

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**EFEITO DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS NO LEITE  
SOBRE O RENDIMENTO E A QUALIDADE DO QUEIJO MUSSARELA**

Autor: Karyne Oliveira Coelho

Orientador: Prof. Dr. Albenones José de Mesquita

GOIÂNIA  
2007



**Termo de Ciência e de Autorização para Disponibilizar as Teses e Dissertações Eletrônicas (TE-DE) na Biblioteca Digital da UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás–UFG a disponibilizar gratuitamente através da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações – BDTD/UFG, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico:  Dissertação  Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor: **Karyne Oliveira Coelho** CPF: E-mail: **kocoelho@yahoo.com.br**

Seu e-mail pode ser disponibilizado na página?  Sim  Não

Vínculo Empregatício do autor: **UEG** Agência de fomento:

País: **Brasil** UF: **GO** CNPJ: Sigla:

Título: Efeito dos níveis de células somáticas sobre o rendimento e a qualidade do queijo mussarela Palavras-chave: **mastite bovina, qualidade do leite, proteólise do queijo**

Título em outra língua: **Effect of somatic cell count on quality in mozzarella cheese**

Palavras-chave em outra língua: **mastitis, quality milk, proteolysis**

Área de concentração: **Higiene e Tecnologia de Alimentos** Data defesa: (dd/mm/aaaa)  
**19/12/2008**

Programa de Pós-Graduação: **Ciência Animal**

Orientador(a): **Albenones José de Mesquita & Paulo Fernando Machado** CPF: E-mail: **mesquita@vet.ufg.br**

Co-orientador(1): **Antonio Nonato de Oliveira** CPF: E-mail: **nonato@vet.ufg.br**

Co-orientador(2): **Moacir Evandro Lage** CPF: E-mail: **moacir@vet.ufg.br**

3. Informações de acesso ao documento:

Liberção para disponibilização?<sup>1</sup>  total  parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:


[ ] Capítulos. Especifique:

[ ] Outras restrições:

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Goiânia 14 de janeiro de 2009

  
Assinatura do(a) autor(a)

<sup>1</sup> Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

KARYNE OLIVEIRA COELHO

EFEITO DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS NO LEITE  
SOBRE O RENDIMENTO E A QUALIDADE DO QUEIJO  
MUSSARELA

Tese apresentada para a obtenção do  
grau de Doutor em Ciência Animal  
junto à Escola de Veterinária da  
Universidade Federal de Goiás

**Área de Concentração:**  
Higiene e Tecnologia de Alimentos

**Orientador da Instituição de Origem:**  
Prof. Dr. Albenones José de Mesquita EV/UFG

**Orientador da Instituição de Destino:**  
Prof. Dr. Paulo Fernando Machado ESALQ/USP

**Comitê de Orientação:**  
Prof. Dr. Antônio Nonato de Oliveira EV/UFG  
Prof. Dr. Moacir Evandro Lage EV/UFG

GOIÂNIA  
2007

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(GPT/BC/UFG)

Coelho, Karyne Oliveira.

C672e Efeitos dos níveis de células somáticas no leite sobre o rendimento e a qualidade do queijo mussarela [manuscrito] Karyne Oliveira Coelho. – 2007.  
xii,56 f. : il., figs., tabs.

Orientadores: Prof. Dr. Albenones José de Mesquita, Prof. Dr. Paulo Fernando Machado; Co-Orientadores: Prof. Dr. Antônio Nonato de Oliveira, Prof. Dr. Moacir Evandro Lage.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária, 2007.

Bibliografia.

1. Mastite em bovino 2. Leite – Qualidade 3. Queijo – Qualidade 4. Mozzarella (Queijo) I. Mesquita, Albenones José de II. Machado, Paulo Fernando. III. Oliveira, Antônio Nonato de. IV. Lage, Moacir Evandro V. Universidade Federal de Goiás. Escola de Veterinária VI. Título.

*Onde você vê*

*Onde você vê um obstáculo,  
alguém vê o término da viagem  
e o outro vê uma chance de crescer.*

*Onde você vê um motivo pra se irritar,  
Alguém vê a tragédia total  
E o outro vê uma prova para sua paciência.*

*Onde você vê a morte,  
Alguém vê o fim  
E o outro vê o começo de uma nova etapa...*

*Onde você vê a fortuna,  
Alguém vê a riqueza material  
E o outro pode encontrar por trás de tudo,  
a dor e a miséria total.*

*Onde você vê a teimosia,  
Alguém vê a ignorância,  
Um outro compreende as limitações do companheiro,  
percebendo que cada qual caminha em seu próprio passo.  
E que é inútil querer apressar o passo do  
outro, a não ser que ele deseje isso.*

*Cada qual vê o que quer, pode ou consegue enxergar.*

*Porque eu sou do tamanho do que vejo.  
E não do tamanho da minha altura*

*Fernando Pessoa*

## *Dedicatória*

*Aos meus pais, Célia e Alcântara,  
À minha irmã Kamilla,*

*Pelo amor incondicional que me acompanhou  
por todos esses anos, ajudando a trilhar o meu caminho.  
Pelo Amor que transformou meus sonhos em suas vontades,  
minhas tristezas em suas lágrimas, minhas alegrias em suas vitórias.  
Sem vocês não poderia chegar até aqui!*

## *Agradecimentos*

*Chegou o momento de expressar sinceros agradecimentos aos amados familiares e amigos. Há o risco de não dar conta desse obrigado como é merecido, porque será difícil exprimir a beleza que foi esse movimento de energias em prol do meu sucesso.*

*Para maior percepção dessa história devo mencionar que esta não foi uma caminhada breve, mas uma travessia que parecia sem fim, principalmente pelas intercorrências pessoais de toda ordem, que me atropelaram. Esses obstáculos, longe de obscurecerem o trajeto, aumentaram-lhe o brilho. E, ao invés de me deterem, impulsionaram-me com mais força.*

*Se o desafio era enorme, as motivações eram grandiosas, somadas às espontâneas generosidades que fizeram possível a transformação de instantâneos momentos de angústia e sofrimento em uma estrada larga, margeada de flores e frondosas árvores, repleta de cheiros, cores, e sons e cujo nome eu denomino perseverança e cuja base é a busca de saberes, pautadas em um objetivo principal à promoção da Qualidade do Leite e de seus derivados.*

*Talvez esta tese de doutoramento seja o resultado mais visível desse processo de construção em meio a uma conjunção de afetos e amizades. Dessa forma, dando continuidade à história, dedico algumas palavras àqueles que dela fazem parte...*

*Às minhas avós de saudosa memória, Carolina e Antidia, carinhosamente chamada de maetitia, que me ensinaram o encanto de viver aprendendo com a vida.*

*Aos meus familiares avós, avôs, tios, tias, primos e a minha madrinha Maria do Socorro "Fia", pelo carinho, confiança e pelas palavras de motivação. E especialmente por compreender os constantes momentos de ausência.*

*Ao Professor Dr. Albenones José de Mesquita, que tive a oportunidade de conhecer na academia e descobrir que pautamos nossas vidas por trabalho, estudo e amor na área de Qualidade dos Alimentos. Obrigada pela liberdade, pelo carinho, pela paciência, por sua disponibilidade irrestrita, sua forma exigente, crítica e criativa de argüir as idéias apre-*

*sentadas, creio que deram norte para à realização deste trabalho, facilitando o alcance de seus objetivos.*

*Ao Professor Dr. Paulo Fernando Machado, um dos profissionais mais brilhantes que já conheci, sou imensamente grata pelo exemplo, carinho e ensinamentos. Obrigada ainda pela confiança a mim depositadas durante a realização do meu mestrado e pelas críticas sempre pautadas, em respeito e carinho, as quais foram indispensáveis para o meu desenvolvimento profissional e pessoal.*

*Aos Professores Doutores, Francisco Dias de Carvalho, Moacir Evandro Lage, Jaison Pereira de Oliveira e Antonio Nonato de Oliveira, por suas contribuições em meu exame de qualificação, pautadas em reflexões criativas sobre nosso objeto de estudo, as quais muito nos ajudaram a compreendê-lo e a realizar uma análise crítica sobre o mesmo.*

*Aos Professores doutores Ana Paula Junqueira Kipnis, Beneval Rosa, Guido Fontgaland Coelho Linhares, Jurij Sobestiansky e Percilo Brasil dos Passos que participaram da minha formação acadêmica, contribuindo para o desenvolvimento do meu carinho pelo ensino, pesquisa e extensão.*

*Aos amados amigos Valter Ferreira Félix Bueno, Cleusely Matias de Souza e Tainá Leite de Almeida, pelo carinho, paciência, companheirismo, auxílio e cumplicidade.*

*Às minhas pequeninas afilhadas Beatriz e Geovana, pelos sorrisos, convívio e carinho, indispensáveis para a manutenção da minha perseverança.*

*Sou profundamente grata à amiga Ediane Batista da Silva, pela indescritível solidariedade, cumplicidade, críticas construtivas e afeto inestimável, que se traduziram sempre em continuado estímulo e valiosa parceria, circunscrita aos questionamentos existenciais nas longas e cúmplices conversas sobre a "Arte da Vida".*

*Às colegas Janete, Nilzete e Terezinha da Agência Rural do Estado de Goiás, pelos ensinamentos, auxílio na elaboração dos queijos utilizados neste trabalho, pela presteza e amizade.*

*À Cintia minafra Rezende pela oportunidade de reaproximação... Lhe agradeço ainda pelas belas palavras de apoio e motivação no processo de qualificação e defesa.*

*À Alline de Paula Reis pelo convívio, amizade, ensinamentos "matemáticos" e auxílio na realização deste trabalho.*

*Aos professores, Milton Luiz Moreira Lima pelo apoio na realização deste trabalho e Edmar Soares Nicolau pelo auxílio e, especialmente, por ter me apresentado as "meninas" da Agência Rural.*

*À Priscila Allonso dos Santos pelo auxílio na realização das análises físico-químicas dos queijos, utilizados no presente experimento.*

*Aos colegas de pós-graduação em especial a Eveline, Marcelé Louise, Suzzy Darllen, José Rubens, Caroline Paixão e Camila Melo pelos bons momentos compartilhados.*

*Aos funcionários da Escola de Veterinária em especial ao Antônio, João e Gerson Luis Barros, pelo auxílio, carinho e paciência.*

*Aos funcionários do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária, em especial, a Elza Reis da Silva, Fabiola Rocha dos Santos, Lisbônia Jhooneina Ramalho Gomes "Liz", Rodrigo Almeida de Oliveira, Rodrigo Balduino Soares Neves; Wilson Cosme Ricardo e Winder Macusuel Borges Oliveira, pelo respeito, auxílio e carinho.*

*Aos funcionários da Clínica do Leite ESALQ/USP, pelo auxílio na realização das análises de uréia e por ter me acolhido com carinho e respeito na minha formação durante o mestrado que foi a base para a conclusão deste curso de doutoramento.*

*Ao Conselho Nacional de Pesquisa - CNPq - e à Coordenação de Apoio a Pesquisa- CAPES- que me concederam a bolsa durante a realização deste doutorado.*

*Aos meus queridos alunos pela confiança, reconhecimento, respeito e bons momentos compartilhados. Confesso que aprendi muito com cada um de vocês... hoje tenho a certeza que escolhi o caminho certo. E finalizo este "muitíssimo obrigada" com as doces palavras da nossa saudosa poetiza Cora Coralina: feliz daquele que aprende o que ensina!*

*Há muito mais a quem agradecer...*

*À todos aqueles que, embora não nomeados, me presentearam com seus inestimáveis apoios em distintos momentos e por suas presenças afetivas e inesquecíveis.*

*Obrigada!*

*Karyne Oliveira Coelho*

## SUMÁRIO

|   |     |
|---|-----|
| RESUMO.....   | x   |
| SUMMARY .....   | xii |
| CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS .....  | 1   |
| REFERÊNCIAS.....  | 5   |
| CAPÍTULO 2 – EFEITO DOS NÍVEIS DE CÉLULAS SOMÁTICAS SOBRE O RENDIMENTO E A COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO QUEIJO MUSSARELA .....                            | 9   |
| 2.1 INTRODUÇÃO .....  | 10  |
| 2.2 MATERIAL E MÉTODOS .....  | 11  |
| 2.2.1 Obtenção do leite .....   | 11  |
| 2.2.2 Fabricação dos queijos mussarela .....  | 12  |
| 2.2.3 Procedimentos de amostragem e análises realizadas .....   | 13  |
| 2.2.4 Procedimentos analíticos .....  | 14  |
| 2.2.5 Rendimento dos queijos .....  | 16  |
| 2.2.6 Análise estatística .....   | 16  |
| 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....   | 17  |
| 2.4 CONCLUSÕES .....  | 26  |
| 2.5 REFERÊNCIAS.....  | 26  |
| CAPÍTULO 3- EFEITO DOS NÍVEIS DE CÉLULAS SOMÁTICAS DO LEITE SOBRE A MICROBIOTA E A PROTEÓLISE DO QUEIJO MUSSARELA DURANTE O PERÍODO DE ARMAZENAMENTO..... | 32  |
| 3.1 INTRODUÇÃO .....  | 33  |
| 3.2 MATERIAL E MÉTODOS .....  | 34  |
| 3.2.1 Obtenção do leite .....   | 34  |
| 3.2.2 Fabricação dos queijos mussarela .....  | 35  |
| 3.2.3 Procedimentos de amostragem e análises realizadas .....   | 36  |
| 3.2.4 Procedimentos analíticos .....  | 37  |
| 3.2.5 Análise estatística .....   | 40  |
| 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....   | 41  |
| 3.4 CONCLUSÕES .....  | 50  |
| 3.5 REFERÊNCIAS.....  | 50  |
| CAPÍTULO 4- CONSIDERAÇÕES FINAIS .....  | 57  |

## EFEITO DOS NÍVEIS DE CÉLULAS SOMÁTICAS NO LEITE SOBRE O RENDIMENTO E A QUALIDADE DO QUEIJO MUSSARELA

Karyne Oliveira Coelho

Orientador: prof. Dr. Albenones José de Mesquita

### RESUMO

A mastite sub-clínica é uma reação inflamatória da glândula mamária que cursa com o aumento da contagem de células somáticas (CCS) no leite. Leite com alta CCS apresenta alterações na composição que influenciam a qualidade dos produtos lácteos. A realização do presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do nível de células somáticas (CCS) no leite sobre o rendimento e as características microbiológicas e físico-químicas do queijo mussarela. Foram selecionadas vacas com contagem de células somáticas (CCS)  $\leq 200$  mil células/mL; CCS  $> 200$  a  $\leq 400$  mil células/mL; CCS  $> 400$  mil células/mL a  $\leq 750$  mil células/mL e CCS  $> 750$  mil células/mL e que não receberam tratamento com antimicrobianos nos dias que antecederam a obtenção do leite utilizado no processamento do queijo mussarela, na Planta de Laticínios do Centro de Treinamento da Agência Rural. Foram avaliadas as composições dos leites, soros e queijos. Os queijos foram avaliados após 1, 15 e 30 dias de armazenamento a 7°C, por meio das análises de pH, acidez, umidade, proteína total e solúvel, gordura, extrato seco total, desengordurado, contagem de bactérias ácido lácticas, de coliformes totais, fecais e de microrganismos psicrótrópicos. O experimento completo foi repetido quatro vezes e o delineamento experimental foi em blocos aleatórios. Os resultados foram inicialmente avaliados para a normalidade dos resíduos, por meio do teste de tukey, e a homogeneidade das variâncias pelo teste F, adotando-se,  $\alpha=0,05$ . O leite com elevada CCS apresentou concentração menor de proteína e maior de nitrogênio não protéico. Observou-se perda de proteína e gordura para o soro. O queijo elaborado a partir do leite com alta CCS,  $> 750$  mil céls./mL, apresentou menor teor de proteína, maior umidade e menor rendimento industrial. Observou-se menor crescimento das bactérias ácido lácticas durante o período de armazenamento para o queijo produzido com CCS superior a 750 mil céls./mL. Em relação a proteólise foi constatada o aumento do índice de extensão e

profundidade nos queijos mussarela elaborados com leite contendo níveis de CCS superiores a 400 mil céls./mL. Considerando os quatro tratamentos avaliados, pode-se afirmar que para obter queijos mussarela com qualidade satisfatória é necessário a utilização de um leite com CCS inferior a 400 mil céls./mL

**Palavras-chave:** mastite bovina, qualidade do leite, proteólise do queijo

## EFFECT OF SOMATIC CELL COUNT ON QUALITY IN MOZZARELLA CHEESE

Author: Karyne Oliveira Coelho

Adviser: PhD. Albenones José de mesquita

### SUMMARY

The subclinical mastitis is a mammary gland inflammatory reaction that is characterized by increased levels of somatic cells in the milk. The milk with higher somatic cell counting (SCC) shows alteration in the composition that alters the quality of the milk products. This study aimed to evaluate the effects of the SCC in the milk products in relation to the microbiologic and the physical-chemistry features of the mozzarella cheese. It was chosen cattle with SCC  $\leq 200.000$  cells/mL; SCC  $>200$  a  $\leq 400.000$  cells/mL; SCC  $>400.000$  cells/mL to  $\leq 750.000$  cells/mL and SCC  $>750.000$  cells/mL. The animals did not receive antimicrobial treatment before and on the day of the milk collection. The mozzarella cheese preparation were realized at Planta de Laticínios do Centro de Treinamento da Agência Rural. It was analyzed the milk sub products compositions. The cheese were evaluated after 1, 15 and 30 days of maturation or storage at 7°C for the pH, acidity, humidity, total and soluble protein, fat, total dry extract, defatted, milk acid bacteria count, total and fecal coliforms and psicotrofos microorganism. The experiment was repeated four times in order to demonstrate reproducibility. The results were homogenous for the residues (turkey test) and the variances were compared using a F test, adopting  $\alpha=0,05$ . The milk with high SCC showed low concentration of protein and the higher nitrogen levels. There was loosing of protein and fat to serum. The cheese elaborated from milk with higher SCC ( $>750.000$ cells/mL) showed lower protein level, more humidity and less industrial income and presented lower growth of lactic acid bacteria during the maturation time. Mozzarella cheese prepared with milk containing SCC around 400.000 cells/mL presented increased proteolysis. The results showed here demonstrated that in order to get a good quality mozzarella cheese is necessary the utilization of the milk with somatic cell counts bellow 400.000 cells /mL.

**Key-words:** mastitis, quality milk, proteolysis

## **CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS**

O leite é um dos alimentos de maior importância para o homem, principalmente, devido a sua condição de mamífero, e por representar a única esperança de vida do recém-nascido. Isto se deve a sua composição nutricional, rico em proteínas, lipídeos, vitaminas e micro-minerais, classifica-se entre os alimentos essenciais e mais frágeis da nossa alimentação, ou seja, os principais consumidores são representados por crianças, mulheres e idosos (DÜRR, 2004).

Além das características intrínsecas do produto, o leite tem desempenhado uma papel importantíssimo no sistema agro-industrial do país. A atividade é praticada em todo o território nacional em mais de um milhão de propriedades rurais e, somente no setor primário, gera três milhões de empregos o que agrega mais de seis bilhões ao valor da produção agropecuária nacional (VILELA et al., 2002). No cenário mundial o país ocupa o 6º lugar no ranking com uma produção média de 26 bilhões de litros ao ano (IBGE, 2007).

Apesar dos benefícios sociais e econômicos, ressalta-se que o leite é considerado um alimento altamente perecível, tendo suas características físicas, químicas e microbiológicas facilmente alteradas pela ação de microrganismos, pela sanidade e nutrição dos rebanhos e a manipulação a que é submetido nas fases de obtenção, armazenamento e transporte (SANTOS & FONSECA, 2007). Portanto, torna-se necessário a adoção de práticas de produção, armazenamento, transporte e processamento adequadas, para que se possa usufruir dos seus benefícios, nutricionais e os relacionados a bem estar, pois o leite e os derivados são tidos como alimentos que auxiliam na prevenção de doenças, como a osteoporose, a obesidade e a arteriosclerose.

Visando a consolidação da cadeia produtiva, pesquisadores, indústria e o governo se uniram e criaram o Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite-PNMQL. Dentre as mudanças implementadas ressalta-se à publicação da Portaria nº 56 de 7 de dezembro de 1999, substituída pela Instrução Normativa (IN) 51, assinada pelo então ministro da Agricultura Pecuária e Abastecimento

(MAPA), Prati de Moraes. A Normativa estabelece novos padrões para a produção do leite cru, incluindo pela primeira vez a contagem de células somáticas (CCS) e a contagem bacteriana total (CBT) como parâmetros para se avaliar a qualidade do leite produzido no Brasil (BRASIL, 2002).

A IN 51 entrou em vigor em julho de 2005 nos Estados do Sul, Sudeste e Centro-Oeste e em julho de 2007 nas regiões Norte e Nordeste. Para a CCS, nas regiões Sul, Sudeste e Centro-oeste, em leite cru refrigerado, a referida normativa prevê 1.000.000 céls./mL, estando previsto também uma redução gradativa para 750.000 céls./mL em 2008; padrão utilizado nos Estados Unidos. A partir de julho de 2011, prevê a diminuição para 400.000 céls./mL; padrão utilizado na União Européia (BRASIL, 2002).

As células somáticas são células de defesa, principalmente, leucócitos que migram do sangue para o interior da glândula mamária, com o objetivo de combater os agentes estranhos. Contudo, uma pequena parte é composta por células epiteliais, provenientes do processo natural de descamação do tecido secretor (MACHADO et al., 2000; BUENO et al., 2005). Conseqüentemente, a CCS do leite de uma vaca indica, de maneira quantitativa, o grau de infecção da glândula mamária, enquanto que a CCS do leite do tanque o grau de infecção média de mastite do rebanho (MACHADO et al., 2000).

Além do aumento da CCS, o processo patológico da mastite cursa com alterações na composição do leite, as quais interferem negativamente sobre a manufatura e a qualidade dos queijos. Os principais problemas relacionam-se à composição físico-química da secreção láctea (BUENO et al., 2005), incluindo a diminuição da caseína como porcentagem da proteína total (AUDISTIS & HUBBLE, 1998), aumento dos ácidos graxos livres de cadeia curta (RANDOLPH & ERWIN, 1975), alterações na concentração de minerais (SANTOS & FONSECA, 2007) e aumento da atividade proteolítica (URECH et al., 1999) e lipolítica (SANTOS et al., 2003a e 2003b) do leite cru e pasteurizado.

AUDISTIS & HUBBLE (1998) relataram que o efeito da mastite sobre a concentração total da proteína do leite é variável. Porém, os autores destacaram que ocorre redução das frações sintetizadas na glândula mamária,  $\beta$ -caseína,  $\alpha$ -lactoalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina e aumento da albumina sérica e das imunoglobulinas. Em relação à gordura do leite BUENO et al. (2005) ressaltaram que, o percentual do componente reduz como resultado da infecção do úbere, no entanto, quando a produção de leite é reduzida em maior proporção que a síntese, o teor de gordura aumenta, proporcionalmente. ASBY et al. (1977) analisando a contagem de células somáticas e a composição do leite de 445 rebanhos, por um período de dois anos, encontraram que apenas 4% da variação de gordura ocorrida naquele período foi devido às variações na contagem de células somáticas. BUENO et al. (2005) não encontraram correlação entre o aumento da CCS e o percentual de gordura em amostras de leite procedentes de rebanhos leiteiros do Estado de Goiás.

Quanto a proteólise do leite, em primeiro momento ocorre as expensas dos microrganismos psicotróficos, pois, estes produzem proteases termoestáveis responsáveis por significativos prejuízos a cadeia láctea (SANTOS & FONSECA, 2007). A atividade proteolítica também pode ser procedente de enzimas originárias das células somáticas (URECH et al., 1999; SANTOS et al., 2003b). No leite normal a principal enzima responsável pela atividade proteolítica é a plasmina encontrada, juntamente, com o seu precursor inativo o plasminogênio. Observa-se em leite oriundo de quartos mamários com mastite subclínica, que a produção de plasmina e plasminogênio aumentam 20% e 30%, respectivamente, sendo que a ação dos ativadores de plasminogênio é superior ao do leite normal. Essas modificações enzimáticas determinam uma maior atividade proteolítica nos leite e em seus derivados (URECH et al., 1999; ALBENZIO et al., 2004).

A atividade lipolítica do leite é causada principalmente pela ação das lipases lipoprotéica do leite (LLP), assim como de outras enzimas lipolíticas, tais como: as lipases de células somáticas, dos microrganismos e de outras esterases. Ainda que a concentração de LLP no leite seja suficiente para causar altos níveis

de lipólise, os triglicerídios do leite são protegidos da ação enzimática devido à presença de uma membrana de constituição fosfolipídica que reveste os glóbulos de gordura do leite (SAEMAN et al., 1988). No entanto, durante a resposta imune na glândula mamária em caso de mastite, observa-se danos na membrana de gordura em decorrência da fagocitose leucocitária sobre os glóbulos da molécula, levando a exposição do conteúdo dos triglicerídios e a conseqüente degradação pela LLP (AZZARA & DIMICK, 1985).

Paralelo às alterações no teor de gordura e na atividade lipolítica do leite, RANDOLPH & ERWIN (1975) relataram também alteração no perfil do componente lipídico do leite, resultante da diminuição na concentração de ácidos graxos de cadeia longa e aumento de ácidos graxos livres de cadeia curta. Os autores ressaltaram que tais mudanças na constituição da gordura do leite alteram sua qualidade, sendo que os ácidos graxos livres e de baixo peso molecular, principalmente, o butírico, o caprílico e o caprótico, podem conferir ao leite e seus derivados um sabor desagradável.

A infecção da glândula mamária resulta numa menor síntese da lactose devido à redução do fluxo sanguíneo e conseqüente diminuição do seu precursor, a glicose, proveniente do sangue (MACHADO et al., 2000), da utilização da lactose pelos patógenos intramamários (AULDIST et al., 1995) e pela perda de lactose da glândula para a corrente sangüínea, devido ao aumento da permeabilidade da membrana vascular, que separa o leite do sangue, levando à excreção da mesma pela urina (SHUSTER et al., 1991).

Considerando o exposto, observa-se que diversas alterações são possíveis de ocorrer na composição do leite, e que o comportamento dos sólidos totais poderá variar para cima ou para baixo. PHILPOT & NICKERSON (1991) descreveram que os percentuais de sólidos totais diminuem entre 3 a 12% com o aumento da CCS, resultados similares aos encontrados por MACHADO et al. (2000) e BUENO et al. (2005).

As alterações na composição do leite devido aumento da CCS também interferem na manufatura dos queijos em função do aumento do tempo de coagulação (SRINIVASAN & LUCEY, 2002) e da diminuição da firmeza do coágulo (COONEY et al., 2000), da perda de componentes sólidos do leite para o soro (MAZAL et al., 2007) do aumento da umidade (COONEY et al., 2000), da diminuição no rendimento (KLEI et al., 1998), do decréscimo da firmeza do produto final (COONEY et al., 2000; ALBENZIO et al., 2004), além de alterações relacionadas às características sensorias (ALBENZIO et al., 2004), fatores estes, potencialmente capazes de inviabilizar a produção e a comercialização do queijos (AUDIST & HUBLLE, 1998; LE ROUX, et al., 2003; MAZAL et al., 2007).

Diante do exposto, torna-se imperativo a elaboração de estudos que estabeleçam o efeito do nível CCS no leite sobre o processamento do leite e de seus derivados, uma vez que, as ações do programa de melhoria de qualidade do leite devem ser respaldadas por resultados seguros que dêem sustentação às políticas públicas dos órgãos oficiais de fiscalização e regulamentação.

## REFERÊNCIAS

1. ALBENZIO, M.; CAROPRESE, A.; SANTILLO, M.; MARINO, L.; TAIBI, R.; SEVI, A. Effects of Somatic Cell Count and Stage of Lactation on the Plasmina Activity and Cheese-Making Properties of Ewe Milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.87, p.533-542, 2004.
2. ASBY, C.B.; GARD, R.P.; WATKINS, J.H. The relationship between herd bulk milk composition and cell count in commercial dairy herds. **Journal of Dairy Research**, London, v.44, n.3, p.585-587, 1977.
3. AUDISTIST, M.J.; COATS, S.T.; ROGERS, G.L; MCDOWELL, G.H. Changes in the composition of milk from normal and mastic dairy cows during the lactation cycle. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Collingwood, v.35, p.427–436, 1995.

4. AUDISTIST, M.J.; HUBLLE, I.B. Effects of mastitis on raw milk and dairy products. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.65, n.53, p.22-32, 1998.
5. AZZARA, C.D.; DIMICK, P.S. Lipolytic enzymes activity of macrophages in bovine mammary gland secretions. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.68. p.1804-1812, 1985.
6. BRASIL. Instrução Normativa Número 51 de 18 de setembro de 2002. Dispõe sobre regulamentos técnicos aplicados ao leite cru e pasteurizado. **Diário Oficial da União**, Brasília, Seção 1, n.83, p.13-22, 20 set. 2002.
7. BUENO, V.F.F; MESQUITA, A.J.; NICOLAU, E.S.; OLIVEIRA, A.N.; OLIVEIRA, J.P.; NEVES, R. BALDUÍNO S; MANSUR, J.R.G.; THOMAZ, L.W. Contagem celular somática: relação com a composição centesimal e estação do ano no Estado de Goiás. **Ciência Rural**, Santa Maria/RS, v.35, n.4, p.848-854, 2005.
8. COONEY, S.; TIERNAN, D.; JOYCE, P.; KELLY, A.L. Effect of somatic cell count and polymorphonuclear leucocyte content of milk on composition and proteolysis during ripening of Swiss-type-cheese. **Journal of Dairy Research**, London, v. 67, n. 2, p. 301-307, 2000.
9. DÜRR, J.W.; CARVALHO, M.P.; SANTOS, M.V. **O compromisso com qualidade do leite no Brasil**. Passo Fundo: EdiUPF, 2004. p.38-55.
10. IBGE/DPE/COAGRO. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. disponível: [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br), acesso em 01/08/2007.
11. KLEI, L.; YUN, J.; SAPRU, A.; LYNCH, J.; BARBANO, D.; SEARS, P.; GALTON, D. Effects of milk somatic cell count on Cottage cheese yield and quality. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 5, p. 1205-1213, 1998.

12. LE ROUX, Y.; LAURENT, F.; MOUSSAOUI, F. Polymorphonuclear proteolytic activity and milk composition change. **Veterinary Research**, Les Ulis Cedex, v.34, n.5, p.629-645, 2003.
13. MACHADO, P.F.; PEREIRA, A.R.; SARRÍES, G.A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 29, n. 6, p.1883-1886, 2000.
14. MAZAL, G.; VIANNA, P.C.B.; SANTOS, M.V.; GIGANTE, M.L. Effect of Somatic Cell Count on Prato Cheese Composition, **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.90, p.630-636, 2007.
15. PHILPOT, W.N.; NICKERSON, S.C. **Mastitis: Counter Attack**. A strategy to combat mastitis. Illinois: Babson Brothers Co., 1991. 150p.
16. RANDOLPH, H.E.; ERWIN, R.E. Influence of Mastitis on Properties of Milk XI. Fat Globule Membrane, **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.58, p.9-12, 1975.
17. SAEMAN, A.I.; VERDI, R.J.; GALTON, D.M.; BARBANO, D.M. Effect of mastitis on proteolytic activity in bovine milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 71, n. 2, p. 505-512, 1988.
18. SANTOS, M.V.; CAPLANZ. M.Y.; BARBANO, D.M. Effect of Somatic Cell Count on Proteolysis and Lipolysis in Pasteurized Fluid Milk During Shelf-Life Storage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.90, n.8, p.2491-2503, 2003a.
19. SANTOS, M.V.; CAPLANZ. M.Y.; BARBANO, D.M. Sensory Threshold of Off-Flavors Caused by Proteolysis and Lipolysis in Milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.86, p. 1601-1607, 2003b.

20. SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. **Estratégias para o controle da mastite e melhoria da qualidade do leite**. 1ª edição, Editora Manole: Barueri, SP. 2007, 314p.
21. SHUSTER, D.E.; HARMON, R.J.; JACKSON, J.A.; HEMKEN, R.W. Suppression of milk production during endotoxin-induced mastitis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.74, n.11, p.3763-3774, 1991.
22. SRINIVASAN, M.; LUCEY, J.A. Effects of added plasmin on the formation and rheological properties of rennet-induced skim milk gels. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.85, n.5, p.1070-1078, 2002.
23. URECH, E.; PUHAN, Z.; SCHÄLLIBAUM, M. Changes in milk protein fraction as affected by subclinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82, n. 11, p. 2402-2411, 1999.
24. VILELA, D.; LEITE, J.L.B.; RESENDE, J. C. Políticas para o leite no Brasil: passado presente e futuro. In: SANTOS, G.T.; JOBIM, C.C.; DAMASCENO, J. C. SULLEITE-Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil, 2002, Maringá. **Anais...** Maringá: UEM/CCA/DZO-NUPEL, 2002.

## **CAPÍTULO 2 – EFEITO DOS NÍVEIS DE CÉLULAS SOMÁTICAS SOBRE O RENDIMENTO E A COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO QUEIJO MUSSARELA**

### **RESUMO**

A mussarela é o queijo de maior produção nacional e consumo. Vários fatores podem interferir em sua qualidade, entre eles, o aumento da contagem de células somáticas no leite (CCS). O presente estudo foi proposto com objetivo de avaliar o efeito do nível de células somáticas no leite sobre o rendimento e a composição do queijo mussarela. Foram selecionadas vacas com contagem de células somáticas  $\leq 200$  mil células/mL; CCS  $>200$  a  $\leq 400$  mil células/mL; CCS  $>400$  mil células/mL a  $\leq 750$  mil células/mL e CCS  $>750$  mil células/mL e que não receberam tratamento com antimicrobianos nos dias que antecederam a obtenção do leite utilizado no processamento do queijos mussarela, na Planta de Laticínios do Centro de Treinamento da Agência Rural. Avaliaram-se as composições dos leites, soros e queijos. Os queijos foram avaliados após 1, 15 e 30 dias de maturação, por meio das análises de pH, acidez, umidade, proteína, gordura, extrato seco total e desengordurado. O experimento completo foi repetido quatro vezes e o delineamento experimental em blocos aleatórios. Os resultados foram inicialmente avaliados para a normalidade dos resíduos, por meio do teste de tukey, e a homogeneidade das variâncias pelo teste F, adotando-se,  $\alpha=0,05$ . O leite com alta CCS  $> 750$  mil céls./mL apresentou menor teor de proteína e maior de nitrogênio não protéico e gordura. Os queijos elaborados a partir do leite com alta CCS,  $>750$  mil céls./mL, apresentaram menor teor de proteína, maior umidade e menor rendimento industrial. Portanto, observa-se que a elevação da CCS do leite cursa com alterações na qualidade do queijo mussarela, o que reflete em sua composição nutricional e até microbiológica, pois ocorre um incremento na atividade de água, fator intrínseco indispensável para o crescimento microbiano.

**Palavras-chave:** qualidade do leite, mastite sub-clínica, composição do queijo

## 2.1 INTRODUÇÃO

A contagem de células somáticas CCS do leite constitui um parâmetro mundialmente utilizado para se avaliar a sanidade da glândula mamária e a qualidade do leite cru (O'BRIEN et al., 2001). Para toda cadeia láctea possui alta relevância, estando relacionada à ocorrência de mastite sub-clínica e sinalizando perdas significativas na produção e na qualidade do leite e de seus derivados (SANTOS & FONSECA, 2007).

O aumento na CCS têm sido associado a alterações nas características físico-químicas do leite (MACHADO et al, 2000a e 2000b). Nesse caso, observa-se diminuição da concentração de caseína, gordura, cálcio, fósforo e lactose (MACHADO et al., 2000b), aumento dos ácidos graxos livres de cadeia curta (RANDOLPH & ERWIN, 1975) e incremento na atividade proteolítica e lipolítica do leite mastístico (LE ROUX et al., 2003; SANTOS et al., 2003a; MAZZAL, et al., 2007).

KELLY & MCSWEENEY (2002) estudaram o efeito da mastite sobre as características de produção de queijo cheddar, e relataram que o aumento da lactoferrina, lactoperoxidase e plasmina, enzimas antimicrobianas, pode inibir a multiplicação dos microrganismos utilizados na cultura láctea. Os autores observaram ainda, por meio de microscopia confocal, que a matriz protéica do gel formado é extremamente frágil, o que possibilita a perda de caseína, gordura e sólidos totais para o soro, reduzindo assim a firmeza da coalhada.

Diversos pesquisadores têm relatado que as modificações no leite devido à ocorrência de mastite podem determinar o menor rendimento de fabricação e defeitos de textura, itens potencialmente capazes de inviabilizar a produção e a comercialização do produto (POLITIS & NGKWAI-HANG, 1988; COONEY et al., 2000; SRINIVASAN & LUCEY, 2002; MAZAL et al., 2007), pois no processamento do derivado ocorre aumento do tempo de coagulação, diminuição da firmeza do coágulo e perda de componentes sólidos do leite para o soro (AUDIST & HUBLLE, 1998; COONEY et al., 2000; SRINIVASAN & LUCEY, 2002; MAZAL et al., 2007).

POLITIS & NGKWAI-HANG (1988) observaram que um aumento de CCS de 100 mil céls./mL para 900 mil céls./mL foi associado a um decréscimo de 11% no rendimento do queijo cheddar. KLEI et al. (1998) pesquisaram o efeito da CCS sobre o rendimento do queijo cottage e observaram uma redução de 4,34% naqueles produzido com CCS superior a 800 mil céls./mL. Por sua vez, MATIOLI, et al. (2000) empregando amostras de leite com nível de CCS <200 mil céls./mL, 200 a 600 mil céls./mL ou  $\geq 600$  mil céls./mL para a fabricação de minas frescal, encontraram um decréscimo de 9,8% nas produções de queijo cujo leite apresentava CCS  $\geq 600$  mil céls./mL.

O presente estudo foi proposto com objetivo de avaliar o efeito dos níveis de células somáticas no leite sobre o rendimento e a composição físico-química do queijo mussarela.

## **2.2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.2.1 Obtenção do leite**

O leite utilizado no presente experimento foi obtido na unidade de produção do Departamento de Produção Animal da Escola Veterinária da Universidade Federal de Goiás (DPA/EV/UFG). O plantel era constituído de 45 vacas em lactação com produção média de 640L/dia.

Foram selecionadas 30 vacas que se encontravam em estágio de lactação superior a 10 dias e que não tinham recebido tratamento com antimicrobianos, nos dias anteriores que antecederam a coleta do leite utilizado. Para a seleção dos animais, procedeu-se na ordenha da manhã a colheita das amostras de leite de cada vaca em lactação, após homogeneização do leite por no mínimo 10 segundos no balão medidor. Em seguida fez-se a colheita de 40mL de leite em frascos contendo uma pastilha conservante Bronopol<sup>®</sup> (D & F Control Systems, Dublin, USA). Procedeu-se a homogeneização visando a dissolução da pastilha e

o acondicionamento em condições de refrigeração a fim de transportar para o Laboratório de Qualidade do Leite (LQL) da EV/UFG para a realização da contagem de células somáticas (CCS) e determinação da composição do leite.

Em função dos resultados apresentados para a CCS, do volume de leite produzido e dos teores de proteína total e gordura, as vacas foram distribuídas em grupos visando a obtenção de leite com baixa CCS ( $\leq 200$  mil céls./mL), com nível médio ( $> 200$  a  $\leq 400$  mil céls./mL), intermediário ( $> 400$  mil céls./mL a  $\leq 750$  mil céls./mL) e alto ( $> 750$  mil céls./mL).

O leite necessário à realização do experimento, foi obtido por ordenha individual dos animais, utilizou-se um total de 30 vacas, três dias após as análises laboratoriais, sendo que cada grupo foi ordenhado separadamente. O leite de cada grupo de vacas foi colhido, na ordenha da manhã, em galões de polipropileno higienizados, com capacidade para 50 litros, os quais foram acondicionados em câmara fria a 5°C até o momento de sua utilização.

## 2.2.2 Fabricação dos queijos mussarela

O conteúdo total do leite dos galões foi vertido em tanque de fabricação e submetido à pasteurização lenta a 65°C por 30 minutos. Após este procedimento, foi vertido em tanque de coagulação onde se realizou o acerto da temperatura para 35°C. A seguir fez-se a adição da cultura láctica mesofílica “composta de múltiplas cepas de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*” (1mL/10L) e do Cloreto de cálcio 50% (40mL/100L). Esperou-se 30 minutos, e adicionou-se o coalho, conforme recomendações do fabricante (25mL/100L). Após 40 minutos, fez-se o teste para avaliar o ponto da massa, realizando um corte na superfície da coalhada para verificar se a mesma apresentava-se seca e macia. Em seguida, fez-se o corte da massa em cubos de cerca de 1cm de aresta deixando-a em repouso por cinco minutos. Iniciou-se uma agitação lenta e contínua, primeira mexedura, utilizando liras manuais, por cerca

de 20 minutos. Logo após sob aquecimento a 44°C fez-se a 2ª mexedura. Após essa etapa a massa foi deixada em repouso, procedendo-se a dessora e o corte em blocos menores. Transcorrido o tempo mínimo de espera de fermentação da massa, ou seja, 12h, procedeu-se o teste para averiguar o ponto de filagem, utilizando uma porção da massa a qual foi colocada em água a temperatura 75°-80°C. Quando esticava sem arrebentar, procedia-se a filagem, realizada da seguinte forma: a massa foi cortada em tiras de cerca de 7cm de espessura, e filada em água a 80°C, obedecendo uma relação água de filagem:massa de 3:1. Em seguida foi moldada, enformada em formas plásticas retangulares de 0,5kg e imersas em água a 10°C por 4h. Seguiu-se a salga em salmoura, contendo 20% de sal, a 10-12°C por um período de 6h. A secagem da superfície foi realizada em câmara-fria a 10-12°C com umidade relativa do ar de aproximadamente 70% durante 12h, seguindo-se a embalagem em plástico termo recolhível e estocagem em câmara fria a 4-7°C por 30 dias.

### **2.2.3 Procedimentos de amostragem e análises realizadas**

Foram colhidas assepticamente amostras de leite cru dos galões, destinados à realização das análises microbiológicas por meio da contagem bacteriana total (CBT) e físico-químicas por meio da realização da CCS, gordura, proteína, lactose, sólidos totais, pH, acidez e crioscopia (BRASIL, 2003a e b).

Após pasteurização do leite, foram colhidas amostras para avaliar o perfil enzimático por meio da pesquisa das enzimas fosfatase alcalina e peroxidase (BRASIL, 2003b). Além disto, foram colhidas amostras do soro para análise do percentual de caseína, gordura e sólidos totais (BRASIL, 2003b; SILVA,1995).

Realizou-se também a amostragem do produto final por meio da colheita de três amostras por lote, 24 horas após a fabricação, e nos dias 15º e 30º de armazenamento/maturação. Foram realizadas as seguintes análises: determina-

ção da acidez, pH, proteína, gordura, umidade, extrato seco total e desengordurado (AOAC, 1995, BRASIL, 2003b).

#### **2.2.4 Procedimentos analíticos**

Todas as análises foram realizadas em triplicata, conforme procedimento descrito.

**Acidez titulável do leite e queijo:** A acidez foi determinada por meio da titulação das amostras com solução de hidróxido de sódio (NaOH) N/9 (solução Dornic), tendo como indicador solução alcoólica de fenolftaleína a 1,0%. Os resultados foram expressos em graus Dornic (°D) (BRASIL, 2003b).

**Caseína do soro:** O método utilizado para análise de caseína nas amostras de soro foi o formol, modificado por SILVA (1995).

**Contagem bacteriana total do leite:** para realização da (CBT) as amostras foram colhidas em frascos esterilizados com capacidade de 40mL, contendo o conservante bacteriostático Azidiol, e enviadas ao laboratório sob condições de refrigeração. A CBT foi realizada em equipamento Bactoscan FC<sup>®</sup> (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark), cujo princípio analítico baseia-se na citometria de fluxo.

**Contagens de células somáticas do leite:** utilizou-se o equipamento Fossomatic 500 Basic<sup>®</sup> (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark) cujo princípio analítico baseia-se na citometria de fluxo.

**Composição do leite:** os teores de gordura, proteína, lactose e sólidos totais foram determinados utilizando o equipamento Milkoscan 4000<sup>®</sup> (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark), cujo princípio analítico baseia-se na absorção diferencial de ondas infravermelhas pelos componentes do leite.

**Crioscopia do leite:** realizada empregando-se o crioscópio eletrônico ITR modelo MK 540, sendo o resultado expresso em graus Horvet ( $^{\circ}\text{H}$ ) (BRASIL, 2003b).

**Densidade do leite a 15°C:** determinado em acordo com a metodologia prevista em BRASIL (2003b).

**Extrato seco total (EST) do queijo:** determinado em acordo com a AOAC, metodologia 925.23 sendo a umidade calculada pela equação:  $U(\%) = 100\% - \text{EST}(\%)$ .

**Fosfatase alcalina do leite pasteurizado:** pesquisada empregando-se a metodologia descrita em BRASIL (2003b).

**Gordura do queijo:** utilizou-se o método modificado do ácido butirométrico Van-Gulik, descrito por BRASIL, (2003b), sendo o teor de gordura no extrato seco (G.E.S.) calculado segundo a equação:  $GES = \frac{(10 \times \% G)}{\% EST}$ .

**Nitrogênio Total (NT) do queijo:** empregou-se o método de Kjeldahl, conforme AOAC 991.20, sendo a proteína total calculada por meio da multiplicação da porcentagem de NT por 6,38.

**Peroxidase do leite pasteurizado:** utilizou-se a metodologia descrita em BRASIL (2003b)

**pH do leite e queijo:** determinado utilizando-se um potenciômetro HANNA, modelo HI 8314, provido de eletrodo de inserção previamente calibrado.

**Uréia:** determinada utilizando-se o equipamento Chemspeck 150<sup>®</sup> da Bentley Instruments, por meio de um método enzimático e espectrofotométrico (BENTLEY, 2000). Essa análise foi realizada na Clínica do Leite, ESALQ/USP.

### 2.2.5 Rendimento dos queijos

O rendimento de cada queijo foi calculado de duas maneiras:

a) o volume em litros de leite necessário para a elaboração de um quilo de queijo (L/kg). Neste caso, dividiu-se o volume de leite utilizado pela soma da massa dos queijos obtidos; b) a massa em gramas de sólidos totais de queijo por litro de leite (g ST/L). FURTADO (1973); FURTADO (2005) e SABOYA et al. (1998). Para tanto empregou-se a equação:

$$R \text{ (g ST/L)} = \frac{P \times ST \times 1}{V}$$

Onde: R = rendimento;

P = quilos de queijos obtidos;

ST = percentagem de extrato seco dos queijos;

V = volume de leite utilizado.

### 2.2.6 Análise estatística

Foi utilizado o delineamento experimental em parcelas subdivididas, sendo que os níveis de células somáticas foram considerados como parcela principal, enquanto que o tempo de armazenamento e as respectivas interações como sub-parcela. O experimento foi repetido quatro vezes em intervalos de 70 dias.

Os resultados da composição físico-química, de rendimento e de recuperação de componentes do leite no soro e no queijo, dos quatro tratamentos, foram avaliados estatisticamente por meio da análise de variância. Os resultados foram inicialmente averiguados para a normalidade dos resíduos, por meio do teste de tukey, e a homogeneidade das variâncias pelo teste F, adotando-se,  $\alpha=0,05$ . Os resultados de CCS e CBT foram transformados em logaritmo natural, pois não possuem distribuição normal. Os cálculos foram realizados com o auxílio Software livre R, versão 2.4.1.

## 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das médias e do desvio padrão das análises de CBT, proteína, gordura, lactose, sólidos totais, acidez, pH, crioscopia e densidade do leite utilizado para produção dos queijos, em cada repetição, são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1- Indicadores da qualidade do leite associados a diferentes níveis células somáticas. Goiânia, GO, 2007

| Parâmetros avaliados           | Níveis de CCS              |                            |                            |                            |
|--------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                                | Nível 1                    | Nível 2                    | Nível 3                    | Nível 4                    |
| CCS <sup>1</sup> (log cél/mL)  | 4,94 ± 0,18                | 5,46 ± 0,10                | 5,74 ± 0,11                | 6,27 ± 0,12                |
| CBT <sup>2</sup> (log UFC/mL)  | 5,10 ± 0,41 <sup>a</sup>   | 4,93 ± 2,13 <sup>a</sup>   | 5,35 ± 0,44 <sup>a</sup>   | 5,19 ± 0,36 <sup>a</sup>   |
| Proteína (%)                   | 3,16 ± 0,03 <sup>a</sup>   | 3,38 ± 0,03 <sup>a</sup>   | 3,17 ± 0,06 <sup>a</sup>   | 2,42 ± 0,04 <sup>b</sup>   |
| Gordura (%)                    | 3,1 ± 0,20 <sup>a</sup>    | 3,14 ± 0,19 <sup>a</sup>   | 3,00 ± 0,11 <sup>a</sup>   | 3,51 ± 0,36 <sup>b</sup>   |
| Lactose (%)                    | 4,53 ± 0,09 <sup>a</sup>   | 4,43 ± 0,13 <sup>a</sup>   | 4,40 ± 0,08 <sup>a</sup>   | 4,36 ± 0,09 <sup>a</sup>   |
| Sólidos totais (%)             | 11,62 ± 0,37 <sup>a</sup>  | 12,42 ± 1,18 <sup>a</sup>  | 11,91 ± 0,54 <sup>a</sup>  | 11,78 ± 0,31 <sup>a</sup>  |
| Uréia (mg/dL)                  | 16,85 ± 1,13 <sup>a</sup>  | 16,72 ± 2,13 <sup>a</sup>  | 17,25 ± 2,03 <sup>a</sup>  | 24,85 ± 7,13 <sup>b</sup>  |
| Acidez (D°)                    | 18,42 ± 0,17 <sup>a</sup>  | 18,91 ± 0,43 <sup>a</sup>  | 18,39 ± 0,25 <sup>a</sup>  | 18,37 ± 4,56 <sup>a</sup>  |
| pH                             | 6,10 ± 0,43 <sup>a</sup>   | 6,18 ± 0,52 <sup>a</sup>   | 6,67 ± 0,12 <sup>a</sup>   | 6,74 ± 0,55 <sup>a</sup>   |
| Crioscopia (°H)                | 0,532 ± 0,002 <sup>a</sup> | 0,531 ± 0,002 <sup>a</sup> | 0,530 ± 0,002 <sup>a</sup> | 0,530 ± 0,002 <sup>a</sup> |
| Densidade (g/cm <sup>3</sup> ) | 1,029 ± 0,001 <sup>a</sup> | 1,029 ± 0,001 <sup>a</sup> | 1,030 ± 0,002 <sup>a</sup> | 1,030 ± 0,001 <sup>a</sup> |

Valores com mesma letra na linha não diferiram significativamente entre si ( $p \leq 0,05$ ); <sup>1</sup>CCS: Contagem de Células Somáticas; <sup>2</sup>CBT: Contagem bacteriana Total; Nível 1: Leite com CCS baixa ( $\leq 200.000$  cél/mL); Nível 2: Leite com CCS média ( $>200.000$  cél/mL  $\leq 400.000$  cél/mL); Nível 3: Leite com CCS intermediária ( $>400.000$  cél/mL  $\leq 750.000$  cél/mL); Nível 4: Leite com CCS alta ( $>750.000$  cél/mL)

Analisando os dados contidos na Tabela 1 observa-se que o nível de CCS não influenciou os teores de lactose, sólidos totais, bem como o pH, acidez, crioscopia e a densidade do leite ( $p > 0,05$ ). Não obstante, ocorreu diminuição dos teores de proteína e o aumento nos teores de gordura e uréia ( $p \leq 0,05$ ) para o leite com CCS superior a 750 mil céls./mL.

Em vacas com mastite observa-se uma lesão do epitélio glandular o que pode levar a uma diminuição dos componentes sintetizados no interior da glândula, especialmente, a caseína (PEREIRA et al., 1999), o que explica esta diminuição no percentual de proteína e gordura do leite com alta CCS. No entanto, quando a diminuição da produção ocorre de maneira mais acentuada que a síntese, o teor

de gordura sofre um aumento proporcional (MACHADO et al, 2000a), o que pode ter ocorrido no presente estudo.

Em relação a uréia, uma possível explicação para o resultado obtido (Tabela 1), seja o aumento da atividade proteolítica do leite, a qual pode levar a quebra das cadeias polipeptídicas das proteínas resultando na liberação de nitrogênio uréico, além, do aumento da permeabilidade vascular o que predispõe a passagem das moléculas de uréia do sangue para o leite (SANTOS & FONSECA, 2007). Também, pode-se considerar a nutrição, já que os animais recebiam dietas diferentes, no que concerne, as doses de concentrado.

Resultados de trabalhos realizados no Brasil enfocando a relação entre a quantidade de células somáticas e a concentração de proteína no leite são contraditórios. PEREIRA et al. (1999) observaram que o teor de proteína era maior em amostras de leite proveniente de tanques com CCS superior a 283 mil céls. mL, enquanto MACHADO et al. (2000a) observaram que a partir de 500 mil céls./mL ocorria redução do teor proteína, dados similares aos obtidos por BUENO et al. (2005). No que concerne a gordura também observa-se efeito variável. Assim, PEREIRA et al. (1999) descreveram que o teor de lipídeo aumenta em decorrência da mastite. Já BUENO et al. (2005) descreveram que não houve diferença significativa do percentual de gordura com o aumento da CCS, em amostras de leite de tanques em rebanhos do Estado de Goiás.

Em relação a lactose e aos sólidos totais BRITO & DIAS (1998) descreveram que a redução no teor de lactose pode variar entre 5% a 20%. Resultados superiores aos descritos por SILVA et al. (2000) observaram uma diminuição de 4,68% para 4,49% em amostras de leite de vacas com CCS de 283 mil céls./mL. Esses resultados são semelhantes aos observados por BUENO et al. (2005). MACHADO et al. (2000b) verificaram que em amostras de leite colhidas em tanques de expansão, com CCS inferior a 500 mil céls./mL, o teor médio de sólidos totais correspondia a 12,37%. Porém SILVA et al. (2000) não constataram diferença na concentração de sólidos totais devido ao aumento da CCS.

Relativamente à CBT, observa-se, na Tabela 1, que houve discreto aumento no leite com alta CCS, no entanto não foi significativo ( $p > 0,05$ ). SANTOS & FONSECA (2007) relataram que geralmente o aumento na CCS não tem relação direta com a CBT, excetuando nas infecções onde o agente etiológico da mastite seja o *Streptococcus agalactiae* ou o *S. dysgalactiae*. No entanto, RYSANEC et al. (2007) avaliando 298 rebanhos estabeleceram que valores superiores a 400 mil céls./mL correlacionam-se com a qualidade higiênico-sanitária, ou seja, com a CBT. Os autores encontraram uma correlação de 0,63 entre a CCS e a CBT.

Na Tabela 2 podem ser visualizados os resultados das médias e do desvio padrão dos parâmetros físico-químicos do soro oriundo da produção dos lotes de queijo mussarela elaborados com leite contendo diferentes níveis de CCS.

Tabela 2- Parâmetros físico-químicos do soro obtido na produção dos lotes de queijo mussarela associados com o leite contendo diferentes níveis de contagem de células somáticas. Goiânia, GO, 2007

| Parâmetros avaliados | Níveis de CCS            |                          |                          |                          |
|----------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                      | Nível 1                  | Nível 2                  | Nível 3                  | Nível 4                  |
| Caseína (%)          | 0,11 ± 0,07 <sup>a</sup> | 0,10 ± 0,06 <sup>a</sup> | 0,13 ± 0,12 <sup>a</sup> | 0,19 ± 0,15 <sup>b</sup> |
| Gordura (%)          | 0,42 ± 0,03 <sup>a</sup> | 0,46 ± 0,03 <sup>a</sup> | 0,41 ± 0,04 <sup>a</sup> | 0,98 ± 0,39 <sup>b</sup> |
| Sólidos totais (%)   | 6,2 ± 0,43 <sup>a</sup>  | 6,71 ± 0,73 <sup>a</sup> | 7,2 ± 0,40 <sup>a</sup>  | 7,1 ± 0,33 <sup>a</sup>  |

Valores com mesma letra na linha não diferiram significativamente entre si ( $p \leq 0,05$ ); Nível 1: Soro do Leite com CCS baixa ( $\leq 200.000$  cél/mL); Nível 2: Soro do Leite com CCS média ( $> 200.000$  cél/mL  $\leq 400.000$  cél/mL); Nível 3: Soro do Leite com CCS intermediária ( $> 400.000$  cél/mL  $\leq 750.000$  cél/mL); Nível 4: Soro do Leite com CCS alta ( $> 750.000$  cél/mL)

Considerando a análise dos resultados físico-químicos das amostras de soro, Tabela 2, nota-se que houve uma maior perda de caseína e gordura do leite para o soro nas amostras com CCS superior a 750 mil céls./mL. Resultados similares foram encontrados por GRANDISSON & FORD, (1986); BARBANO et al. (1991); KLEI et al. (1998); MATIOLI et al., (2000) e COONEY et al. (2000).

A perda de gordura do leite para o soro pode ocorrer por diversos fatores, ou seja, tempo e temperatura de pasteurização, teor de proteína, acidez, pH e temperatura do leite no momento de adição do coalho (SABOYA et al., 1998;

FURTADO, 2005). Considerando que neste estudo os fatores citados tiveram comportamento semelhante nos tratamentos avaliados, torna-se imperativo tecer algumas considerações sobre a apresentação destes resultados.

Nesse sentido, pode-se observar que o teor de gordura no leite com CCS superior a 750 mil céls./mL é superior ao dos outros tratamentos (Tabela 1) assim como o grau de proteólise e lipólise no leite com alta CCS, resultados semelhantes aos obtidos por COONEY et al. (2000); SANTOS et al. (2003a) e MAZAL et al. (2007).

No que se refere ao aumento da proteólise, vários autores apontam que o aumento da CCS relaciona-se a uma maior síntese de plasmina e do seu precursor inativo plasminogênio, enzima que hidrolisa a proteína do leite em pequenas moléculas de peptídeos e uréia. Soma-se a isto a capacidade de produção de substâncias ativadoras do plasminogênio pelos leucócitos, o que aumenta o grau proteolítico. Tais aspectos também são ressaltados por VERDI & BARBANO (1991); LE ROUX et al. (1995); O'BRIEN et al. (2001) e MAZAL et al. (2007). Além do aumento das enzimas proteolíticas no leite com alta CCS, COONEY et al. (2000) verificaram também a inibição da cultura "starter" devido a ação das enzimas originárias da CCS, ou seja, o processo de coagulação da caseína se torna irregular favorecendo a perda de finos protéicos para o soro (SRINIVASAN & LUCEY, 2002).

Na Tabela 3 estão distribuídos os resultados médios para pH, acidez, gordura livre, gordura na base seca, umidade e proteína apresentados pelos queijos elaborados com diferentes níveis de CCS, ao longo de 30 dias de armazenamento.

Tabela 3- Parâmetros físico-químicos dos queijos elaborados com leite contendo diferentes níveis de células somáticas, nos dias um, 15 e 30 de armazenamento a 7°C. Goiânia, GO, 2007

| Grupos                          | DIA 1        | DIA 15       | DIA 30       | CV%   | Regressão |
|---------------------------------|--------------|--------------|--------------|-------|-----------|
| <b>pH</b>                       |              |              |              |       |           |
| Nível 1 <sup>A</sup>            | 5,54 ± 0,10  | 5,52 ± 0,12  | 5,58 ± 0,10  | 6,53  | NS        |
| Nível 2 <sup>B</sup>            | 5,54 ± 0,08  | 5,56 ± 0,07  | 5,62 ± 0,12  |       |           |
| Nível 3 <sup>C</sup>            | 5,53 ± 0,06  | 5,58 ± 0,06  | 5,59 ± 0,16  |       |           |
| Nível 4 <sup>D</sup>            | 5,57 ± 0,11  | 5,61 ± 0,13  | 5,62 ± 0,10  |       |           |
| <b>Acidez</b>                   |              |              |              |       |           |
| Nível 1                         | 15,54 ± 2,10 | 14,84 ± 1,97 | 14,14 ± 2,18 | 12,37 | NS        |
| Nível 2                         | 15,32 ± 1,93 | 14,98 ± 2,10 | 14,74 ± 2,35 |       |           |
| Nível 3                         | 15,44 ± 2,27 | 14,38 ± 2,25 | 14,42 ± 2,67 |       |           |
| Nível 4                         | 15,99 ± 1,78 | 14,93 ± 2,65 | 14,79 ± 2,98 |       |           |
| <b>Gordura livre (%)</b>        |              |              |              |       |           |
| Nível 1                         | 2,94 ± 0,10  | 2,98 ± 0,13  | 3,10 ± 0,11  | 9,84  | NS        |
| Nível 2                         | 2,54 ± 0,08  | 2,77 ± 0,18  | 2,94 ± 0,08  |       |           |
| Nível 3                         | 2,89 ± 0,06  | 2,83 ± 0,06  | 2,99 ± 0,16  |       |           |
| Nível 4                         | 2,77 ± 0,11  | 2,97 ± 0,21  | 2,98 ± 0,37  |       |           |
| <b>Gordura na base seca (%)</b> |              |              |              |       |           |
| Nível 1                         | 51,54 ± 3,38 | 52,99 ± 2,98 | 52,91 ± 2,37 | 25,59 | NS        |
| Nível 2                         | 52,21 ± 5,08 | 51,14 ± 2,77 | 50,71 ± 3,82 |       |           |
| Nível 3                         | 52,13 ± 2,06 | 52,83 ± 2,86 | 51,03 ± 4,76 |       |           |
| Nível 4                         | 50,47 ± 3,91 | 49,53 ± 4,11 | 49,95 ± 2,41 |       |           |
| <b>Umidade (%)</b>              |              |              |              |       |           |
| Nível 1                         | 48,54 ± 3,18 | 49,99 ± 2,83 | 47,91 ± 2,37 | 39,98 | Linear*   |
| Nível 2                         | 49,13 ± 2,76 | 47,83 ± 2,36 | 49,03 ± 4,36 |       |           |
| Nível 3                         | 50,11 ± 5,48 | 48,14 ± 2,17 | 49,71 ± 3,12 |       |           |
| Nível 4                         | 55,47 ± 3,11 | 55,83 ± 4,83 | 57,95 ± 2,61 |       |           |
| <b>Proteína (%)</b>             |              |              |              |       |           |
| Nível 1                         | 22,33 ± 3,10 | 22,18 ± 3,85 | 22,85 ± 2,88 | 38,75 | Linear**  |
| Nível 2                         | 21,91 ± 2,78 | 21,98 ± 2,47 | 21,84 ± 1,12 |       |           |
| Nível 3                         | 20,96 ± 3,06 | 21,35 ± 3,26 | 20,85 ± 2,56 |       |           |
| Nível 4                         | 16,12 ± 1,11 | 15,72 ± 1,93 | 17,01 ± 2,87 |       |           |

Nível 1: leite com CCS baixa ( $\leq 200.000$  céls./mL); Nível 2: leite com CCS média ( $>200.000$  céls./mL  $\leq 400.000$  céls./mL); Nível 3: leite com CCS intermediária ( $>400.000$  céls./mL  $\leq 750.000$  céls./mL); Nível 4: leite com CCS alta ( $>750.000$  céls./mL); NS: não significativo para  $p \leq 0,05$ , teste de tukey 5%. \*Efeito linear para o tempo de armazenamento. \*\*Efeito linear para os níveis de CCS.

Considerando os limites estabelecidos para o queijo mussarela contido no regulamento técnico de identidade e qualidade do produto, os lotes de queijos do presente estudo apresentam-se em acordo com a legislação vigente, no que concerne ao teor de umidade que deve ser no máximo de 60% e gordura mínimo 35% (BRASIL, 1996).

Os percentuais de gordura, gordura na base seca (GBS), pH e a acidez não apresentaram diferença ( $p > 0,05$ ) para os tratamentos avaliados (Tabela 3), ou seja, os níveis de células somáticas, período de maturação e interações entre as variáveis. Não obstante, a CCS influenciou o teor de proteína e a umidade ( $p \leq 0,05$ ), sendo que no queijo com CCS superior a 750 mil cels./mL, houve um aumento da umidade e uma diminuição da proteína comparados aos demais tratamentos, como pode ser visto na Figura 1.

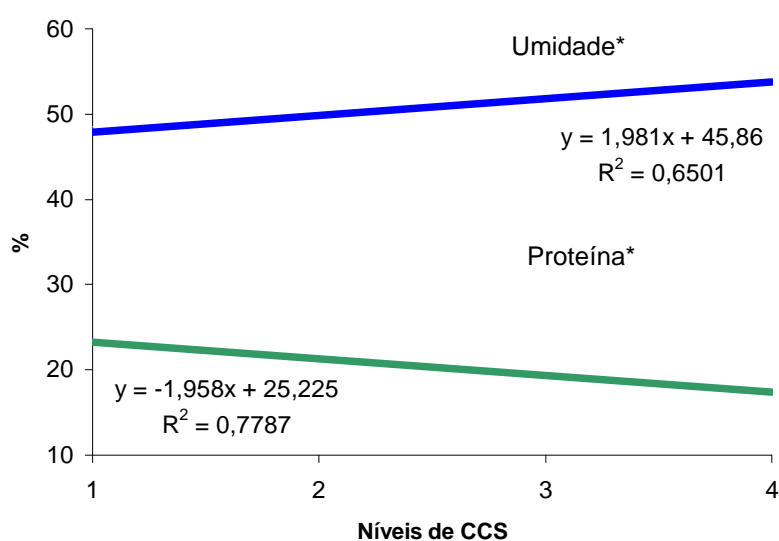


Figura 1\*- Efeito dos níveis de células somáticas Nível 1: leite com CCS baixa ( $\leq 200.000$  céls./mL); Nível 2: leite com CCS média ( $>200.000$  céls./mL  $\leq 400.000$  céls./mL); Nível 3: leite com CCS intermediária ( $>400.000$  céls./mL  $\leq 750.000$  céls./mL); Nível 4: leite com CCS alta ( $>750.000$  céls./mL); sobre a umidade e a proteína do queijo mussarela. Goiânia. GO, 2007. \*Gráfico elaborado com as médias dos níveis de CCS avaliados no experimento.

No que concerne ao teor de umidade, aproximadamente, 65% das alterações ocorridas devem-se ao aumento da CCS, como pode ser observado na Figura 1, onde o coeficiente de determinação foi de  $R^2 = 0,65$ . Em relação a proteí-

na a CCS teve efeito mais significativo, ou seja, 78% com  $R^2 = 0,78$ , tal fato ilustra a importância da qualidade da matéria prima sobre a manufatura da mussarela.

Essas alterações, provavelmente, devem-se à redução da síntese de proteína e à atividade proteolítica do leite (SANTOS et al., 2003b; MAZAL et al., 2007). No leite normal a principal enzima responsável pela atividade proteolítica é a plasmina encontrada juntamente com o seu precursor inativo o plasminogênio. No leite oriundo de quartos mamários com mastite subclínica, a produção de plasmina e plasminogênio aumentam predispondo à proteólise (URECH et al., 1999; ALBENZIO et al., 2004; LEITNER et al., 2005). O interessante é que a atividade proteolítica não sofre influência do processo de pasteurização, ou seja, mesmo após o tratamento térmico, observa-se a atividade da enzima (ALBENZIO et al., 2004). No leite mastístico as enzimas antimicrobianas, catepsina e plasmina, aumentam demasiadamente influenciando no processo de coagulação e, conseqüentemente, na perda de componentes para o soro, o que refletirá na composição do produto final, diminuindo o teor de proteína como observado no presente estudo.

Em 1988 POLITIS & NG-KWAI-HANG relataram que o queijo cheddar produzido com matéria prima contendo níveis de CCS >600 mil céls./mL, apresentou teores inferiores de gordura, proteína, sólidos totais e sólidos não gordurosos. Já COONEY et al. (2000) associam o aumento da CCS à diminuição dos sólidos totais e da proteína no queijo tipo suíço. BARBANO et al. (1991) além de destacarem a diminuição da gordura, indicam o aumento da umidade dos lotes de queijos cheddar produzidos com CCS superior a 100 mil céls./mL, contagem oito vezes menor que a observada no presente estudo. Por sua vez MAZAL et al. (2007) ao estudarem o efeito da CCS sobre a produção de queijo prato também observaram que os queijos elaborados com leite contendo CCS alta (>600 mil céls./mL) apresentam maior umidade e menor teor de proteína.

A qualidade do queijo produzido com leite de outras espécies, também apresenta alterações em decorrência do aumento da CCS. Assim sendo, JAEGGI

et al. (2003) verificaram diminuição no teor de gordura e o aumento no teor de água em queijos produzidos com leite de ovino contendo níveis de CCS superior a 1 milhão de céls./mL, resultados similares aos encontrados por REVILLA et al. (2007).

Na Tabela 4 pode-se observar a influência da CCS sobre o rendimento industrial e o rendimento corrigido dos queijos elaborados com leite contendo diferentes níveis de CCS.

Tabela 4- Rendimentos de queijos elaborados com leite contendo diferentes níveis contagem de células somáticas, Goiânia, GO, 2007

| Parâmetros avaliados             | Contagem de Células Somáticas |                         |                          |                          |
|----------------------------------|-------------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                                  | Nível 1                       | Nível 2                 | Nível 3                  | Nível 4                  |
| Rendimento <sup>1</sup>          | 9,6 ± 1,28 <sup>a</sup>       | 9,8 ± 1,52 <sup>a</sup> | 10,3 ± 1,87 <sup>a</sup> | 11,7 ± 1,16 <sup>b</sup> |
| Rendimento ajustado <sup>2</sup> | 8,9 ± 1,09 <sup>a</sup>       | 9,1 ± 1,17 <sup>a</sup> | 9,6 ± 1,52 <sup>a</sup>  | 13,8 ± 2,77 <sup>b</sup> |

<sup>1</sup>litros de leite/kg de queijo; <sup>2</sup>litros de leite/kg de extrato seco de queijo; valores com mesma letra na linha não diferiram significativamente entre si ( $p \leq 0,05$ ); Nível 1: leite com CCS baixa ( $\leq 200.000$  céls./mL); Nível 2: leite com CCS média ( $>200.000$  céls./mL  $\leq 400.000$  céls./mL); Nível 3: leite com CCS intermediária ( $>400.000$  céls./mL  $\leq 750.000$  céls./mL); Nível 4: leite com CCS alta ( $>750.000$  céls./mL).

Os valores de rendimento (litros de leite/kg de queijo) e rendimento ajustado (litros de leite/kg de extrato seco de queijo) para os diferentes tratamentos não diferiram estatisticamente entre si ( $p \leq 0,05$ ), a exceção do tratamento 4. Observa-se na Tabela 4 os queijos elaborados com leite contendo CCS inferior a 750 mil céls./mL apresentaram melhor rendimento industrial, não obstante torna-se necessário discutir alguns aspectos pertinentes a apresentação destes resultados.

No primeiro momento observa-se que o rendimento queijeiro depende da composição do leite e da incorporação e/ou passagem dos componentes sólidos da matéria prima para o queijo no processo de coagulação, especialmente, proteína e gordura (LUCY & KELLY, 1994). No entanto, essa passagem em casos de mastite tornar-se dificultada (BARBANO et al., 1991). Outros fatores também devem ser considerados, nos casos de leite com alta CCS, ou seja, a dificuldade de acidificação da massa e a perda de nutrientes para o soro na 1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> me-

xedura, fatores estes que associados ou não podem contribuir para diminuição do rendimento (BARBANO et al., 1991)

Ainda no que concerne aos fatores que afetam o rendimento queijeiro, é salutar mencionar o teor de umidade. Quanto maior o teor de água no queijo, melhor será o rendimento. Entretanto, este aumento é desfavorável para o setor devido as alterações que ocorrem no produto final, especialmente, no que concerne a aceleração do processo de maturação, que cursa com a diminuição da consistência do queijo (BARBANO et al., 1991). Assim sendo, procura-se manter o teor de umidade compatível com as características funcionais e sensoriais desejadas. Desse modo, a melhor abordagem para cálculo do rendimento deve considerar o extrato seco total, utilizando-se o rendimento ajustado (FURTADO, 2005).

No presente estudo tal fato se torna oportuno. pois, como visto na Tabela 3, o queijo produzido com CCS superior a 750 mil céls./mL foi o que apresentou maior umidade, quando comparado aos demais tratamentos, o que refletiu nos resultados de rendimento e rendimento ajustado (Tabela 4). Esses parâmetros são importantes para a vida de prateleira do produto, pois conduzem à maior atividade hidrolítica e predisposição para o crescimento microbiano, devido ao aumento da atividade de água do produto. No entanto ressalta-se que os queijos obtidos em todos os tratamentos apresentaram entre 48% e 56% de umidade (Tabela 3), valores que estão em acordo com a legislação que estabelece o teor máximo de umidade de 60% (BRASIL, 1996). Isto é preocupante já que ocorre um incremento de 10% no rendimento dos queijos produzidos com CCS superior a 750 mil céls./mL, ou seja, o consumidor adquire um produto com características nutricionais inferiores.

Os resultados apresentados no presente estudo são similares ao obtidos por vários pesquisadores (ALI et al., 1980; BARBANO et al., 1991; AULDIST et al., 1996; KLEI et al., 1998; POLITIS & NG-KWAI-HANG, 1988) que verificaram diminuição no rendimento dos queijos quando se utiliza leite com alta CCS. Porém, diferem dos obtidos por MAZAL et al., (2007) que não observaram efeito da

CCS sobre a produção de queijo prato. Esses autores relataram que o maior teor de gordura no leite com alta CCS e a menor sinerese do coágulo podem compensar a menor recuperação de proteína no soro de leite com alta CCS, não comprometendo dessa forma o rendimento.

## 2.4 CONCLUSÕES

Perante os resultados obtidos e de acordo com as condições de realização do presente experimento, conclui-se que a elevação da CCS está relacionada à perda de proteína e gordura do leite para o soro, à redução do teor de proteína do queijo, ao aumento da umidade e ao menor rendimento industrial do queijo mussarela. Ressalta-se que esta estimativa pode ser conservadora, pois os prejuízos em decorrência da contagem de células somáticas elevada pode ser mais significativa sob condições de produção industrial.

## 2.5 REFERÊNCIAS

1. ALBENZIO, M.; CAROPRESE, A. SANTILLO, M. MARINO, L. TAIBI, R.; SEVI A. Effects of Somatic Cell Count and Stage of Lactation on the Plasmina Activity and Cheese-Making Properties of Ewe Milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.87, p.533-542, 2004.
2. ALI, A.E.; ANDREWS, A.T.; Cheeseman, G.C. Influence of elevated somatic cell count on casein distribution and cheesemaking. **Journal of Dairy Research**, London, v.47,p. 393–400, 1980.
3. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of AOAC international. 16. Washington, 1995. v.1-2.
4. AULDIST, M.J.; COATS, S.; SUTHERLANDS, B.J.; MAYES, J.J.; MCDOWELL, G.H.; ROGERS G.L. Effects of somatic cell count and stage of lactation on raw milk composition and the yield and quality of Cheddar

- cheese. **Journal of Dairy Research**, West Nyack, NY, v.63, p.269-280, 1996.
5. AULDIST, M.J.; HUBBLE, I.B. Effects of mastitis on raw milk and dairy products. **The Australian Journal of Dairy Technology**, Victoria, v. 53, n. 1, p. 28-36, 1998.
  6. BARBANO, D.M.; RAMUSSEN, R.R.; LYNCH, J.M. Influence of milk somatic cell count and milk age on cheese yield. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 1, p. 369-388, 1991.
  7. BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Produtos Lácteos. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 46 de 07 de março de 1996, **Diário Oficial da União**, Brasília, 1996.
  8. BRASIL. Instrução Normativa Número 51 de 18 de setembro de 2002. Dispõe sobre regulamentos técnicos aplicados ao leite cru e pasteurizado. **Diário Oficial da União**, Brasília, Seção 1, n.83, p.13-22, 20 set. 2002.
  9. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Instrução Normativa nº 62, de 26/08/2003. **Diário Oficial da União**, Brasília, seção I, p. 14-51, 18 set. 2003a.
  10. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária. Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos. Instrução Normativa nº 22, de 02/05/2003. **Diário Oficial da União**, Brasília, seção I, p. 1-110, 14 de abril. 2003b.
  11. BENTLEY 2000. **Operator's manual**. Chaska, EUA : Bentley Instruments, 2000. p.77.
  12. BRITO, J.R.F.; DIAS, J.C. **A qualidade do leite**. Juiz de Fora : Embrapa/Tortuga, 1998. 98p.

13. BUENO, V.F.F.; MESQUITA, A.J.; NICOLAU, E.S.; OLIVEIRA, A.N.; OLIVEIRA, J.P.; NEVES, R. BALDUÍNO S; MANSUR, J.R.G.; THOMAZ, L.W. Contagem celular somática: relação com a composição centesimal e estação do ano no Estado de Goiás. **Ciência Rural**, Santa Maria/RS, v.35, n.4, p.848-854, 2005.
14. COONEY, S.; TIERNAN, D.; JOYCE, P.; KELLY, A.L. Effect of somatic cell count and polymorphonuclear leucocyte content of milk on composition and proteolysis during ripening of Swiss-type-cheese. **Journal of Dairy Research**, London, v. 67, n. 2, p. 301-307, 2000.
15. FURTADO, M. M. Tecnologia de fabricação de queijos. 3. ed. Juiz de Fora: EPAMIG/ILCT, 1973. 215 p.
16. FURTADO, M. M. Principais problemas dos queijos: causas e prevenção, 2. ed. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 2005. 200 p.
17. GRANDISSON, A.S.; FORD, G.D. Effects of variations in somatic cell count on the rennet coagulation properties of milk and on the yield, composition and quality of cheddar cheese. **Journal of Dairy Research**, London, v. 53, n. 4, p. 645-655, 1986.
18. JAEGGI, J.J.S.; GOVINDASAMY-LUCEY, Y.M.; BERGER, M.E.; JOHNSON, B.C.; MCKUSICK, D.L.; THOMAS, W.L. Hard Ewe's Milk Cheese Manufactured from Milk of Three Different Groups of Somatic Cell Counts. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.6, p.3082-3089, 2003.
19. KELLY, A.L.; MCSWEENEY, P.L.H. Indigenous proteinases in milk. **Advanced Dairy Chemistry**. v.1, p.494-519, 2002.

20. KLEI, L.; YUN, J.; SAPRU, A.; LYNCH, J.; BARBANO, D.; SEARS, P.; GALTON, D. Effects of milk somatic cell count on Cottage cheese yield and quality. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 5, p. 1205-1213, 1998.
21. LEITNER, G., CHAFFER M., CARASO Y., EZRA E., KABABEA D., WINKLER M., GLICKMAN A. & SARAN A. Udder infection and milk somatic cell count, NAGase activity and milk composition - fat, protein and lactose- in Israeli-Assaf and Awassi sheep. **Small Ruminant Research**, v.4, p.157-164, 2005.
22. LE ROUX, Y.; COLIN, O.; LAURENT, F. Proteolysis in samples of quarter milk with varying somatic cell counts. 1. Comparison of some indicators of endogenous proteolysis in milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 78, n. 6, p. 1289-1297, 1995.
23. LE ROUX, Y.; LAURENT, F.; MOUSSAOUI, F. Polymorphonuclear proteolytic activity and milk composition change. **Veterinary Research**, v. 34, n. 5, p.629-645, 2003.
24. LUCEY, J.A.; KELLY, J. Cheese yield. **Journal of the Society of Dairy Technology**, v,47, n.1, p.1-14, 1994.
25. MACHADO, P.F.; PEREIRA, A.R.; SARRÍES, G.A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 6, p.1883-1886, 2000 a.
26. MACHADO, P.F.; PEREIRA, A.R.; SILVA, L.F.P. Células somáticas no leite em rebanhos brasileiros. **Scientia Agrícola**, São Paulo, v.57, n.2, p.359-361, 2000 b.
27. MATIOLI, G.P.; PINTOS.S.M.; BARBANO, D.M. Effect of milk from cows with mastitis on the production of fresh minas cheese. **Revista do Instituto de Laticínios Candido Tostes**, Juiz de Fora, v.34, n.38-54, 2000.

28. MAZAL, G.; VIANNA, P.C.B.; SANTOS, M.V.; GIGANTE, M.L. Effect of Somatic Cell Count on Prato Cheese Composition, **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.90, p.630-636, 2007.
29. O'BRIEN, B., MEANEY, W.J.; MCDONAGH, D.; KELLY, A. Influence of somatic cell count and storage interval on composition and processing characteristics of milk from cows in late lactation. **Australian Journal Dairy Technology**, v.56, p.213-218, 2001.
30. PEREIRA, A.R.; Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite I – gordura e proteína. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.36, n.3, p.429-433, 1999.
31. POLITIS, I.; NG-KWAI-HANG, K.F. Effects of somatic cell count and milk composition on cheese composition and cheese making efficiency. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 71, n. 7, p. 1711-1719, 1988.
32. RANDOLPH, H.E.; ERWIN, R.E. Influence of Mastitis on Properties of Milk XI. Fat Globule Membrane, **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.58, p.9-12, 1975.
33. REVILLA, I.; RODRIGUES, J.M.; QUINTANA, A.M.V. Proteolysis and texture of hard ewes' milk cheese during ripening as affected by somatic cell counts. **Journal of Dairy Research**, London, May;v.74, n.2, p.127-36, 2007.
34. RYSANEK, D.; BABAK, V.; ZOUHAROVA, M. Bulk tank milk somatic cell count and sources of raw. milk contamination with mastitis pathogens. **Veterinarni Medicina**, v.52, n.6, p 223–230, 2007.
35. SABOYA, L.V.; OLIVEIRA, A.J.; FURTADO, M.M.; SPADOTI, L.M. Efeitos físico-químicos da adição de leite reconstituído na fabricação de queijo minas frescal. **Ciência Tecnologia Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 4, p. 368-376, 1998.

36. SANTOS, M.V.; CAPLANZ, M.Y.; BARBANO, D.M. Effect of Somatic Cell Count on Proteolysis and Lipolysis in Pasteurized Fluid Milk During Shelf-Life Storage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.90, n.8, p.2491-2503, 2003a.
37. SANTOS, M.V.; CAPLANZ, M.Y.; BARBANO, D.M. Sensory Threshold of Off-Flavors Caused by Proteolysis and Lipolysis in Milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.86, p. 1601-1607, 2003b.
38. SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. **Estratégias para o controle da mastite e melhoria da qualidade do leite**. 1ª edição, Editora Manole: Barueri, SP. 2007, 314p.
39. SILVA, P.H. F. **Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação do teor de caseína em leite e para avaliação da proteólise em queijos**. Viçosa, UFV, 1995, 64p.
40. SILVA, L.F.P.; PEREIRA, A.R.; MACHADO, P.F.; SARRIÉS, G.A. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite II – lactose e sólidos totais. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.37, n.4, p.330-333, 2000.
41. SRINIVASAN, M.; LUCEY, J.A. Effects of added plasmin on the formation and rheological properties of rennet-induced skim milk gels. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 5, p. 1070-1078, 2002.
42. URECH, E.; PUHAN, Z.; SCHÄLLIBAUM, M. Changes in milk protein fraction as affected by subclinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82, n. 11, p. 2402-2411, 1999.
43. VERDI, R.J.; BARBANO, D.M. Effect of coagulants, somatic cell enzymes, and extracellular bacterial enzymes on plasminogen activation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 3, p. 772-782, 1991.

## **CAPÍTULO 3- EFEITO DOS NÍVEIS DE CÉLULAS SOMÁTICAS DO LEITE SOBRE A MICROBIOTA E A PROTEÓLISE DO QUEIJO MUSSARELA DURANTE O PERÍODO DE ARMAZENAMENTO.**

### **RESUMO**

A contagem de células somáticas (CCS) constitui um parâmetro mundialmente utilizado para a avaliação da qualidade do leite, e que seu aumento, cursa com defeitos na manufatura de queijos. Assim sendo, objetivou-se com a realização deste estudo avaliar o efeito do nível de células somáticas do leite sobre a microbiota e a proteólise do queijo mussarela, durante o período de armazenamento. Foram selecionadas vacas com contagem de células somáticas  $\leq 200$  mil células/mL; CCS  $>400$  a  $\leq 400$  mil células/mL; CCS  $>400$  mil células/mL a  $\leq 750$  mil células/mL e CCS  $>750$  mil células/mL e que não tinham recebido tratamento com antimicrobianos nos dias que antecederam a coleta da matéria-prima. Os queijos foram produzidos na Planta de Laticínios do Centro de Treinamento da Agência Rural. Os queijos foram avaliados após 1, 15 e 30 dias de maturação para a contagem de coliformes totais, fecais, psicrotróficos e bactérias ácido lácticas. Paralelamente, foram determinados os índices de extensão e profundidade da proteólise. O experimento completo foi repetido quatro vezes e o delineamento experimental em blocos completamente aleatorizados. Houve diminuição das bactérias ácido lácticas no queijo elaborado com leite contendo CCS  $>750$  mil céls./mL. Não obstante, ocorreu um aumento significativo na extensão e profundidade da proteólise durante o período de armazenamento, sendo que estes resultados foram observados nos queijos fabricados com o leite contendo células somáticas  $>400$  mil céls./mL. Assim, para se produzir queijo mussarela de boa qualidade torna-se necessário o controle da matéria prima, devendo a mesma apresentar CCS inferior a 400 mil céls./mL.

**Palavras-chave:** mastite sub-clínica, vida de prateleira, alterações sensoriais.

### 3.1 INTRODUÇÃO

A mussarela é o queijo de massa filada mais produzido no Brasil e segundo estimativas de FURTADO (2005) sua produção deve superar 200 mil toneladas. Este tipo de queijo é utilizado principalmente no preparo de pizzas e deve apresentar boas propriedades funcionais, especialmente, no que concerne ao fatiamento e derretimento. Entre os fatores que podem influenciar negativamente sobre estes parâmetros, destaca-se a ocorrência de mastite nos rebanhos, a qual compromete a qualidade da matéria prima utilizada no processamento dos queijos (REVILLA et al., 2007).

A mastite é uma condição inflamatória complexa da glândula mamária que causa um aumento das células somáticas do leite (MACHADO et al., 2000). A elevada quantidade dessas células resulta em diminuição da vida de prateleira do leite pasteurizado, afetando negativamente a sua qualidade sensorial (SANTOS et al., 2003a; SANTOS et al., 2003b). Tais problemas são também relatados em queijos (MAZAL et al., 2007; REVILLA et al., 2007). Isto ocorre pela ação das proteases produzidas por as células somáticas sobre a caseína (ALBENZIO et al., 2004).

A proteólise endógena do leite ocorre devido a atividade da plasmina e das proteases produzidas pelas células somáticas (REVILLA et al., 2007). KELLY & MCSWEENEY (2002) relataram que as células somáticas defendem o úbere das infecções, a partir da liberação de enzimas proteolíticas ativas, como a plasmina, elastase, colagenase e catepsina. Além dos fatores proteolíticos o aumento da CCS cursa com alterações nos fatores antimicrobianos, por meio do aumento destes, o que promove uma injúria da microbiota utilizada nos processos de fermentação industrial, como a do queijo. Isto refletirá na dificuldade de acidificação da massa no processo de coagulação (PARK, 2001; SANTOS & FONSECA, 2007).

A plasmina possui papel central nesta atividade, podendo clivar rapidamente a molécula de caseína em polipeptídios menores (PARK, 2001). Ilustrando

tal fato MAZAL et al. (2007) descreveram o incremento da atividade proteolítica em queijo prato produzido com leite contendo CCS alta >600 mil céls./mL. Esses resultados são similares aos observados por REVILLA et al. (2007) que observaram o efeito da CCS sobre a proteólise do queijo processado com leite de ovino com CCS superior a 2,5 milhões de céls./mL.

Todos esses fatores podem contribuir em maior ou menor grau para a apresentação de alterações significativas na produção e vida de prateleira de queijos. Assim sendo, objetivou-se com a realização deste trabalho determinar o efeito do nível de células somáticas do leite sobre as características microbiológicas e a proteólise no queijo mussarela, durante o período de armazenamento.

## **3.2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.2.1 Obtenção do leite**

O leite utilizado no presente experimento foi obtido na unidade de produção do Departamento de Produção Animal da Escola Veterinária da Universidade Federal de Goiás (DPA/EV/UFG). O plantel era constituído de 45 vacas em lactação com produção média de 640L/dia.

Foram selecionadas 30 vacas que se encontraram em estágio de lactação superior a 10 dias e que não tinham recebido tratamento com antimicrobianos, nos dias que antecederam a coleta do leite. Para a seleção dos animais, procedeu-se na ordenha da manhã a colheita das amostras de leite de cada vaca em lactação, após homogeneização do leite por no mínimo 10 segundos no balão medidor. Em seguida fez-se a colheita de 40mL de leite em frascos contendo uma pastilha conservante Bronopol<sup>®</sup> (D & F Control Systems, Dublin, USA). Procedeu-se a homogeneização visando a dissolução da pastilha e o acondicionamento em condições de refrigeração a fim de transportar para o Laboratório de Qualidade do Leite (LQL) da EV/UFG para a realização da contagem de células somáticas (CCS) e determinação da composição do leite.

Em função dos resultados apresentados para a CCS, do volume de leite produzido e dos teores de proteína total e gordura, as vacas foram distribuídas em grupos visando a obtenção de leite com baixa CCS ( $\leq 200$  mil céls./mL), com nível médio ( $>200$  a  $\leq 400$  mil céls./mL), intermediário ( $>400$  mil céls./mL a  $\leq 750$  mil céls./mL) e alto ( $>750$  mil céls./mL).

O leite necessário à realização do experimento, foi obtido por ordenha individual dos animais, três dias após as análises laboratoriais, sendo que cada grupo foi ordenhado separadamente. O leite de cada grupo de vacas, foi colhido na ordenha da manhã, em galões de polipropileno higienizados, com capacidade para 50 litros, os quais foram acondicionados em câmara fria a 5°C até o momento de sua utilização.

### **3.2.2 Fabricação dos queijos mussarela**

O conteúdo total do leite dos galões foi vertido em tanque de fabricação e submetido à pasteurização lenta a 65°C por 30 minutos. Após este procedimento, foi vertido em tanque de coagulação onde se realizou o acerto da temperatura para 35°C. A seguir fêz-se a adição da cultura láctic a mesofílica “composta de múltiplas cepas de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*” (1mL/10L) e do cloreto de cálcio 50% (40mL/100L). Esperou-se 30 minutos, e adicionou-se o coalho, composto de quimosina e pepsina bovina, conforme recomendações do fabricante (25mL/100L). Após 40 minutos, fez-se o teste para avaliar o ponto da massa, realizando um corte na superfície da coalhada para verificar se a mesma apresentava-se seca e macia. Em seguida, fez-se o corte da massa em cubos de cerca de 1cm de aresta deixando-a em repouso por cinco minutos. Iniciou-se uma agitação lenta e contínua, primeira mexedura, utilizando liras manuais, por cerca de 20 minutos. Logo após sob aquecimento a 44°C fez-se a 2ª mexedura. Após essa etapa a massa foi deixada em repouso, procedendo-se a dessora e o corte em blocos menores. Transcorrido o tempo mínimo de espera

de fermentação da massa, ou seja, 12h, procedeu-se o teste para averiguar o ponto de filagem, utilizando uma porção da massa a qual foi colocada em água a temperatura 75<sup>o</sup>-80<sup>o</sup>C. Quando esticava sem arrebentar, procedia-se a filagem, realizada da seguinte forma: a massa foi cortada em tiras de cerca de 7cm de espessura, e filada em água a 80<sup>o</sup>C, obedecendo uma relação água de filagem:massa de 3:1. Em seguida foi moldada, enformada em formas plásticas retangulares de 500g e imersas em água a 10<sup>o</sup>C por 4h. Seguiu-se a salga em salmoura, contendo 20% de sal, a 10-12<sup>o</sup>C por um período de 6h. A secagem da superfície foi realizada em câmara-fria a 10-12<sup>o</sup>C com umidade relativa do ar de aproximadamente 70% durante 12h, seguindo-se a embalagem em plástico termocolhível e estocagem em câmara fria a 4-7<sup>o</sup>C por 30 dias.

### **3.2.3 Procedimentos de amostragem e análises realizadas**

Foram colhidas assepticamente amostras de leite cru dos galões, destinados à realização das análises microbiológicas por meio da contagem bacteriana total (CBT) e físico-químicas por meio da realização da CCS, gordura, proteína, lactose, sólidos totais, pH, acidez e crioscopia (BRASIL, 2003a e b).

Após pasteurização do leite, foram colhidas amostras para a determinação do número mais provável (NMP) de coliformes total e fecal (BRASIL, 2003a) e do perfil enzimático por meio da pesquisa das enzimas fosfatase alcalina e peroxidase (BRASIL, 2003b).

Realizou-se também a amostragem do produto final por meio da colheita de três amostras por lote, 24 horas após a fabricação, nos dias 15<sup>o</sup> e 30<sup>o</sup> de armazenamento, dos queijos. Foram realizadas as seguintes análises: determinação do índice de proteólise (BYNUM & BARBANO, 1985) e contagem de coliformes totais e fecais (BRASIL 2003a), dos microrganismos psicrotróficos aeróbios facultativos viáveis e bactérias ácidos lácticas (APHA, 2001).

### 3.2.4 Procedimentos analíticos

#### 3.2.4.1 Análises físico-químicas

Todas as análises foram realizadas em triplicata, conforme procedimento descrito.

**Acidez titulável do leite:** A acidez foi determinada por meio da titulação das amostras com solução de hidróxido de sódio (NaOH) N/9 (solução Dornic), tendo como indicador solução alcoólica de fenolftaleína a 1,0%. Os resultados foram expressos em graus Dornic (BRASIL, 2003b).

**CCS do leite:** utilizou-se o equipamento Fossomatic 500 Basic<sup>®</sup> (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark) cujo princípio analítico baseia-se na citometria de fluxo.

**Composição do leite:** os teores de gordura, proteína, lactose e sólidos totais foram determinados utilizando o equipamento Milkoscan 4000<sup>®</sup> (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark), cujo princípio analítico baseia-se na absorção diferencial de ondas infravermelhas pelos componentes do leite.

**Crioscopia do leite:** realizada empregando-se crioscópio eletrônico ITR modelo MK 540, sendo o resultado expresso em graus Horvet (°H) (BRASIL, 2003b).

**Densidade do leite a 15°C:** determinado em acordo com a metodologia prevista em BRASIL (2003b).

**Fosfatase alcalina do leite pasteurizado:** a enzima foi pesquisada empregando-se a metodologia descrita em BRASIL (2003b)

**Peroxidase do leite pasteurizado:** utilizou-se a metodologia descrita em BRASIL (2003b)

**pH do leite:** determinado utilizando-se um potenciômetro HANNA, modelo HI 8314, provido de eletrodo de inserção previamente calibrado.

**Uréia:** determinada utilizando-se o equipamento Chemspeck 150<sup>®</sup> da Bentley Instruments, por meio de um método enzimático e espectrofotométrico (BENTLEY, 2000). Esta análise foi realizada na Clínica do Leite, ESALQ/USP.

#### 3.2.4.2 Análises microbiológicas realizadas no leite e nos queijos

As análises foram realizadas em duplicata, conforme metodologia descrita a seguir.

**Bactérias ácido lácticas:** fez-se a contagem em ágar MRS, pelo método de plaqueamento em profundidade, incubando as placas em câmaras de anaerobiose a 32°C por 48 horas (APHA, 2001).

**Coliformes totais e fecais no leite:** utilizou-se o método do número mais provável (NMP) por meio do seguinte procedimento: Inoculação em Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) seguido da incubação a 37°C por 48 horas. Transferência, simultânea, de uma alçada dos tubos com produção de gás e turvação, para tubos contendo Caldo Verde Brilhante Bile (VBBL) e incubação a 37°C por 48 horas; e para Caldo EC, seguindo de incubação em banho-maria 45,5°C por 48 horas; (BRASIL, 2002). Os resultados foram expressos utilizando-se a tabela de McCrady.

**Contagem de coliformes total e fecal nos queijos:** conforme a Instrução Normativa Nº 62 (BRASIL, 2003a), sendo a análise inicial realizada em ágar vermelho violeta bile lactose VRBA, por meio do plaqueamento em dupla camada, seguindo de incubação a 37°C por 48 horas. Após este período as unidades formadoras de colônias que apresentavam roxas com formação de halo foram repicadas para o caldo verde brilhante bile lactose 2% (VBBL) e incubadas a 37°C por 48 horas; e para Caldo EC e incubadas em banho-maria 45,5°C por 48 horas, respectivamente.

te, para coliforme total e fecal, procedendo-se então a leitura e a expressão dos resultados em UFC/g (BRASIL, 2001 e 2002).

**CBT:** para realização da (CBT) as amostras foram colhidas em frascos esterilizados com capacidade de 40mL, contendo o conservante bacteriostático Azidiol, sendo enviado ao laboratório sob condições de refrigeração. A CBT foi realizada por meio do Bactoscan FC<sup>®</sup> (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark), cujo princípio analítico baseia-se na citometria de fluxo.

**Contagem de psicotróficos:** utilizou-se o ágar padrão para contagem (PCA), e plaqueamento em superfície, sendo a incubação a 7°C por 7 dias. Os resultados foram expressos em UFC/g (APHA, 2001).

### **Determinação da proteólise dos queijos**

A proteólise foi quantificada por meio da determinação do nitrogênio solúvel em tampão acetato a pH 4,6 e em 12% de ácido tricloroacético (TCA), sendo os resultados expressos como percentagem do nitrogênio total.

O nitrogênio solúvel em solução tampão de acetato a pH 4,6 quantifica a extensão da proteólise, como medida da ação do coagulante numa fase inicial do fracionamento dos componentes nitrogenados do queijo, enquanto o nitrogênio solúvel em 12%TCA quantifica a profundidade, medindo a atividade das enzimas provenientes da cultura láctica. O Nitrogênio Total (NT) foi determinado pelo método de Kjeldahl, conforme metodologia da AOAC 991.20 e a proteína total (PT) calculada pela multiplicação da porcentagem de NT por 6,38.

No presente trabalho, a proteólise foi quantificada por meio da determinação dos índices de extensão da maturação (IEM) e de profundidade (IPM) segundo a metodologia de BYNUM & BARBANO (1985). Os resultados foram expressos como percentagem do teor de nitrogênio total segundo as equações 1 e 2.

Estes índices foram determinados no 1, 15 e 30 dia de maturação do queijo mussarela.

$$\text{Equação 1: } \text{IEM} = \frac{\% \text{ Nitrogênio solúvel a pH 4,6}}{\% \text{ Nitrogênio total}} \times 100 .$$

$$\text{Equação 2: } \text{IPM} = \frac{\% \text{ Nitrogênio solúvel em TCA 12\%}}{\% \text{ Nitrogênio total}} \times 100$$

### 3.2.5 Análise estatística

Foi utilizado o delineamento experimental em blocos completamente aleatorizados, sendo que os níveis de células somáticas foram considerados como parcela principal, enquanto que o tempo de armazenamento e as respectivas interações como sub-parcelas. Os resultados foram inicialmente averiguados para a normalidade dos resíduos, por meio do teste de tukey, e a homogeneidade das variâncias pelo teste F, adotando-se,  $\alpha=0,05$ . O experimento completo foi repetido quatro vezes com um intervalo de 70 dias entre cada repetição.

Os resultados de CCS e das análises microbiológicas foram transformados em logaritmo natural, pois não possuem distribuição normal. Os cálculos foram realizados com o auxílio Software livre R, versão 2.4.1.

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os percentuais médios e o desvio padrão da CBT, proteína, gordura, lactose, sólidos totais do leite e uréia, encontram-se na Tabela 1. Pode-se observar que ocorreu redução significativa nos teores de proteína com o aumento da CCS, acompanhado do aumento de uréia e gordura, sendo que para esses parâmetros houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre o nível 4 e os demais níveis de CCS. Em relação aos outros parâmetros analisados não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os diferentes níveis de CCS.

Tabela 1- Indicadores da qualidade do leite associados a diferentes níveis células somáticas. Goiânia, GO, 2007

| Parâmetros avalia-<br>dos     | Níveis de CCS             |                           |                           |                           |
|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                               | Nível 1                   | Nível 2                   | Nível 3                   | Nível 4                   |
| CCS (Log cél/mL) <sup>1</sup> | 4,94 ± 0,18               | 5,46 ± 0,10               | 5,74 ± 0,11               | 6,27 ± 0,12               |
| CBT (log UFC/mL) <sup>2</sup> | 5,10 ± 0,41 <sup>a</sup>  | 4,93 ± 2,13 <sup>a</sup>  | 5,35 ± 0,44 <sup>a</sup>  | 5,19 ± 0,36 <sup>a</sup>  |
| Proteína (%)                  | 3,16 ± 0,03 <sup>a</sup>  | 3,38 ± 0,03 <sup>a</sup>  | 3,17 ± 0,06 <sup>a</sup>  | 2,42 ± 0,04 <sup>b</sup>  |
| Gordura (%)                   | 3,10 ± 0,20 <sup>a</sup>  | 3,14 ± 0,19 <sup>a</sup>  | 3,00 ± 0,11 <sup>a</sup>  | 3,51 ± 0,36 <sup>b</sup>  |
| Lactose (%)                   | 4,53 ± 0,09 <sup>a</sup>  | 4,43 ± 0,13 <sup>a</sup>  | 4,40 ± 0,08 <sup>a</sup>  | 4,36 ± 0,09 <sup>a</sup>  |
| Sólidos totais (%)            | 11,62 ± 0,37 <sup>a</sup> | 12,42 ± 1,18 <sup>a</sup> | 11,91 ± 0,54 <sup>a</sup> | 11,78 ± 0,31 <sup>a</sup> |
| Uréia (mg/dL)                 | 16,85 ± 1,13 <sup>a</sup> | 16,72 ± 2,13 <sup>a</sup> | 17,25 ± 2,03 <sup>a</sup> | 24,85 ± 7,13 <sup>b</sup> |

<sup>1</sup> Contagem de células somáticas; <sup>2</sup> Contagem bacteriana total; Valores com mesma letra na linha não diferiram significativamente entre si ( $p \leq 0,05$ ). Nível 1: leite com CCS baixa ( $\leq 200.000$  céls./mL); Nível 2: leite com CCS média ( $>200.000$  céls./mL  $\leq 400.000$  céls./mL); Nível 3: leite com CCS intermediária ( $>400.000$  céls./mL  $\leq 750.000$  céls./mL); Nível 4: leite com CCS alta ( $>750.000$  cél/mL);

Em vacas com mastite observa-se lesão do epitélio glandular o que pode levar a uma diminuição dos componentes sintetizados no interior da glândula, especialmente, a caseína, o que explica a diminuição no percentual de proteína do leite com alta CCS (PEREIRA et al., 1999). Em relação a gordura também se observa a diminuição da síntese, no entanto, quando a diminuição da produção ocorre de maneira mais drástica que a síntese, o teor de gordura sofre um aumento proporcional (MACHADO et al., 2000), o que pode ter ocorrido no presente estudo. Em relação a uréia, sabe-se que o aumento da CCS relaciona-se a uma maior síntese de plasmina e do seu precursor inativo plasminogênio, enzima que hidrolisa as proteínas do leite em pequenas moléculas de peptídeos e uréia. Soma-se a

isto, a capacidade de produção de substâncias ativadoras do plasminogênio pelos leucócitos (VERDI & BARBANO,1991; LE ROUX et al., 1995; O'BRIEN et al., 2001 e MAZAL et al., 2007). Também deve ser levado em consideração o efeito da mastite sobre os capilares sanguíneos, os quais se tornam mais permeáveis o que pode favorecer a passagem de moléculas de uréia do sangue para o leite.

Observando os teores médios de lactose e sólidos totais nos diferentes níveis CCS (Tabela 1) constata-se que praticamente não houve variação. Esses resultados estão em discordância com os obtidos por AULDIST et al. (1998); BRITO & DIAS (1998) e BUENO et al. (2005) que mencionaram a ocorrência de redução desses parâmetros conforme o aumento da CCS.

Em relação à CBT, observa-se que não houve diferença significativa entre os diferentes níveis de CCS ( $p>0,05$ ). SANTOS & FONSECA (2007) relataram que geralmente o aumento na CCS não tem relação direta com a CBT, excetuando nas infecções onde o agente etiológico da mastite seja o *Streptococcus agalactiae* ou o *S.dysgalactiae*. No entanto, RYSANEC et al. (2007) por meio da avaliação de CCS e CBT de 298 rebanhos estabeleceram que valores superiores a 400 mil céls./mL correlacionam-se com a qualidade higiênico-sanitária, ou seja, com a CBT. Os autores encontraram uma correlação de 0,63. entre a CCS e a CBT.

Na Tabela 2 são apresentados os resultados dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos do leite pasteurizado de acordo com diferentes níveis de contagem de células somáticas.

Tabela 2- Parâmetros físico-químicos e microbiológicos do leite pasteurizado de acordo com diferentes níveis de contagem de células somáticas, Goiânia. GO. 2007

| Parâmetros                                      | CCS obtida nas repetições |          |          |          |
|---|---------------------------|----------|----------|----------|
|   | Nível 1                   | Nível 2  | Nível 3  | Nível 4  |
| NMP <sup>1</sup> de coliforme total (LogNMP/mL) | <0,3                      | <0,3     | <0,3     | <0,3     |
| NMP de coliforme fecal (LogNMP/mL)              | <0,3                      | <0,3     | <0,3     | <0,3     |
| Pesquisa de Fosfatase alcalina                  | Negativo                  | Negativo | Negativo | Negativo |
| Pesquisa de Peroxidase                          | Positivo                  | Positivo | Positivo | Positivo |

<sup>1</sup>NMP: Número mais provável; Nível 1: leite com CCS baixa ( $\leq 200.000$  céls./mL); Nível 2: leite com CCS média ( $>200.000$  céls./mL  $\leq 400.000$  céls./mL); Nível 3: leite com CCS intermediária ( $>400.000$  céls./mL  $\leq 750.000$  céls./mL); Nível 4: leite com CCS alta ( $>750.000$  céls./mL);

Ao contrastar os resultados das análises realizadas no leite pasteurizado e os padrões previstos na Instrução Normativa N°51 em seu regulamento técnico e de identidade e qualidade, observa-se que os mesmos estão em acordo com a legislação vigente (BRASIL, 2002). A IN51 preconiza para a análise de coliforme total um resultado 2,0 NMP/mL e para o coliforme fecal 1,0NMP/mL (BRASIL, 2002).

Conforme já mencionado por SANTOS & FONSECA (2007) a CCS não cursa com alterações nas características microbiológicas do produto excetuando os casos de ocorrência de patógenos contagiosos como o *Streptococcus agalactiae* e *S. dysgalactiae*, portanto se o tratamento térmico for realizado de forma adequada, respeitando, o binômio tempo e temperatura recomendados, ocorrerá a destruição dos patógenos e de grande parte dos microrganismos termolábeis, entre os quais, os coliformes.

Em relação ao perfil enzimático, considerando que o leite foi submetido ao processo de pasteurização lenta, os resultados já eram esperados, ou seja negativo para fosfatase alcalina e positivo para peroxidase (BRASIL, 2002). Tais parâmetros são importantes para aferir a intensidade do tratamento térmico o qual o leite é submetido. Desse modo, pode-se afirmar que o leite dos tratamentos apresentaram adequado perfil enzimático para elaboração do queijo mussarela, de modo a não interferir no objetivo do experimento.

Na Tabela 3 são apresentados os resultados dos parâmetros microbiológicos dos queijos elaborados com leite contendo diferentes níveis de células somáticas, durante os períodos de armazenamento ou maturação de 1, 15 e 30 dias.

Tabela 3- Médias e desvio padrão para a análise de variância dos coliformes totais, fecais, psicotróficos e bactérias ácidos lácticas em queijo mussarela elaborado com leite contendo diferentes níveis de células somáticas, nos dias um, 15 e 30 de armazenamento a 7°C. Goiânia, GO, 2007

| Grupos  | DIA 1       | DIA 15      | DIA 30      | CV(%) | Regressão       |
|---|-------------|-------------|-------------|-------|-----------------|
| <b>Contagem de coliformes totais (Log UFC/g)</b>        |             |             |             |       |                 |
| Nível 1   | 1,00 ± 0,00 | 1,00 ± 0,00 | 1,00 ± 0,00 |       |                 |
| Nível 2   | 1,00 ± 0,00 | 1,00 ± 0,00 | 1,00 ± 0,00 |       |                 |
| Nível 3   | 1,00 ± 0,00 | 1,00 ± 0,00 | 1,00 ± 0,00 | 0,00  | NS              |
| Nível 4   | 1,00 ± 0,00 | 1,00 ± 0,00 | 1,00 ± 0,00 |       |                 |
| <b>Contagem de coliformes fecais (Log UFC/g)</b>        |             |             |             |       |                 |
| Nível 1   | 1,00 ± 0,00 | 1,00 ± 0,00 | 1,00 ± 0,00 |       |                 |
| Nível 2   | 1,00 ± 0,00 | 1,00 ± 0,00 | 1,00 ± 0,00 |       |                 |
| Nível 3   | 1,00 ± 0,00 | 1,00 ± 0,00 | 1,00 ± 0,00 | 0,00  | NS              |
| Nível 4   | 1,00 ± 0,00 | 1,00 ± 0,00 | 1,00 ± 0,00 |       |                 |
| <b>Contagem de bactérias ácido lácticas (Log UFC/g)</b> |             |             |             |       |                 |
| Nível 1   | 6,72 ± 0,82 | 6,85 ± 0,12 | 7,01 ± 0,29 |       |                 |
| Nível 2   | 6,41 ± 0,70 | 6,76 ± 0,90 | 6,81 ± 0,72 |       |                 |
| Nível 3   | 6,98 ± 0,20 | 6,84 ± 0,87 | 6,89 ± 0,58 | 10,89 | Efeito Linear*  |
| Nível 4   | 5,86 ± 0,32 | 4,76 ± 0,60 | 4,87 ± 0,83 |       |                 |
| <b>Contagem de psicotróficos (Log UFC/g)</b>            |             |             |             |       |                 |
| Nível 1   | 1,00 ± 0,00 | 2,74 ± 0,52 | 2,95 ± 0,34 |       |                 |
| Nível 2   | 1,00 ± 0,00 | 2,75 ± 0,26 | 3,01 ± 0,09 |       |                 |
| Nível 3   | 1,00 ± 0,00 | 2,83 ± 0,70 | 3,18 ± 0,11 | 28,25 | Efeito Linear** |
| Nível 4   | 1,00 ± 0,00 | 2,77 ± 0,61 | 3,18 ± 0,90 |       |                 |

Nível 1: leite com CCS baixa ( $\leq 200.000$  céls./mL); Nível 2: leite com CCS média ( $>200.000$  céls./mL  $\leq 400.000$  céls./mL); Nível 3: leite com CCS intermediária ( $>400.000$  céls./mL  $\leq 750.000$  céls./mL); Nível 4: leite com CCS alta ( $>750.000$  céls./mL); NS: não significativo para  $p \leq 0,05$  pela Análise de Variância. \*Efeito linear para o nível de CCS e tempo. \*\* Efeito linear para o tempo.

Em relação aos aspectos microbiológicos dos queijos apenas a contagem de bactérias ácido lácticas ( $p \leq 0,05$ ) sofreu influência dos parâmetros CCS e tempo de armazenamento. A contagem de microrganismos psicotróficos foi influenciada apenas pelo tempo de armazenamento ( $p \leq 0,05$ ).

No que se refere à contagem de coliformes totais e fecais, os resultados contidos na Tabela 4 apresentam-se em acordo com os padrões previsto na Portaria nº146 (BRASIL, 1996), comprovando que a produção foi realizada em acordo com os requisitos de BPF “boas praticas de fabricação” e PPHO "Procedimento Padrão de Higiene Operacional".

Em geral os valores das contagens de bactérias ácido lácticas apresentaram ligeiro aumento durante o período de estocagem, indicando multiplicação dessa microbiota presente nos queijos. Porém, no produto elaborado com CCS superior a 750 mil céls./mL, observa-se ligeira diminuição (Figura 1).

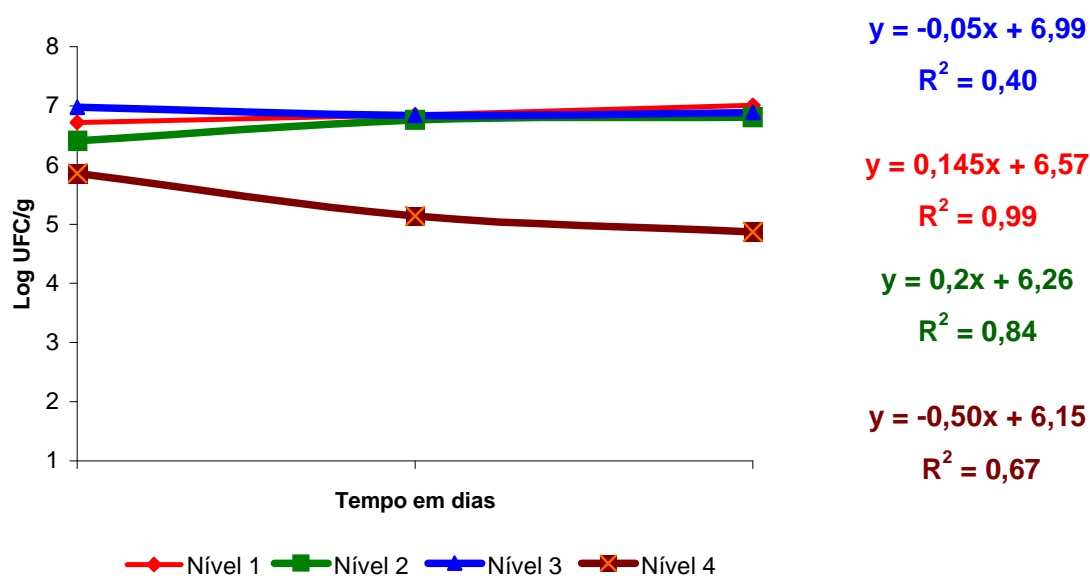


FIGURA 1- Efeito dos níveis de células somáticas sobre as bactérias ácido lácticas do queijo mussarela nos dias um, 15 e 30 de armazenamento a 7°C.

Como pode ser visto na Figura 1, aproximadamente, 67% ( $R^2 = 0,67$ ) dos fatores relacionados a inibição da cultura iniciadora ou das bactérias ácido lácticas utilizadas no processo de coagulação do queijo mussarela produzido com CCS superior a 750 mil céls/mL foi associado ao aumento do parâmetro. Isso pode ser explicado em, parte, pela injúria provocada pelos microrganismos e pela

ocorrência de enzimas antimicrobianas em leite com alta CCS (LE ROUX et al., 2003; MAZAL et al., 2007).

Quanto à contagem de microrganismos psicrotróficos (Figura 2), observa-se que o número de UFC/g aumentou no decorrer do período de armazenamento.

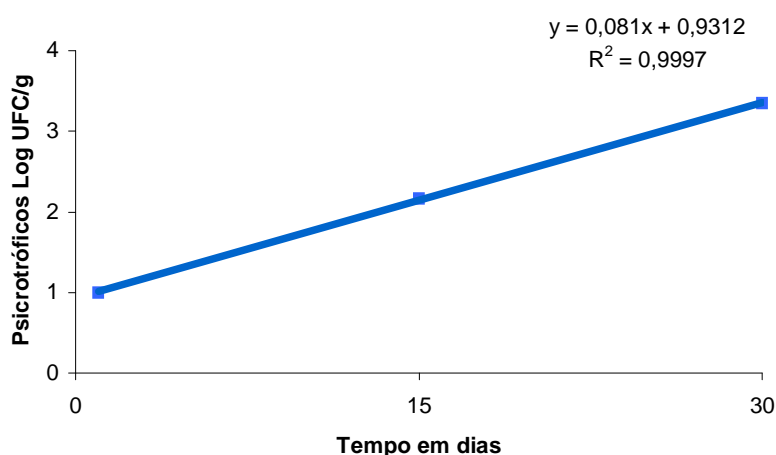


FIGURA 2\*- Efeito do tempo de armazenamento a 7°C sobre os microrganismos psicrotróficos nos dias um, 15 e 30. \*Gráfico elaborado com as médias de todos os tratamentos.

No entanto, observa-se na Figura 2, que os índices ou contagens de microrganismos psicrotróficos não foram superiores a 3,18log UFC/g. Nessas condições não ocorre produção de enzimas proteolíticas e lipolíticas (PARK, 2001; SANTOS & FONSECA, 2007) em quantidades suficientes para causar danos as características físico químicas e sensoriais dos queijos (PARK, 2001). Os autores revelam ainda que os microrganismos psicrotróficos são aqueles que crescem em temperatura de 7°C, independente da temperatura ótima de crescimento, sendo que alguns gêneros são considerados termodúrico, ou seja, suportam temperatura de pasteurização. Essas informações são importantes para explicar o que ocorreu no presente trabalho, pois no primeiro dia de análise não foi obtido crescimento deste tipo de microrganismo nos queijos, sendo que a partir do 15º dia foi observado o aumento gradativo até 30º dia de armazenamento ou maturação a 7°C, como

visualizado na Figura 2. O interessante é que foi observada uma influência de 99% ( $R^2=0,99$ ) entre o processo de armazenamento e o crescimento dos microrganismos psicotróficos.

A evolução dos índices de extensão (IEM) e de profundidade (IPM) da proteólise dos queijos elaborados com leite contendo diferentes níveis de contagem de células somáticas ao longo de 30 dias de armazenamento, é apresentada nas Figuras 3 e 4, respectivamente.

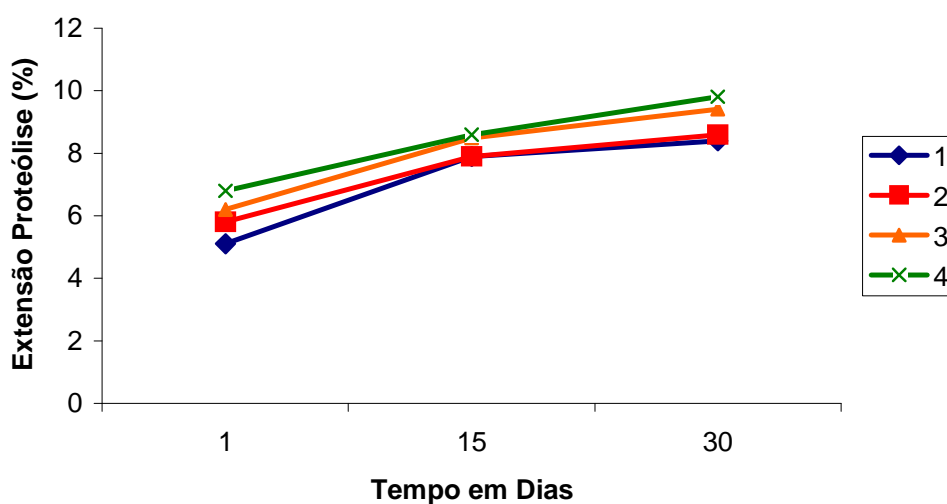


FIGURA 3- Evolução dos índices de extensão da proteólise dos queijos fabricados com leite contendo diferentes níveis de células somáticas (1-CCS  $\leq 200$  mil céls./mL; 2-CCS  $>400$  a  $\leq 400$  mil céls./mL; 3-CCS  $>400$  mil céls./mL a  $\leq 750$  mil céls./mL e 4-CCS  $>750$  mil céls./mL) durante o período de armazenamento a  $7^{\circ}\text{C}$ .

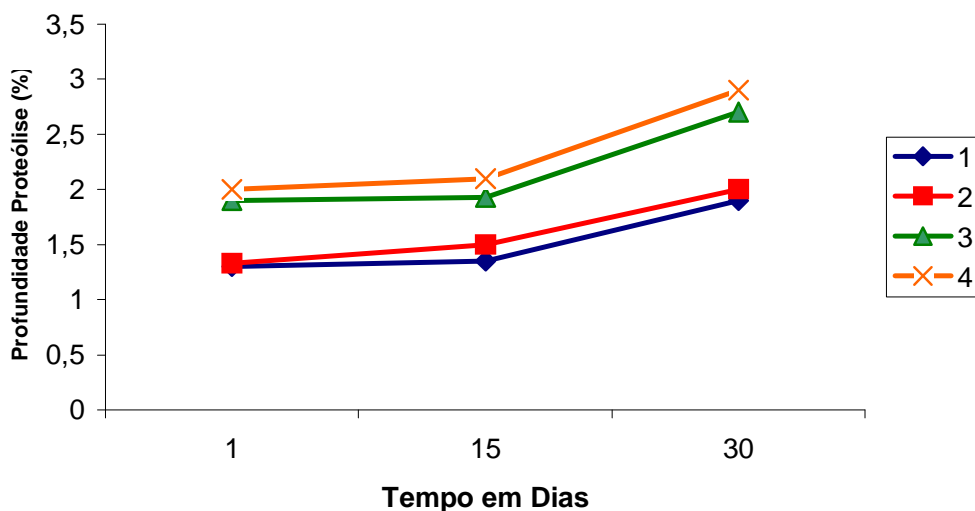


FIGURA 4- Evolução dos índices de profundidade da proteólise dos queijos fabricados com leite contendo diferentes níveis de células somáticas (1- $\leq 200$  mil céls./mL; 2-CCS  $>400$  a  $\leq 400$  mil céls./mL; 3-CCS  $>400$  mil céls./mL a  $\leq 750$  mil céls./mL e 4-CCS  $>750$  mil céls./mL) durante o período de armazenamento a  $7^{\circ}\text{C}$ .

Observa-se nas Figuras 3 e 4, que o tempo de armazenamento afetou significativamente o IEM e o IPM da proteólise, os quais aumentaram ao longo dos dias, sendo que houve diferença estatística significativa ( $p \leq 0,05$ ) para os queijos elaborados com CCS superior a 400 mil céls./mL. Segundo FOX & LAW (1991) a maturação é caracterizada pela quebra das proteínas presentes no queijo, especialmente, as caseínas, como resultado da atividade enzimática. Contribuem para este processo o coalho, proteases e peptidases do fermento láctico e/ou microbiota secundária e enzimas naturais do leite. Os autores ressaltam ainda que durante a proteólise ocorre fragilização da rede protéica do queijo aumentando a capacidade de derretimento do mesmo. Tal propriedade é importante para o queijo mussarela, uma vez que a aceitabilidade do produto pelo consumidor está relacionada com esta característica.

A relação entre a utilização do leite com alto nível de CCS e o grau de proteólise em queijos, tem sido motivo de estudo em todo mundo. No entanto observa-se que os resultados são contraditórios. KALIT et al. (2005) não constataram efeito do nível de CCS sobre a proteólise do queijo elaborado com leite contendo CCS superior a 500 mil céls./mL. No entanto, resultados similares aos encontrados no presente estudo, foram obtidos por COONEY et al. (2000) e MARINO et al. (2005) os quais afirmaram que a proteólise aumentou ao longo do tempo de armazenamento e foi sempre maior para os queijos fabricados com leite contendo alta CCS.

Por outro lado, ANDREATTA et al. (2006) observaram que houve diminuição da proteólise em amostra de queijo minas frescal elaborado com leite contendo CCS >800 mil céls./mL. Os autores justificaram a diminuição com o aumento das substâncias antimicrobianas que ocorre no leite com alta CCS. Ainda segundo os autores, a cultura láctea não se desenvolve adequadamente inibindo, conseqüentemente, o grau de proteólise durante o período de armazenamento. No entanto, destaca-se que no presente estudo também foi observada a inibição dos microrganismos utilizados na cultura láctea (nível 4), contudo deve-se levar em consideração que no leite mastístico ocorre maior produção de proteases não bacterianas, que pode ter sobreposto a este processo de inibição enzimática de origem microbiana.

No leite mastístico observa-se o aumento de enzimas proteolíticas, especialmente, a plasmina e seu precursor inativo o plasminogênio. Além dessas, outras enzimas originadas das células somáticas e dos leucócitos contribuem para a atividade proteolítica no leite. Neste sentido, CONSIDINE et al. (2004) estudaram a Catepsina-G que é uma das principais proteases liberadas pelos polimorfonucleares. Os autores verificaram a capacidade da enzima de hidrolisar as  $\alpha_{s1}$  e  $\beta$ -caseínas com produção de peptídeos similares aos liberados pela plasmina, e concluíram que a catepsina-G pode contribuir de maneira significativa para a proteólise que ocorre no leite com alta CCS.

VERDI & BARBANO (1991) observaram no leite com alta CCS a presença de produtos de hidrólise de caseínas, diferentes daqueles produzidos pela plasmina, após sua inativação. Segundo os autores, as proteases envolvidas nessa hidrólise foram fornecidas pelos macrófagos, que apresentaram maior atividade no leite do que no sangue. Assim sendo, observa-se que a atividade proteolítica no leite com alta CCS é particularmente estável. Deve-se ressaltar que a pasteurização do leite com alta CCS não elimina totalmente a atividade proteolítica originária das células somáticas, e que, esta atividade permanece mesmo quando a CCS do leite retorna a um nível baixo, após o tratamento da infecção (MARINO et al., 2005). Conforme exposto, as alterações no leite mastístico poderá cursar com aumento da proteólise e inibição da cultura láctea utilizada na elaboração do queijo mussarela.

### 3.4 CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos e de acordo com as condições de realização do presente experimento, conclui-se que a elevação da CCS está relacionada à diminuição das bactérias ácido lácticas e ao aumento da extensão e da profundidade da proteólise do queijo durante o período de maturação ou armazenamento a 7°C.

### 3.5 REFERÊNCIAS

1. ALBENZIO, M.; CAROPRESE, A. SANTILLO, M. MARINO, L. TAIBI, R.; SEVI A. Effects of Somatic Cell Count and Stage of Lactation on the Plasmina Activity and Cheese-Making Properties of Ewe Milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.87, p.533-542, 2004.
2. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4.ed. Washington, 2001.

3. ANDREATTA, E; OLIVEIRA, C.A.F.; MARQUES, C.M.; FERNANDES, A.M.; SANTOS, M.V.; SANVIDO, G.; GIGANTE, M.L. Avaliação do Rendimento e Proteólise do Queijo Minas Frescal Produzido com Diferentes Níveis de Células Somáticas: Resultados Preliminares. **Brazilian journal of food Technology**, III JIPCA, Campinas/SP, v.especial, n.12, p.71-74, 2006.
4. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of AOAC international. 16. Washington, 1995. v.1-2.
5. AULDIST, M.J.; HUBBLE, I.B. Effects of mastitis on raw milk and dairy products. **The Australian Journal of Dairy Technology**, Victoria, v. 53, n. 1, p. 28-36, 1998.
6. BENTLEY 2000. **Operator's manual**. Chaska, EUA : Bentley Instruments, 2000. p.77.
7. BRASIL. Instrução Normativa Número 51 de 18 de setembro de 2002. Dispõe sobre regulamentos técnicos aplicados ao leite cru e pasteurizado. **Diário Oficial da União**, Brasília, Seção 1, n.83, p.13-22, 20 set. 2002.
8. BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Produtos Lácteos. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 46 de 07 de março de 1996, **Diário Oficial da União**, Brasília, 1996.
9. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Instrução Normativa nº 62, de 26/08/2003. **Diário Oficial da União**, Brasília, seção I, p. 14-51, 18 set. 2003a.
10. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária. Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos. Instrução Normativa nº 22, de

02/05/2003. **Diário Oficial da União**, Brasília, seção I, p. 1-110, 14 de abril. 2003b.

11. BRITO, J.R.F.; DIAS, J.C. **A qualidade do leite**. Juiz de Fora : Embrapa/Tortuga, 1998. 98p.
12. BUENO, V.F.F.; MESQUITA, A.J.; NICOLAU, E.S.; OLIVEIRA, A.N.; OLIVEIRA, J.P.; NEVES, R. BALDUÍNO S; MANSUR, J.R.G.; THOMAZ, L.W. Contagem celular somática: relação com a composição centesimal e estação do ano no Estado de Goiás. **Ciência Rural**, Santa Maria/RS, v.35, n.4, p.848-854, 2005.
13. BYNUM, D.G.; BARBANO, D.M. Whole milk reverse osmosis retentates for Cheddar cheese manufacture: chemical changes during aging. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 68, p.1-10. 1985.
14. CONSIDINE, T.; KELLY, A.L.; HEALY, A.; McSWEENEY, P.L.H. Hydrolysis of bovine caseins by cathepsin B, a cysteine protease indigenous to milk. **International Dairy Journal**, v.14, n.117-124, 2004.
15. COONEY, S.; TIERNAN, D.; JOYCE, P.; KELLY, A.L. Effect of somatic cell count and polymorphonuclear leucocyte content of milk on composition and proteolysis during ripening of Swiss-type-cheese. **Journal of Dairy Research**, London, v. 67, n. 2, p. 301-307, 2000.
16. FOX, P.F.; LAW, J. Enzimology of cheese ripening. **Food Biotechnology**, v. 5, n. 3, p. 239-262. 1991.
17. FURTADO, M. M. **Principais problemas dos queijos: causas e prevenção**, 2. ed. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 2005. 200 p.
18. KALIT, S. HAVRANEK, L.J.; KAPS, M.; PERKO, B.; CUBRIC, C.V. Proteolysis and the optimal ripening time of Tounj cheese. **International Dairy Journal**, v.15, n.6-9, p. 619-624, 2005.

19. KELLY, A.L.; MCSWEENEY, P.L.H. Indigenous proteinases in milk. **Advanced Dairy Chemistry**. v.1, p.494–519, 2002.
20. LE ROUX, Y.; COLIN, O.; LAURENT, F. Proteolysis in samples of quarter milk with varying somatic cell counts. 1. Comparison of some indicators of endogenous proteolysis in milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 78, n. 6, p. 1289-1297, 1995.
21. LE ROUX, Y.; LAURENT, F.; MOUSSAOUI, F. Polymorphonuclear proteolytic activity and milk composition change. **Veterinary Research**, v. 34, n. 5, p.629-645, 2003.
22. MACHADO, P.F.; PEREIRA, A.R.; SARRÍES, G.A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 6, p.1883-1886, 2000.
23. MARINO, R.; CONSIDINE, T.; SEVI, A.; MCSWEENEY, P.L.H.; KELLY, A.L. Contribution of proteolytic activity associated with somatic cells in milk to cheese ripening. **International Dairy Journal**, v.n., p., 2005.
24. MAZAL, G.; VIANNA, P.C.B.; SANTOS, M.V.; GIGANTE, M.L. Effect of Somatic Cell Count on Prato Cheese Composition, **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.90, p.630-636, 2007.
25. O'BRIEN, B., MEANEY, W.J.; MCDONAGH, D.; KELLY, A. Influence of somatic cell count and storage interval on composition and processing characteristics of milk from cows in late lactation. **Australian Journal Dairy Technology**, v.56, p.213-218, 2001.
26. PARK, Y. Proteolysis and Lipolysis of Goat Milk Cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.84, p. 84-92, 2001.

27. PEREIRA, A.R.; Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite I – gordura e proteína. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.36, n.3, p.429-433, 1999.
28. REVILLA, I.; RODRIGUES, J.M.; QUINTANA, A.M.V. Proteolysis and texture of hard ewes' milk cheese during ripening as affected by somatic cell counts. **Journal of Dairy Research**, London, May; v.74, n.2, p.127-36, 2007.
29. RYSANEK, D.; BABAK, V.; ZOUHAROVA, M. Bulk tank milk somatic cell count and sources of raw milk contamination with mastitis pathogens. **Veterinarni Medicina**, v.52, n.6, p. 223–230, 2007.
30. SANTOS, M.V.; CAPLANZ, M.Y.; BARBANO, D.M. Effect of Somatic Cell Count on Proteolysis and Lipolysis in Pasteurized Fluid Milk During Shelf-Life Storage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.90, n.8, p.2491-2503, 2003a.
31. SANTOS, M.V.; CAPLANZ, M.Y.; BARBANO, D.M. Sensory Threshold of Off-Flavors Caused by Proteolysis and Lipolysis in Milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.86, p. 1601-1607, 2003b.
32. SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. **Estratégias para o controle da mastite e melhoria da qualidade do leite**. 1ª edição, Editora Manole: Barueri, SP. 2007, 314p.
33. VERDI, R.J.; BARBANO, D.M. Effect of coagulants, somatic cell enzymes, and extracellular bacterial enzymes on plasminogen activation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 3, p. 772-782, 1991.

## **CAPÍTULO 4- CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O processo patológico da mastite causa diversas alterações na composição do leite, incluindo a diminuição da concentração de caseína como porcentagem da proteína total, alterações na concentração de minerais e aumento da atividade proteolítica e lipolítica no leite. Essas mudanças causam grande impacto a indústria de laticínios, pois esses fatores, isoladas ou em conjunto, afetam a qualidade e o rendimento industrial nos processos de beneficiamento ou processamento do leite.

Diante do exposto, e como apontado no presente trabalho a mastite sub-clínica e, conseqüente, aumento das células somáticas, correlaciona-se positivamente à diminuição do rendimento e do teor protéico, e ao aumento da umidade e do grau de proteólise do queijo mussarela, além da maior perda de gordura e caseína do leite para o soro durante o processo de coagulação. Isto posto, pode-se afirmar que o aumento da contagem de células somáticas no leite afeta o rendimento e a qualidade desse queijo de massa filada durante o período de armazenamento ou maturação a 7°C.

Ressalta-se ainda que são poucos os trabalhos realizados considerando a quantificação de perdas no processamento de queijos em decorrência da mastite sub-clínica e, geralmente, são realizados com queijos produzidos em outros países, portanto não aplicáveis à realidade brasileira. Nesse sentido, cabe realizar pesquisas que visem informar a cadeia láctea sobre os prejuízos causados pela mastite sub-clínica, pois, quando estes são apontados de maneira acurada, podem provocar alterações em sua estrutura podendo levar à adoção de estratégias de produção que viabilizem a competitividade do setor.

Assim sendo, a consolidação da indústria de leite no Brasil depende da expansão do mercado. Isso somente será possível com a oferta contínua de produtos seguros e de qualidade, a preços competitivos com as expectativas de cada nicho de mercado e competitivos em relação a outros derivados. Os componentes do setor produtivo devem ter consciência de que é necessário ajustar a sua percepção de qualidade às aspirações do consumidor, que muitas vezes são muito

mais complexas do que podem antecipar. Assim, produtores e indústria devem se organizar para melhor desempenharem suas funções em todo o processo produtivo, sempre com o foco voltado para superar as expectativas do consumidor.