K. (2006). Improving the yield of mozzarella cheese by phospholipase treatment of milk. *Journal of Dairy Science*, 89(11), 4114–4125.
[https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(06\)72457-2](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(06)72457-2)

Martins, G. A. de S., Silva, J. F. M. da, & Nascimento, G. N. do. (2019). *Ciência e Tecnologia de Alimentos: Conceitos e Aplicações* (Vol. 1). EDUFT: Palmas. 124p.

Monteiro, V. N., & Silva, R. do N. (2009). Aplicações Industriais da Biotecnologia Enzimática. *Revista Processos Químicos*, 3(5), 9–23.
<https://doi.org/10.19142/rpq.v3i5.83>

Nascimento, P. A. M., Titato, J. F., Pereira, J. F. B., & Ebinuma, V. de C. S. (2016). XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática *XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016*, 2(2014), 2–5.

Nielsen, P. H., & Høier, E. (2009). Environmental assessment of yield improvements obtained by the use of the enzyme phospholipase in mozzarella cheese production. *International Journal of Life Cycle Assessment*, 14(2), 137–143.
<https://doi.org/10.1007/s11367-008-0048-2>

Ramalho, E. X., Agudelo, L. Mar. G., Fernandes, P. H. B., Avila, C. O., & Dutra, R. S. (2019). Análise Dos Custos De Produção De Lipases Produzidas Por Fermentação Em Estado Sólido Em Um Biorreator De Bandejas. In: Anais do XIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. São Paulo: Blucher, 2019. ISSN 2359-1757, DOI 10.5151/cobecic2019-PBIO52

Sampaio, D. A. (2020). *Processos Químicos e Biotecnológicos. Volume 5 .1ª Edição Poisson: Belo Horizonte*. 158 p.



Silva, C. R. de A., Silva, A. de O., Jodas, L., Santos, R. F., & Barbosa, S. (2017). Biotecnologia Aplicada a Produção De Alimentos Fermentados. *Enciclopédia Biosfera*, 9, 1387.

Silva, J. M. S. da, Gouveia, A. B. V. S., Silva, W. J. da, Paulo, L. M. de, Santos, F. R. dos, & Minafra, C. S. (2018). Uso de enzimas para aumentar a qualidade nutricional de farinhas de origem animal. *Pubvet*, 12(8), 1–13.
<https://doi.org/10.31533/pubvet.v12n8a156.1-13>

Sum, J. B. (2011). As enzimas na fabricação de produtos lácteos. *Aditivos & Ingredientes*, 78, 27–36.

Tafes, A. G. (2019). The Application of Novel Inputs and Advanced Technology in Dairy Product Processing a Review. In Dairy Product Processing a Review Journal of dairy & veterinary sciences, 14(2): 555882.
<https://doi.org/10.19080/JDVS.2019.14.555882>

Thierry, A., Collins, Y. F., Abeijón Mukdsi, M. C., McSweeney, P. L. H., Wilkinson, M. G., & Spinnler, H. E. (2017). Lipolysis and Metabolism of Fatty Acids in Cheese. In P. F. Fox, P. L. H. McSweeney, T. M. Cogan, & T. P. Guinee (Eds.), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (3rd ed., pp. 423–444). Academic Press.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00017-X>

Trancoso-Reyes, N., Gutiérrez-Méndez, N., Sepulveda, D. R., & Hernández-Ochoa, L. R. (2014). Assessing the yield, microstructure, and texture properties of miniature Chihuahua-type cheese manufactured with a phospholipase A1 and exopolysaccharide-producing bacteria. *Journal of Dairy Science*, 97(2), 598–608.
<https://doi.org/10.3168/jds.2013-6624>

Vidal, A. M. C., & Saran Netto, A. (2018). Obtenção e processamento do leite e derivados. In *Obtenção e processamento do leite e derivados*.
<https://doi.org/10.11606/9788566404173>