

Alana Paula Amaral Faria

Influência do leite com elevada contagem de células somáticas sobre características físico-químicas e processo de fermentação de iogurte

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Produção Animal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Área de Concentração: Produção Animal

Linha de Pesquisa: Qualidade de alimentos de origem animal

Orientadora: DSc. Cláudia Freire de Andrade Morais Penna

Co-orientador: DSc. Maximiliano Soares Pinto

Montes Claros

2016

Alana Paula Amaral Faria

Influência do leite com elevada contagem de células somáticas sobre as características físico-químicas e processo de fermentação de iogurte

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Produção Animal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Área de Concentração: Produção Animal

Linha de Pesquisa: Qualidade de Alimentos de Origem Animal

Orientadora: DSc. Cláudia Freire de Andrade Morais Penna

Aprovado pela banca examinadora constituída pelos professores:

Prof. DSc. Marcelo Resende de Souza
(Escola de Veterinária/UFMG)

Profa. DSc. Leticia Ferrari Crocomo
(Instituto de Ciências Agrárias/UFMG)

Prof. DSc. Maximiliano Soares Pinto
(Instituto de Ciências Agrárias/UFMG)

Prof^a. DSc Cláudia Freire de Andrade Morais Penna
Orientadora (ICA/UFMG)

Montes Claros, 20 de maio de 2016

F224i Faria, Alana Paula Amaral.
2016

Influência do leite com elevada contagem de células somáticas sobre características físico-químicas e processo de fermentação de iogurte / Alana Paula Amaral Faria. Montes Claros, MG: Instituto de Ciências Agrárias / UFMG, 2016.

41 f.: il.

Dissertação (Mestrado) – Área de concentração em Produção Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, 2016.

Orientadora: Prof.^a Cláudia Freire de Andrade Morais Penna.

Banca examinadora: Marcelo Resende de Souza, Letícia Ferrari Crocomo, Maximiliano Soares Pinto, Cláudia Freire de Andrade Morais Penna.

Referências: f: 22-26; 38-41.

1. Contagem de células somáticas. 2. Iogurte. I. Penna, Cláudia Freire de Andrade Morais. II. Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais. III. Título.

CDU: 664

*Dedico a Deus por estar sempre
comigo, aos meus pais Janete e Paulo, aos
meus irmãos e a toda minha família, pelo
apoio e amor infinito.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que com sua infinita bondade, misericórdia e amor me permitiu alcançar mais essa vitória. Me ensinado que há um momento certo para todas as coisas.

Aos meus pais Janete e Paulo pelo amor, dedicação e apoio incondicional em todos os momentos da minha vida, sempre me fortalecendo.

Aos meus irmãos por toda paciência e companheirismo.

A toda minha família pelo carinho e torcida e por sempre acreditarem na minha capacidade.

Ao meu namorado por todo amor e amizade.

A Max, meu co-orientador e pessoa fundamental para que eu chegasse até aqui, obrigada por todas as oportunidades, atenção, disponibilidade, dedicação e compromisso.

À minha orientadora professora Cláudia Freire, pela seriedade, confiança, atenção e orientações fundamentais.

Aos meus ex-colegas de Zootecnia e amigos para toda a vida, que mesmo distantes, estão sempre vibrando com as vitórias uns dos outros.

Aos colegas do mestrado que estiveram presentes nessa caminhada.

Aos professores do ICA por todo conhecimento compartilhado, ampliando nossos conhecimentos.

Aos funcionários do ICA pela boa vontade em sempre nos atender e ajudar.

Ao Instituto de Ciências Agrárias da UFMG e a Pós-Graduação em Produção Animal por contribuírem na minha formação.

Aos professores Marcelo e Letícia pela disponibilidade em participar da banca examinadora.

A todos que contribuíram para que fosse possível a realização desse experimento.

E a todos que torceram pela minha vitória.

MUITO OBRIGADA!

“Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende.”

(Leonardo da Vinci)

RESUMO

Objetivou-se com este trabalho avaliar o perfil de fermentação e características de acidez, pH e sinérese de iogurtes elaborados com leite contendo elevada e baixa contagem de células somáticas (CCS). Amostras de leite cru foram coletadas durante seis dias distintos, para elaboração dos iogurtes. Nelas foram determinadas teores percentuais de gordura, lactose, proteína, sólidos totais extrato seco desengordurado (ESD), CCS e contagem bacteriana total (CBT). Durante a fermentação, verificaram-se o pH e acidez expressa em ácido láctico nas amostras. No iogurte, foram realizadas medidas de pH, acidez expressa em ácido láctico e sinérese. O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados (DBC), com seis repetições e em parcelas subdivididas, tendo nas parcelas os tratamentos (1- iogurte tradicional, elaborado com leite contendo até 250.000 CS/mL; 2 - iogurte adicionado de sólidos lácteos, elaborado com leite contendo até 250.000 CS/mL; 3- iogurte tradicional, elaborado com leite contendo mais de 250.000 CS/mL e 4- iogurte adicionado de sólidos lácteos, elaborado com leite contendo mais de 250.000 CS/mL) e nas subparcelas os tempos de fermentação e armazenamento dos iogurtes. Os dados da caracterização da fermentação e do iogurte foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e análise de regressão, ao nível de 5% de probabilidade, os dados da composição do leite foram avaliados pela ANOVA e correlação. Os resultados obtidos demonstraram que a CCS alterou a gordura e lactose do leite ($p < 0,05$), entretanto não houve influência do leite com elevada CCS sobre a fermentação da cultura láctica e acidez, pH e sinérese dos iogurtes, sugerindo menor efeito dessa variável sobre a qualidade dos mesmos.

Palavras-chave: contagem de células somáticas, qualidade do leite, fermentação, iogurte enriquecido com sólidos.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate characteristics of yogurts made with high and low Somatic Cell Count (CCS) milk. Raw milk samples were collected on six different days and were submitted to electronic analyzes of protein, fat, lactose, total solids, CCS and total bacterial count (CBT). The fermentation process was monitored through pH and acidity expressed as lactic acid. The yoghurts were analyzed for pH, acidity expressed in lactic acid, and syneresis of the final product, at different storage times. The experiment was conducted in a randomized block design (DBC), with six replications and split plot, with the plots treatments (1 - yogurt, up to 250.000 CS / mL; 2- enriched with solids yogurt, up to 250.000 CS / mL; 3- yoghurt, more than 250.000 CS / mL and 4-enriched with solids yogurt, more than 250.000 CS / mL) and subplots fermentation times and storage periods for yoghurts. The data were submitted to analysis of variance (ANOVA) and regression analysis according to the times of measures on fermentation profile and yoghurts storage time. Parameters of milk composition were still submitted to correlation index. The results showed effects of CCS levels on some milk parameters ($p < 0,05$). However, no effects were observed on fermentation profile and characteristics of yoghurts along the storage.

Key words: somatic cell count, milk, fermentation, yoghurt.

SUMÁRIO

1	Introdução geral	9
2	Objetivos	10
2.1	Objetivo geral.....	10
2.2	Objetivos específicos.....	10
3	Revisão de literatura	11
3.1	Cadeia produtiva do leite no Brasil.....	11
3.2	Leites fermentados.....	11
3.2.1	Consumo de leite fermentados.....	11
3.2.2	Legislação.....	12
3.2.3	Iogurte.....	12
3.2.4	Processo de fermentação na produção e pós-acidificação dos iogurtes.....	12
3.3	Contagem de células somáticas.....	15
3.4	California Mastitis Test.....	16
3.5	Alterações na composição do leite provocadas pela CCS.....	17
3.5.1	Gordura.....	18
3.5.2	Proteína.....	18
3.5.3	Lactose.....	18
3.5.4	Sólidos totais e extrato seco desengordurado.....	19
3.5.5	Minerais.....	19
3.7	Prejuízos para a indústria de laticínios causados por CCS elevada	19
3.8	Referências.....	22
4	ARTIGO – Influência do leite com elevada contagem de células somáticas sobre características físico-químicas e processo de fermentação de iogurte	27
5	Referências.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Requisitos de CCS avaliados pela Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite.....	16
Tabela 2 -	Relação entre CMT e CCS no leite.....	17
Tabela 3 -	Efeito do leite com altas CCS sobre os produtos lácteos.....	20
Tabela 4 -	Resultados médios das análises físico-químicas, CCS e CBT do leite com elevada e baixa CCS.....	32

1 INTRODUÇÃO GERAL

A crescente procura por produtos diferenciados e de qualidade tem se intensificado por parte dos consumidores, que buscam por produtos saudáveis tendo a segurança alimentar como um requisito obrigatório. O leite é muito consumido por ser um alimento saboroso e rico em nutrientes. Diversos fatores interferem na qualidade do leite e estão presentes desde a etapa de produção até a comercialização. Fatores associados ao manejo, à sanidade, à alimentação, ao potencial genético, à ordenha e ao armazenamento influenciam diretamente a composição e qualidade microbiológica do leite afetando o seu valor nutricional.

Devido a grande exigência e necessidade de qualidade do leite pelo consumidor e pela indústria de laticínios, é importante estimar os fatores que podem interferir na quantidade e qualidade do leite produzido, pois, assim, haverá um maior apoio à permanência dos produtores leiteiros e das indústrias no mercado, em função da qualidade dos produtos fabricados.

Um dos principais produtos lácteos existentes no mercado brasileiro é o iogurte, com grande aceitação pela população. O seu consumo está associado a uma imagem de alimento saudável e nutritivo. A qualidade dos iogurtes disponibilizados no mercado relaciona-se diretamente com as características da matéria-prima entregue nas indústrias de processamento. Portanto, a qualidade do leite encaminhado às indústrias é essencial para o processamento dos produtos, sendo essa qualidade determinada pelas condições de saúde dos animais ordenhados e pela manutenção das características próprias do leite durante o armazenamento e transporte.

A determinação da CCS no leite é de extrema importância, pois é uma ferramenta utilizada por indústrias e produtores para monitorar a saúde da glândula mamária e, conseqüentemente, a qualidade do leite, sendo responsável por perdas econômicas nas indústrias lácteas (SANTOS; FONSECA, 2007).

Com a elevação da CCS ocorrem alterações na composição do leite que são suficientes para reduzir a qualidade dos produtos derivados, diminuindo o rendimento e a vida de prateleira desses produtos, além de prejudicar tanto os produtores que perdem no volume de leite produzido e no valor pago pelo leite, quanto à indústria que deixa de receber matéria-prima de qualidade. Considerando que existem poucos dados na literatura com relação aos efeitos da CCS sobre a qualidade do iogurte, avaliar a influência do leite com elevada CCS na elaboração dos iogurtes é importante para compreender os efeitos que a CCS exerce sobre as características físico-químicas e processo de fermentação durante a produção desse derivado lácteo.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar a influência do emprego de leite com elevada CCS sobre o tempo de fermentação, crescimento da cultura lática e características físico-químicas de iogurte tradicional e de iogurte adicionado de sólidos.

2.2 Objetivos Específicos

2.2.1 Investigar a sinérese do iogurte durante 30 dias de armazenamento.

2.2.2 Investigar a acidificação durante a fermentação e pós-acidificação do iogurte durante 30 dias de armazenamento sobre refrigeração a 8°C.

2.2.3 Investigar o comportamento do pH do iogurte desde a fermentação até 30 dias de armazenamento sobre refrigeração a 8°C.

2.2.4 Analisar as correlações existentes entre a CCS e os parâmetros de qualidade físico-química dos iogurtes.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Cadeia produtiva do leite no Brasil

A pecuária leiteira é uma atividade difundida em todo o mundo e ocupa espaço de destaque na economia mundial. Devido a sua importância social e econômica, esse sistema agroindustrial é um dos mais expressivos no Brasil (VILELA *et al.*, 2002). Segundo o IBGE (2014) o Brasil se destacou como o 5º maior produtor mundial de leite, sendo que, a cada ano, a produção nacional de leite ganhava mais espaço no cenário do agronegócio. A produção brasileira de leite foi de 35,2 bilhões de litros em 2014 (ZOCCAL, 2015).

Acompanhar a evolução da produção do leite é de fundamental importância, pois esta se constitui em uma variável de grande influência no preço do leite e derivados, e que, conseqüentemente, afeta também o lucro na atividade leiteira (EMBRAPA, 2012).

A qualidade do leite que chega aos laticínios é avaliada pela CCS, CBT e composição físico-química. Altos índices de CCS causam inúmeros prejuízos às indústrias de laticínios por afetarem de forma direta a composição do leite e, conseqüentemente, diminuir a vida de prateleira do leite e seus derivados (SILVA *et al.*, 2010).

Com a intenção de melhorar a qualidade do leite nacional tornando-o mais seguro ao consumidor e aproximar os padrões nacionais dos internacionais, em dezembro de 2011, por meio da Instrução Normativa 62, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, introduziu novos parâmetros de regulamentação para a comercialização do leite cru refrigerado, que determina os teores mínimos de gordura de 3,0%, proteína bruta de 2,9%, sólidos desengordurados de 8,4%, contagem de células somáticas (CCS) de 5×10^5 CS/mL e contagem bacteriana total (CBT) de 3×10^5 UFC/mL (BRASIL, 2011).

3.2 LEITES FERMENTADOS

3.2.1 Consumo de leites fermentados

Os alimentos fermentados consistem em importantes componentes da dieta, devido suas características nutricionais, propriedades profiláticas e terapêuticas (Rossi *et al.*, 2003).

O alto consumo de produtos lácteos é reconhecidamente benéfico para saúde. Devido ao efeito benéfico atribuído, em partes, às bactérias ácido-láticas (ALVES *et al.*, 2008), como também às bactérias probióticas, tais como amostras de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, essas têm sido incorporadas à leites fermentados a fim de conferir a esses produtos qualidade de alimento funcional (SAAD, 2006).

Produtos lácteos, especialmente leites fermentados, obtiveram grande aumento de produção e comercialização em todo o mundo, devido a maior aceitação pelo consumidor (SOARES, 2012). A demanda por produtos lácteos no Brasil cresceu a uma taxa anual de 3% ao longo da última década. Cada brasileiro consome, em média, 170 litros de leite por ano.

Esse incremento no consumo foi favorecido, principalmente, pelo aumento da renda da população e, também, pela diversificação do portfólio de produtos derivados do leite, ou seja, cresceu a demanda por produtos de maior valor agregado, o que é favorável para o setor de laticínios (EMBRAPA, 2013).

3.2.2 Legislação

De acordo com a legislação brasileira de produtos lácteos, entende-se por leites fermentados os produtos adicionados ou não de outras substâncias alimentícias, obtidos por coagulação e diminuição do pH do leite, ou leite reconstituído, adicionado ou não de outros produtos lácteos, por fermentação láctica mediante ação de cultivos de microrganismos específicos. Esses microrganismos específicos devem ser viáveis, ativos e abundantes no produto final durante o prazo de validade (BRASIL, 2007).

Em geral, os leites fermentados podem ser classificados em diferentes tipos, a depender da faixa de temperatura de fermentação, mesófila (20°C a 30°C) ou termófila (37°C a 45°C), sendo esta última a faixa na qual ocorre a produção de iogurte (WALSTRA *et al.*, 2006).

Os ingredientes obrigatórios para a produção de leites fermentados são o leite e/ou leite reconstituído padronizado em seu conteúdo de gordura e o cultivo de bactérias lácticas específicas ou não, dentre as quais podem ser utilizadas: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus thermophilus* (BRASIL, 2007).

Os leites fermentados são produzidos em condições controladas com culturas iniciadoras específicas. As razões para fermentar o leite são diversas e a principal função é de aumentar a vida de prateleira, ou prazo de validade, além de outras funções como: melhorar a textura do leite, reforçar a digestibilidade do produto e permitir a produção de outros produtos, como iogurte e queijos (TAMIME, 2006).

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados inclui na categoria de leites fermentados os seguintes produtos: o iogurte, o leite fermentado ou cultivado, o leite acidófilo ou acidofilado, o kefir, o kumys e a coalhada (BRASIL, 2007).

3.2.3 Iogurte

O iogurte apresenta uma das melhores margens de rentabilidade para a indústria, por ser um derivado que não passa por processo de concentração, ou seja, começa e termina com o mesmo volume de matéria-prima ou até um pouco mais, já que alguns ingredientes como polpas de frutas são acrescentados (SANTOS, 1998).

Eleito como o alimento da década, em 2013, o mercado mundial de iogurte foi de € 62,3 bilhões, em 2014 saltou para € 65,1 bilhões e, para 2018, a projeção é chegar a € 77,6 bilhões. A produção de iogurtes no Brasil vem crescendo significativamente, em média, são produzidos 400 mil toneladas por ano, 76% do total de produtos lácteos produzidos no país. Mas esse mercado ainda tem muito para crescer. De acordo com estudo holandês sobre a evolução da

produção dos produtos lácteos, o mercado de iogurtes vai continuar a crescer até 2018. Segundo o estudo, os consumidores estão cada vez mais orientados para um bom compromisso entre preço e qualidade e para as questões de saúde e segurança alimentar, o que os leva a dar preferência aos iogurtes (MINTEL, 2015).

O iogurte é definido como produto resultante da fermentação do leite pasteurizado ou esterilizado, cuja fermentação se realiza com cultivos protosimbióticos de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, aos quais podem-se acompanhar, de forma complementar, outras bactérias ácido-lácticas que, por sua atividade contribuem para a determinação das características do produto final. O produto deve conter no mínimo 2,9g/100g de proteínas lácteas e de 0,6 a 1,5g/100g de ácido láctico (BRASIL, 2007).

O iogurte pode apresentar variação de composição, sabor, aroma e textura em função da natureza dos microrganismos, do tipo de leite e do processo de fermentação empregado para a sua fabricação (DEETH; TAMIME, 1981).

Há várias formas de classificar o iogurte: pelo processo de elaboração; adição de ingredientes, composição, consistência e textura (TOLEDO, 2013). São eles, iogurte firme: produto em que o processo de fermentação ocorre dentro da própria embalagem, não sofre homogeneização e o resultado é um produto firme, mais ou menos consistente; iogurte batido: produto em que o processo de fermentação ocorre em fermentadeiras ou incubadoras com posterior quebra do coágulo; iogurte líquido: produto cujo processo de fermentação é realizado em tanques; sendo comercializado em embalagens plásticas tipo garrafa (BRANDÃO, 1987).

O iogurte também pode ser classificado com base na sua viscosidade, podendo ser de baixa viscosidade (que escorre facilmente do copo); alta viscosidade (escorre com dificuldade do copo) e gelificado (que não escorre do copo) (BONATO *et al.*, 2006).

Quanto ao aroma e sabor, o iogurte pode ser classificado como natural quando apresenta sabor ácido acentuado e é elaborado apenas com leite, leite em pó e microrganismos; e como aromatizado, quando é adicionado de essências, corantes, açúcar e/ou agentes adoçantes e de frutas, adicionado de polpa ou frutas em pedaços, ou geleias de frutas (THOMPSON *et al.*, 2007)

De acordo com o teor de gordura, o iogurte pode ser classificado em iogurte com creme, tendo gordura mínima de 6g/100g; iogurte integral, com gordura mínima de 3g/100g; iogurte parcialmente desnatado, com gordura máxima de 2,9g/100g; e iogurte desnatado, com gordura máxima de 0,5g/100g (BRASIL, 2007).

3.2.4 Processo de fermentação na produção e na pós-acidificação dos iogurtes

A fermentação é um dos métodos clássicos para preservação de alimentos. O leite pode ser fermentado por ação de bactérias, leveduras e fungos filamentosos para produzir vários produtos, tais como, queijo, manteiga e iogurte. Os produtos fermentados são produtos com

valor agregado devido a seus processos tecnológicos e qualidade diferenciada do produto final (MOREIRA *et al.*, 2001).

A fermentação do leite resulta em vários tipos de produtos, todos com vida de prateleira mais extensa do que o leite fresco. Além de aumentar a vida útil do leite *in natura*, o processo fermentativo torna o produto mais seguro e nutritivo (MADUREIRA *et al.*, 2005).

O leite utilizado no processo de fermentação deve apresentar boa procedência e qualidade, livre de microrganismos ou resíduos tóxicos, garantir a segurança alimentar do produto, mantendo o padrão de qualidade estabelecido pela legislação em vigor no país que o produz e comercializa. Por mais avançada que seja a tecnologia empregada no processamento do leite fermentado, nunca se conseguirá fabricar um produto de boa qualidade a partir de matéria-prima deficiente. Vários defeitos de fabricação podem ocorrer devido à contaminação do leite, por exemplo, a coagulação incompleta, sabor amargo ou de ranço (MARTINS *et al.*, 2014)

Para o desenvolvimento do processo de fermentação do leite, as culturas devem ser resistentes, apresentar poder acidificante, capacidade de desenvolvimento em simbiose e de produzirem substâncias responsáveis pela viscosidade, sabor e aroma do iogurte (TAMIME; DEETH, 1980).

Durante o processo de fermentação ocorre a produção de ácido láctico como produto principal e a produção de pequenas quantidades de outros compostos que influenciam profundamente nas características organolépticas do iogurte. A fermentação láctica beneficia o valor nutricional do produto final (TAMIME; ROBINSON, 1991).

Segundo Silva *et al.* (2010), as bactérias do iogurte, *S. termophilus* e *L. bulgaricus*, crescem simbioticamente, produzindo ácido láctico e compostos aromáticos, formando um coágulo. No início da fermentação, a acidez do leite (menor que 20° D) favorece o crescimento de *S. termophilus*, estimulado por alguns aminoácidos livres (especialmente a valina) produzidos por *L. bulgaricus*, o que provoca um aumento da acidez. Nesta fase, *S. termophilus* libera ácido fórmico estimulante do desenvolvimento de *L. bulgaricus*. Quando se atinge aproximadamente 46° D, o meio torna-se pouco propício ao *S. termophilus*, favorecendo, assim, um maior e mais rápido desenvolvimento de *L. bulgaricus*, com produção de acetaldeído, sendo este o principal responsável pelo aroma característico do iogurte. Com o aumento da acidez, o pH aproxima-se de 4,6, ponto isoelétrico da proteína do leite, e tem-se a coagulação. No final da fermentação, a proporção numérica entre as duas espécies de microrganismos deve ser similar. Quando a acidez se encontra entre 85°D e 90°D, faz-se a diversificação na técnica de fabricação, dependendo do tipo de iogurte que se quer obter, natural ou batido.

Durante o armazenamento do iogurte, observam-se alterações na sua qualidade. A atividade metabólica das bactérias lácticas do iogurte é reduzida durante o resfriamento. No entanto, o produto final pode sofrer a pós-acidificação que é o decréscimo do pH durante o armazenamento refrigerado devido à atividade metabólica persistente da bactéria láctica. A pós-acidificação é mais intensa nos primeiros sete dias de fabricação do iogurte devido ao

consumo de lactose, produção de ácido láctico e a alta atividade metabólica da bactéria a pH mais elevados (BEAL *et al.*, 1999).

L. bulgaricus é o principal responsável pela pós-acidificação dos iogurtes, a excessiva pós-acidificação ocorre, principalmente, devido ao crescimento de *L. bulgaricus* nas temperaturas de refrigeração e aos baixos valores de pH. A pós-acidificação pode ser prevenida por do controle do pH, da aplicação de choque térmico (58°C/5 minutos) no iogurte, da aplicação de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e da utilização de culturas que possuam um comportamento reduzido de pós-acidificação como a cultura probiótica composta por *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* juntamente com *S. thermophilus*. (DAMIN *et al.*, 2009). Além disso, a diminuição da temperatura de armazenamento (< 4°C) e o aumento da capacidade tamponante do iogurte obtido por adição de concentrado protéico de soro também previne a pós-acidificação do iogurte (LOURENS-HATTING; VILJOEN, 2001).

A intensidade da pós-acidificação em iogurtes depende da capacidade de acidificação das culturas, da etapa de fermentação nos tanques, do resfriamento, da temperatura de armazenamento e do valor inicial do pH. A pós-acidificação intensa pode afetar a viabilidade das bactérias lácticas (SHAH; RAVULA, 2000).

3.3 Contagem de células somáticas (CCS)

As células somáticas são, normalmente, células de defesa do organismo que migram do sangue para o interior da glândula mamária com o objetivo de combater agentes agressores, mas podem ser também células epiteliais descamadas. Em uma glândula mamária infectada, as células de defesa representam entre 98 a 99% do total de células encontradas no leite. A ocorrência de uma infecção na glândula mamária provoca a liberação de substâncias químicas devido à ação de agentes patogênicos e da destruição do tecido secretor, o que induz a passagem de células brancas do sangue para o interior da glândula (MACHADO *et al.*, 2000). Os neutrófilos predominam na glândula mamária infectada. Os linfócitos representam de 20 a 40% do total de células e o restante corresponde a macrófagos e células epiteliais descamadas, portanto representam a saúde da glândula mamária (RODRIGUES, 2006).

A CCS é uma ferramenta importante para avaliar o nível de mastite subclínica no rebanho e estabelecer medidas para sua prevenção e controle (MÜLLER, 2002). É usada para estimar perdas quantitativas e qualitativas da produção de leite e derivados. Além de ser utilizada em todo o mundo como um parâmetro fundamental para monitorar a qualidade do leite e a saúde da glândula mamária (SANTOS, 2004).

O principal fator que causa elevação na CCS é a infecção da glândula mamária, essa contagem pode ser de um único quarto, do leite total de uma vaca, de uma única propriedade ou do leite de conjunto, de vários rebanhos (ABREU, 1999).

Os patógenos mais encontrados relacionados com a infecção mamária são classificados em microrganismos contagiosos, cuja transmissão se dá por meio do contato entre os animais e/ou contato com equipamentos de ordenha contaminados e operadores, e cujos agentes

etiológicos principais pertencem às espécies *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium bovis* e *Mycoplasma* spp, que são microrganismos contagiosos e o principal reservatório é o próprio animal. E os microrganismos ambientais que são transmitidos pelo ambiente com os quais os animais entram em contato, tais como locais de ordenha, meio-ambiente e repouso, causada principalmente por bactérias do grupo dos coliformes e das espécies *Streptococcus dysgalactiae*, *S. uberis*, *S. faecalis*, dentre outras. Existem ainda, agentes que são classificados como oportunistas e outros. Os microrganismos classificados como outros apresentam menor incidência e provocam uma leve elevação na CCS (NICKERSON, 2011).

Segundo a Instrução Normativa 62, de 29 de dezembro de 2011, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2011), os padrões de CCS máxima estabelecidos para o leite, ao longo de um período de tempo encontram-se na tabela 1.

Tabela 1- Requisitos de CCS avaliados pela Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite:

REGIÕES	A PARTIR DE:			
Sul, Sudeste e Centro-oeste	Julho/2008	Janeiro/2011	Julho/2014	Julho/2018
Norte e Nordeste	Julho/2010	Janeiro/2013	Julho/2015	Julho/2019
CCS (x1000 CS/mL)	750	600	500	400

Fonte: BRASIL (2011) e BRASIL (2016).

O leite produzido por uma glândula mamária bovina saudável contém CCS inferior a 50.000 células/mL de leite (Andrews *et al.*, 2008). Em vacas com infecção subclínica, a CCS, geralmente, é menor que 200.000 células/mL, enquanto vacas com mais de 300.000 células/mL tem grande probabilidade de estarem infectadas (AKERS; NICKERSON, 2011). Para a triagem do leite de tanque, Tripaldi *et al.* (2003) sugeriram um parâmetro de limite igual a 200.000 células/mL.

3.4 “California Mastitis Test” (CMT)

O CMT é um teste indicado para monitorar animais, podendo ser utilizado a campo (FAGLIARI, 1983). Este teste foi desenvolvido por Schalm; Noorlander (1957) e constitui-se num método indireto de avaliação da quantidade de células somáticas no leite, podendo ser feito ao pé da vaca para detectar a mastite. O CMT deve ser conduzido antes da ordenha, mas depois da estimulação da vaca e da eliminação dos primeiros jatos de leite.

O reagente utilizado no CMT é um detergente com indicador de pH, que ao ser misturado ao leite em partes iguais, dissolve as paredes celulares e nucleares dos leucócitos presentes, liberando o material nuclear, correspondente à quantidade de células existentes. O resultado do teste é avaliado em função do grau de gelatinização ou viscosidade da mistura do

leite e reagente, sendo realizado em bandeja apropriada (AIRES, 2010). A intensidade da reação pode ser classificada com cinco escores: negativo, traço (suspeito), positivo 1+, 2+, 3+ (BLOOD e RADOSTITIS, 1991). A tabela 2 relaciona os resultados do CMT com a CCS.

Tabela 2 – Relação entre CMT e CCS no leite

Escore do CMT	Viscosidade	Contagem de Células Somáticas (Aproximadas)
Negativo	Ausente	0 - 200.000
Traço	Leve	150.000 - 500.000
+	Leve/moderada	400.000 - 1.000.000
++	Moderada	800.000 – 5.000.000
+++	Intensa	> 5.000.000

Fonte: Adaptado de REBHUN, 2000 e FONSECA; SANTOS, 2000.

De acordo com Blowey; Edmondson (1999), o CMT possui como principais vantagens o baixo custo, a possibilidade de ser realizado pelo ordenhador durante a ordenha, a rapidez de interpretação dos resultados e indicação do nível de infecção de cada quarto mamário. No entanto, a técnica apresenta como desvantagem o fato da CCS ser estimada de forma subjetiva, exigindo do operador, discernimento na leitura e interpretação dos resultados (BRITO; BRITO, 2002).

A “raquete” do CMT é colocada sob o úbere e alguns jatos de leite de cada um dos quatro quartos são despejados nos respectivos coletores. O excedente é descartado inclinando-se a raquete e uma quantidade igual do reagente do CMT é acrescentada e a reação é observada após homogeneização. O CMT é valioso para a detecção das infecções subclínicas que podem, de outra forma, continuar não sendo detectadas até que um estágio mais avançado ou clínico da doença seja atingido (PHILPOT; NICKERSON, 2002).

3.5 Alterações na composição do leite provocadas pela CCS

A análise da composição do leite é utilizada como uma ferramenta importante para a garantia de qualidade e para o desenvolvimento dos produtos lácteos. Alterações na composição do leite podem ser suficientes para reduzir o rendimento dos produtos lácteos e a vida de prateleira dos derivados (FERRÃO, 2002).

As mudanças que ocorrem com o aumento da CCS promovem alterações na composição do leite. De acordo com Santos (2002), seu aumento está associado com mudanças nas concentrações dos principais componentes do leite (proteína, gordura, lactose e sólidos totais).

A produção de leite é reduzida devido à lesão no epitélio secretor decorrente da ação dos microrganismos, causando redução na síntese dos componentes do leite e aumento da permeabilidade vascular, aumentando assim, a passagem de substâncias do sangue para o

leite e a ação de enzimas originárias das células somáticas e dos microrganismos presentes no leite (MARECHAL *et al.*, 2011).

3.5.1 Gordura

Os lipídeos presentes no leite são compostos de triglicerídeos, diglicerídeos, monoglicerídeos, ácidos graxos, fosfolipídios, esteróis e traços de vitaminas lipossolúveis (FERNANDES, 2003).

A relação entre a CCS e a gordura do leite tem apresentado resultados variáveis, porque com a inflamação da glândula mamária há menor síntese de gordura pela glândula mamária, mas também ocorre redução na produção de leite, associada às altas CCS, ocasionando assim um aumento nas concentrações da gordura (SANTOS; FONSECA, 2007).

3.5.2 Proteína

A fração nitrogenada do leite é composta pela caseína (α , β e κ), que corresponde a 80% da porção nitrogenada, e pelas proteínas do soro (albuminas e globulinas) (SANTOS, 2002).

A relação entre a proteína total do leite e o aumento da CCS tem apresentado tanto correlação positiva quanto negativa. Isso ocorre porque, quando a CCS se encontra elevada, a composição proteica do leite muda, pois o tecido secretor é afetado e a síntese das proteínas verdadeiras, principalmente da caseína, é reduzida. Porém, ocorre aumento na concentração de proteínas de origem sanguínea e, conseqüentemente, redução de caseína, resultando em alterações mínimas na concentração da proteína total do leite (SANTOS; FONSECA, 2007).

À medida que aumenta a contagem de células somáticas, a quantidade de proteínas originárias do sangue aumenta consideravelmente. A concentração pode variar de 0,2 mg/mL no leite normal até 20 mg/mL, em casos extremos (MATIOLI *et al.*, 2000).

3.5.3 Lactose

A síntese de lactose é comprometida pela inflamação da glândula mamária, reduzindo os seus teores no leite com alta CCS ao ser comparado a um leite com uma CCS normal (<200.000 CS/mL) (PEREIRA *et al.*, 1997).

À medida que os valores de CCS são elevados, verifica-se redução na síntese de lactose que pode ser resultante de distúrbios da glândula mamária, ocorrendo menor biossíntese de constituinte, ou pelo aumento da permeabilidade da membrana que separa o leite do sangue, ocasionando perda de lactose para a corrente sanguínea, ou ainda por ação direta dos patógenos mamários que utilizam esse carboidrato como principal substrato (SANTOS, 2003).

3.5.4 Sólidos Totais e Extrato Seco Desengordurado

Com o aumento da CCS ocorre redução dos teores de sólidos totais e de extrato seco desengordurado afetando no rendimento de produtos desidratados como leite em pó, leite evaporado e leite condensado. Para a elaboração desses produtos a água precisa ser removida, o que demanda um gasto energético que, por sua vez, será maior quanto menor for o teor de sólidos do leite. No caso de leite em pó desnatado, sua produção depende diretamente do extrato seco desengordurado (VIOTTO; CUNHA, 2006).

3.5.5 Minerais

Os minerais do leite também sofrem alterações nas suas concentrações com o aumento da CCS. Devido à passagem do leite para o sangue através do epitélio lesado, o potássio, mineral mais abundante no leite, sofre diminuição. Já o sódio e o cloro apresentam-se mais elevados, uma vez que as concentrações no sangue são normalmente maiores que no leite. O cálcio, normalmente encontra-se reduzido, pois ocorre diminuição da síntese de caseína e a maior parte do cálcio está incorporada nas micelas de caseína. Essas alterações têm grande importância, tanto para o processamento do leite, como para seu valor nutritivo (SANTOS; FONSECA, 2007).

3.6 Prejuízos para indústrias de laticínios causados por CCS elevada

As alterações que a inflamação da glândula e o conseqüente incremento nos níveis de CCS causam nos componentes do leite, afetam os produtos lácteos. Na indústria, ao se misturar o leite de várias origens em grandes tanques de armazenamento para o processamento, o leite final pode apresentar uma composição que não é inteiramente satisfatória (BRITO; BRITO, 1998).

O aumento da CCS está relacionado com a qualidade dos produtos derivados, com destaque para perdas no rendimento industrial de produtos lácteos, mudanças no sabor, odor e redução da vida de prateleira (OLIVEIRA *et al.*, 1999).

A vida de prateleira do leite fluido e dos derivados sofrem alterações devido às ações das enzimas proteolíticas, que na grande maioria são termoestáveis, permanecendo ativas após os processos usuais de pasteurização e esterilização do leite (ABREU *et al.*, 2006).

No leite de baixa qualidade os custos aumentam na produção de produtos lácteos. Durante o processamento há paradas adicionais para limpeza de incrustações nos equipamentos e perda de produto final, além de impossibilitar a fabricação de produtos de maior valor agregado (SOUSA *et al.*, 2007).

De acordo com Brito; Brito (1998), na manteiga, os principais efeitos são observados no sabor, cor, gosto e no tempo de estocagem. A manteiga elaborada com leite com CCS elevada pode deteriorar-se mais rápido durante o período de estocagem. Já os iogurtes são afetados

durante o processo de fabricação em decorrência do impacto negativo dos altos níveis de CCS sobre o crescimento das culturas lácticas (ANDREATTA, 2008).

No leite em pó, a elevada CCS confere sabores estranhos, devido a presença de maiores quantidades de proteínas do soro (SCHAELLIBAUM, 2000). Durante o processamento térmico do leite pasteurizado e leite em pó, ocorre coagulação e floculação, devido a sua menor estabilidade ao calor, reduzindo a estabilidade de produtos obtidos a partir de leite em pó. Prejudicando a qualidade do leite condensado ou evaporado preparado a partir de leite em pó (LE ROUX *et al.*, 2003).

Com o aumento da CCS no leite Ultra High Temperature (UHT) há geleificação e coagulação das proteínas durante a estocagem, devido à atividade residual de proteases bacterianas resistentes ao tratamento térmico (DATTA; DEETH, 2003).

A CCS elevada interfere em muitas propriedades do leite que são importantes para a produção dos queijos, incluindo o tempo de coagulação que é alongado devido a mudanças no pH, menor firmeza do coágulo, obtenção de coalhada menos firme, separação do soro e taxa de desenvolvimento de ácido. Enfim, ocorre uma depreciação da qualidade final do produto (BRITO; BRITO, 1998).

A tabela 3 resume o efeito do leite com altas contagens de células somáticas sobre os produtos lácteos.

Tabela 3- Efeito do leite com altas CCS sobre a qualidade de produtos lácteos

Produto	Alterações
Queijo	- aumento do tempo de coagulação - diminuição da firmeza do coágulo - queda no rendimento
Manteiga	- diminuição do rendimento - aumento da rancificação
Leite condensado/ leite evaporado	- estabilidade ao calor diminuída
Leite fluido	- alteração do sabor na estocagem - redução da vida de prateleira
Produtos fermentados	- inibição do crescimento das culturas lácteas - redução da vida de prateleira - perda na qualidade sensorial
Leite em pó	- gosto de queimado

Fonte: Adaptado de BRITO, 1995 e SANTOS, 2003.

Para o produtor, altas CCS significam menor retorno econômico, em decorrência da redução na produção, dos gastos com medicamentos e também das penalidades aplicadas pelos laticínios (BRITO, 1998).

3.7 REFERÊNCIAS

- ABREU, L. R. **Considerações sobre a qualidade do leite**. In: ENCONTRO DE PECUÁRIA LEITEIRA DO SUL DE MINAS GERAIS, 3., 1999, Lavras, *Anais...* Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999, p. 21-44.
- ABREU, L. R.; PINTO, S. M.; MELO JUNIOR, A. S.; CHALFUN, L. T. F.; REZENDE, E. S. J. **Influência da contagem de células somáticas na gelificação e sedimentação do leite UAT**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2., 2006, Goiânia, *Anais...* Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2006. 3 p.
- AIRES, A. C. P. **Mastites em Bovinos: caracterização etiológica, padrões de sensibilidade e implementação de programas de qualidade do leite em explorações do Entre-Douro e Minho**. Dissertação (Mestrado em Medicina veterinária) – Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2010.
- AKERS, R. M.; NICKERSON, S. Mastitis and its impact on structure and function in the ruminant mammary gland. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v.16, n.4, p.275–289, 2011.
- ALYSSON, E. Na rota dos lácteos. **Indústria de Laticínios** . n.75, p.38-41, 2008.
- ALVES, C. C. O.; RESENDE, J. V.; CRUVINEL, R. S.; PRADO, M. E. T. Estabilidade da microestrutura e do teor de carotenóides de pós-obtidos da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) liofilizada. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v.28, p.830- 839, 2008.
- ANDREATTA, E. Avaliação da qualidade do leite cru utilizado na fabricação de derivados – Revisão. **Intellectus** – Revista Acadêmica Digital do Grupo POLIS Educacional, n. 5, 2008. Disponível em: <<http://www.seufuturonapratica.com.br/intellectus>>. Acesso em: 15 jan. 2016.
- ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. **Medicina bovina: doenças e criação de bovinos**. 2. ed. 2. São Paulo: Roca, 2008. 1080p.
- BEAL, C.; SKOKANOVA, J.; LATRILLE, E.; MARTIN, N.; CORRIEU, G. Combined effects of culture conditions and storage time on acidification and viscosity of stirred yogurt. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 4, p. 673-681, 1999.
- BLOOD, D. C.; RADOSTITS, O. M. **Veterinary medicine**. 7. ed. London: Baillière Tindall, 1991. 501p.
- BLOWEY, R.; EDMONDSON, P. **Control de la mastitis en granjas de vacuno de leche**. Zaragoza: Acribia, 1999. 208p.
- BONATO, E. P.; HELENO, G. J. B.; HOSHINO, N. A. **Leites fermentados e queijos**. Universidade Federal de Santa Catarina, p.6, 2006.
- BRANDÃO, S. C. C. Tecnologia da fabricação de iogurte. **Revista do Instituto de Laticínios Candido Tostes**, v. 42, n. 250, p. 3-8, 1987.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n 46 de 23 de outubro de 2007. Regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 out. 2007. Seção I, p.5.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Estabelece o regulamento fixar os requisitos mínimos que devem ser observados para a produção, a identidade e a qualidade do leite. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 30 dez. 2011. Seção 1, p. 6.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 07, de 03 de maio de 2016. Altera a Instrução Normativa MAPA nº 62 de 2011, que altera o caput, exclui o parágrafo único e insere os §§ 1º ao 3º, todos do art. 1º, da Instrução Normativa MAPA nº 51, de 18 de setembro de 2002. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 04 de maio de 2016. Seção 1.

BRITO, M. A. V. P. **Conceitos básicos da qualidade**. In: BRITO, J. R. F.; DIAS, J. C. Sanidade do gado leiteiro. Coronel Pacheco: Embrapa-CNPGL/ São Paulo: Tortuga, p. 55-62, 1995.

BRITO, J. R.; BRITO, M. A. V. P. **Programas de controle das mastites causadas por microrganismos contagiosos e do ambiente**. Documento n.71. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, p.25, 1998.

BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P. **Prevenção e controle de mastite**. Manual n. 364. Viçosa: Centro de Produções Técnicas, p. 120, 2002.

DAMIN, M. R.; ALCÂNTARA, M. R.; NUNES, A. P.; OLIVEIRA, M. N. Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium caseinate on acidification kinetics, rheological properties and structure of nonfat stirred yogurt. **Food Science of Technology**, v. 42, n. 10, p. 1744-1750, 2009.

DATTA, N.; DEETH, H. C. Diagnosing the cause of proteolysis in UHT milk. **Food Science and Technology**. v. 36, n. 2, p. 173-182. 2003.

DEETH, C. L. I. F.; TAMIME, A. Y. Yogurt: Nutritive and therapeutic aspect. **Journal of Food Protection**, v.44, n. 1, p. 78, 1981.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **O consumo de lácteos cresce 3% ao ano**. Scot consultoria. 2012. Disponível em: <<http://www.scotconsultoria.com.br/imprimir/noticias/31669>>. Acesso em: 12 abr. 2016.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Setor leiteiro – 2013 será um ano de recuperação**. Agroanalysis. 2013. Disponível em: <http://www.agroanalysis.com.br/restrito.php?done=%2Fmateria_detalhe.php%3FidMateria%3D1525>. Acesso em: 05 dez. 2015.

FAGLIARI, J. J. Mastite bovina: comparação entre os resultados obtidos pelo California Mastitis Test. e o exame bacteriológico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Minas Gerais, v.35, n.3, p.310-315, 1983.

FERNANDES. A. M. **Avaliação do iogurte produzido com leite contendo diferentes níveis de células somáticas**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade de São Paulo, Pirassununga- SP, 2003, 99p.

FERRÃO, S. P. B. Influência da contagem de células somáticas na qualidade do leite. Serrana, Boletim Técnico, setembro de 2002. Disponível em: <<http://www.serrana.com.br>>. Acesso em: 14 fev. 2016.

FERREIRA, R. N.; SILVA, A. V.; FERNANDES, P. C. C.; ARAUJO, C. V.; FREITAS, D. R.; PAULINO, R. M.; RIBEIRO, V. C. A. S.; SILVA, W. M.; MACEDO, P. J. R.; OLIVEIRA, E. J. N. Contagem de células somáticas influenciando a composição química do leite nos assentamentos rurais palmares I e II. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2., 2006, Goiânia, *Anais...* Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2006, p.3.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle da mastite**, São Paulo, Lemos Editorial, p.175, 2000.

HARMON, R. J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.77, n.7, p.2103-212, 1994.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/leite_2013_14.pdf. Acesso em: 13 abr. 2016.

KURMAN, Joseph A. **Leites Fermentados**. Tecnologia de Processamento. CEPE/ILCT. 1994, p.2.

LE ROUX, Y.; LAURENT, F.; MOUSSAQUI, F. Polymorphonuclear proteolytic activity and milk composition change. **Veterinary Research**, v.34, n. 5, p. 629-645, 2003.

LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B. Yogurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**, v. 11, n. 1/2, p. 1-17, 2001.

MACHADO, P. F.; PEREIRA, A. R. SARRIES, G. A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa**, v.29, n.6, p.1883-1886, 2000.

MADUREIRA, A. R.; PEREIRA, C. I.; TRUSZKOWAKA, K.; GOMES, A. M.; PINTADO, M. E., MALCATA, A. M. Survival of probiotic bacteria in a whey cheese vector submitted to environmental conditions prevailing in the gastrointestinal tract. **International Dairy Journal**. v. 15, p. 921-927, 2005.

MARÉCHAL, C.L.; THIÉRY, R.; VAUTOR, E.; LOIR, Y.L. Mastitis impact on technological properties of milk and quality of milk products—a review. **Dairy Science Technology**. v.91, p.247–282, 2011.

MARTINS, R. L.; VEIGA-SANTOS, P.; CASTILHO, S. G. **Fermentação divertida: Introdução à ciência através de atividade culinária investigativa**. 1. ed. São Paulo: Unesp, 2014, 47p.

MATIOLI, G. P.; PINTO, S. M.; DE ABREU, L. R.; XAVIER, L.; TEIXEIRA, L. A. M. Influência do leite proveniente de vacas mastísticas no rendimento do queijo minas frescal. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.54, n.313, p. 38-45, 2000.

MINTEL MERCADOS DE ALIMENTOS E BEBIDAS. O saudável mercado dos iogurtes. 2015. Disponível em: http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/797.pdf. Acesso em: 13 abr. 2016.

MOREIRA, S. R.; SCHWAN, R. F.; CARVALHO, E. P.; WHEALS, A. E. Isolation and identification of yeasts and filamentous fungi from yoghurts in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 32, n. 2, p. 117-122, 2001.

MÜLLER, E. E. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. In: Simpósio sobre sustentabilidade da pecuária leiteira na região sul do Brasil, 1., 2002, Maringá, *Anais...* Universidade do Estado de Maringá, Maringá, 2002, p.206-217.

NICKERSON, S. Contagious pathogens. In: FUQUAY, J. W.; FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H. **Encyclopedia of Dairy Science**. 2. ed, Londres: Academic Press, v.3, p. 408-41, 2011.

OLIVEIRA, C. A. F.; FONSECA, L. F. L.; GERMANO, P. M. L. Aspectos relacionados à produção, que influenciam a qualidade do leite. **Higiene Alimentar**, v.13, n.62, p. 10-13,1999.

PEREIRA, A. R., MACHADO, P. F., BARANCELLI, G. Contagem de células somáticas e qualidade do leite. **Revista dos Criadores**, n. 67, p. 9-21. 1997.

PHILPOT, N. W.; NICKERSON, S. C. Vencendo a luta contra a mastite. Piracicaba: Westfalia Surge / Westfalia Landtechnik do Brasil, p.192, 2002.

RASIC, J. L.; KURMANN, J. A. **Yoghurt: Scientific grounds technology, manufacture e preparation**. Copenhagen: Technical Dairy Publishing House, p. 427, 1978.

- REBHUN, W. C. **Doenças do Gado Leiteiro**. 1. ed. São Paulo: Roca, 2000. 642p.
- RODRIGUES, M. S. **Revisão de literatura sobre qualidade do leite incluindo a IN 51 e mastite bovina**. Relatório de Estágio (Graduação em Zootecnia) – Faculdades Integradas de Mineiros, Mineiros. 2006. 46p.
- ROSSI, E. A.; VENDRAMINI, R.C.; CARLOS, I. Z.; OLIVEIRA, M. G.; VALDEZ, G. F. Efeito de um novo produto fermentado de soja sobre os lípides séricos de homens adultos normocolesterolêmicos. **Arquivo Latino Americano de Nutrição**. v. 53, p. 47-51, 2003.
- SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 42, n. 1., p.1-16, 2006.
- SANTOS, J. A. logurte: um bom negócio se feito com profissionalismo. **Indústria de Laticínios**, n. 18, p. 20-27, 1998.
- SANTOS, M.V. **Efeito da mastite sobre a qualidade do leite e dos derivados lácteos**. In: Congresso Panamericano de Qualidade do Leite e Controle de Mastite, II. 2002, Ribeirão Preto, **Anais....** São Paulo: Instituto Fernando Costa, p.179-188, 2002.
- SANTOS, M. V.; **Influência da qualidade do leite na manufatura e vida útil de prateleira dos produtos lácteos**. In: BRITO, J. R. F.; PORTUGAL, J. A. B. Diagnostico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos. Juiz de Fora. v, 1. p. 139-149, 2003.
- SANTOS, M. V. **Efeito da mastite sobre a qualidade do leite e dos derivados lácteos**, 2004. Parte 1 e 2. Disponível em: <www.milkpoint.com.br>. Acesso em 09 set. 2015.
- SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. São Paulo: Manole, 2007, 314p.
- SCHAELLIBAUM, M. Efeitos de altas contagens de células somáticas sobre a produção e qualidade de queijos. In: Simpósio Internacional sobre Qualidade do Leite, 2., 2000, Curitiba. **Anais...** Curitiba: CIETEP/FIEP, p. 21-26, 2000.
- SCHALM, O. W.; NOORLANDER, D. O. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.130, p.199-204, 1957.
- SHAH, N. P.; RAVULA, R. R. Influence of water activity on fermentation, organic acids production and viability of yogurt and probiotic bacteria. **The Australian Journal of Dairy Technology**, v. 55, n. 3, p. 127-131, 2000.
- SILVA, A. I. D.; PEREIRA, M. C. R.; BEIRÃO, M. R. F. S.; MOURA, P. C.; PORFÍRIO, P. A.; FERNANDES, P. D. L.; **Produção de logurte**. Portugal: Universidade do Porto, p.29, 2010.
- SILVA, M. V. M.; NOGUEIRA, J. L.; PASSOS, C. C. A mastite interferindo no padrão de qualidade do leite: uma preocupação necessária. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Ano 8, n. 14, 2010.
- SILVESTRINI, A. **logurte cresce cada vez mais**. SM. 2013. Disponível em: <<http://www.sm.com.br/Editorias/Megamercado/logurte-cresce-cada-vez-mais-20281.html>>. Acesso em: 28 dez. 2015.
- SOARES, F. U. **Análise da cadeia produtiva leiteira**. Goiânia: UFG, p.4, 2012.
- SOUSA, A. G.; NORONHA, J. F.; MOURA, C. J.; FIGUEIREDO, R. S.; CRUZ, A. F. Influência da qualidade do leite sobre os custos de uma indústria de laticínios em Goiás. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 13., 2007, Londrina. **Anais...** SOBER, Londrina, 2007. 47p.

TAMIME, A.Y.; DEETH, H.C. Yogurt: technology and biochemistry. **Journal of Food Protection**, v. 43, n. 12, p. 939-977, 1980.

TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. **Yogurt: ciencia y tecnologia**. Zaragoza: Acribia, 1991. 368p.
TAMIME, A. Y. **Fermented Milks**. Blackwell Science Ltd, 2006.

THOMPSON, J. L.; LOPETCHARAT, K.; DRAKE, M. A. Preferences for commercial strawberry drinkable yogurts among African American, Caucasian and Hispanic consumers in the United States. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.11, p. 4974-4987, 2007.

TRIPALDI, C.; TERRAMOCCIA, S.; BARTOCCI, S.; ANGELUCCI, M.; DANESE, V. The effects of the somatic cell count on yield, composition and coagulating properties of Mediterranean buffalo milk. **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 16, n. 5, p. 738-42, 2003.

TOLEDO, N. M. V. **Aproveitamento de subprodutos da industrialização do maracujá para elaboração de iogurte**. Dissertação (Mestrado em Química na Agricultura e no Ambiente) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

VILELA, D.; LEITE, J. L. B.; RESENDE, J. C. Políticas para o leite no Brasil: passado, presente e futuro. In: SUL-LEITE: SIMPÓSIO SOBRE SUSTENTABILIDADE DA PECUÁRIA LEITEIRA NA REGIÃO SUL DO BRASIL, 2002, Maringá. *Anais...* UEM, Maringá, 2002. p. 1-22.

VIOTTO, W. H.; CUNHA, C. R. Teor de Sólidos do Leite e Rendimento Industrial. In: MESQUITA, A. J.; DÜRR, J. W.; COELHO, K. O. **Perspectivas e Avanços da Qualidade do Leite no Brasil**. Goiânia: Talento, p. 241-258, 2006.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J. T. M.; GEURTS, T. J. **Dairy Science and Technology**. 2nd edition, CRC Press, USA, 2006.

ZOCAL, R. **Panorama do leite**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite. Ano 7, n. 75, out/2015.

4 ARTIGO - Influência do leite com elevada contagem de células somáticas sobre características físico-químicas e processo de fermentação de iogurte

(Artigo escrito de acordo com as normas da Revista Ciência Animal Brasileira)

INFLUÊNCIA DO LEITE COM ELEVADA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS SOBRE CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E PROCESSO DE FERMENTAÇÃO DE IOGURTE

RESUMO

O experimento visou avaliar o perfil de fermentação e acidez, pH e sinérese de iogurtes elaborados com leite contendo elevada e baixa contagem de células somáticas (CCS) e adicionados ou não de sólidos lácteos. No leite cru, coletado em seis dias distintos, avaliaram-se os teores de gordura, lactose, proteína, sólidos totais, extrato seco desengordurado, CCS e contagem bacteriana total (CBT). Submetidos à fermentação, verificaram-se o pH e acidez expressa em ácido láctico. No iogurte, mediram-se pH, acidez expressa em ácido láctico e sinérese. O estudo foi conduzido em delineamento em blocos casualizados, com seis repetições e em parcelas subdivididas, tendo nas parcelas os tratamentos (níveis de CCS x adição ou não de sólidos) e, nas subparcelas, os tempos de fermentação e de armazenamento dos iogurtes. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e análises de regressão ou de correlação de Pearson, a 5% de probabilidade. Os níveis de CCS afetaram os teores de gordura e lactose do leite ($p < 0,05$). Entretanto, assim como a adição de sólidos lácteos, não influenciaram o perfil de fermentação da cultura láctica e a acidez, o pH e a sinérese dos iogurtes, sugerindo menor efeito dessas variáveis sobre a qualidade dos produtos.

PALAVRAS-CHAVE: contagem de células somáticas; qualidade do leite; fermentação; iogurte enriquecido com sólidos.

INFLUENCE OF MILK WITH A HIGH SOMATIC CELL COUNT ON THE PHYSICAL CHARACTERISTICS AND YOGURT FERMENTATION PROCESS

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the fermentation characteristics and yogurts made from milk with high or low milk somatic cell count (CCS) and added or not with milk solids. Raw milk was collected at six days and subjected to various electronic analyzes of protein, fat, lactose, total solids, CCS and total bacterial count (CBT). The profile of the fermentation was monitored by pH and acidity, expressed as lactic acid. Yoghurts were analyzed for pH, acidity expressed as lactic acid and syneresis of final product at different storage times. The experiment was conducted in a randomized block design, with six replicates and split plots with treatments in installments (CCS levels x added or not added milk solids) and fermentation times and storage periods for yogurts subplots. Data were subjected to analysis of variance (ANOVA), regression or Pearson Correlation analysis, according to the tests. The results showed that CCS levels had effects on some milk parameters ($p < 0,05$). However, no effects were observed on the fermentation profile and characteristics of yoghurt during storage, according to the CCS levels or adding milk solids.

KEY-WORDS: somatic cell count; milk; fermentation; yoghurt.

INTRODUÇÃO

O iogurte é o derivado do leite mais apreciado e consumido mundialmente. São muitas as alternativas aplicadas ao produto que visam favorecer ainda mais o seu consumo. Dentre elas, a adição de leite em pó pode aprimorar as características tecnológicas e, conseqüentemente, a aceitação deste derivado lácteo, devido ao aumento da matéria sólida¹.

Essa adição pode melhorar a consistência e a textura ou até mesmo mascarar a ocorrência de defeitos leves de dessoramento e de corpo do iogurte.

Adicionalmente, visando atender as exigências da indústria de laticínios e do consumidor, as propriedades rurais têm sido exigidas em produzir leite com qualidade microbiológica e físico-química adequada, a fim de garantir produtos derivados de qualidade. Dentre os fatores que interferem na qualidade do leite, a contagem de células somáticas (CCS) tem sido considerada medida padrão de qualidade, pois, quando em altos índices interfere na composição, rendimento industrial, além de diminuir a vida de prateleira do leite e dos produtos lácteos².

Em vacas sadias são encontradas baixas CCS, geralmente menos de 50.000 células/mL de leite. Valores de CCS de até 250.000 células/mL não afetam a produção e a qualidade do leite, enquanto contagens acima de 250.000 - 300.000 células/mL podem ser indicação de infecção bacteriana do úbere³.

O uso de leite com alta CCS determina efeito negativo sobre o crescimento e metabolismo das culturas lácticas, comprometendo a qualidade, coagulação, aroma e textura do iogurte⁴. Apesar do conhecimento existente, ainda não foi completamente explorado o efeito de leite com elevada CCS sobre os leites fermentados^{5, 6, 7}.

Dessa forma, objetivou-se investigar a influência do emprego de leite com elevada CCS sobre o perfil de fermentação e as características de acidez, pH e sinérese dos iogurtes tradicional e adicionado de sólidos durante 30 dias de armazenamento, bem como analisar as correlações existentes entre a CCS e os parâmetros de qualidade físico-química dos iogurtes.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção da matéria-prima

O leite utilizado para a realização do experimento foi proveniente da Fazenda Experimental Professor Hamilton de Abreu Navarro (FEHAN), a partir da ordenha mecânica de vacas da raça Holandesa, mantidas sob sistema intensivo de criação. Em seis semanas distintas quatro litros de leite com elevada CCS (>250.000 células/mL) e quatro litros de leite com baixa CCS (<250.000 células/mL) foram obtidos uma vez por semana e enviados para a fabricação dos iogurtes.

A coleta do leite foi realizada seguindo-se os métodos descritos por Simões et al.⁸. Visando diagnosticar vacas que produziam leite contendo elevada CCS, o teste de CMT foi realizado antes de todas as ordenhas, sendo escolhidas as vacas que apresentaram o grau de três cruces (3+) no teste de CMT⁹ para compor o grupo de animais que ofereceram leite com CCS elevada¹⁰.

Para composição das amostras de leite com baixa CCS, foi colhido leite de vacas que não apresentavam formação de gel no teste de CMT. Foi realizada linha de ordenha, sendo

ordenhadas, primeiro as vacas com resultado CMT negativo e, posteriormente, aquelas que tiveram CMT positivo.

As amostras de leite com elevada e baixa CCS foram homogeneizadas por agitação manual e uma alíquota foi imediatamente transferida para frascos plásticos esterilizados com capacidade de 60 mL contendo os conservantes Bronopol para análises de composição e células somáticas e Azidiol para CBT¹¹. As amostras foram enviadas sob refrigeração ao Laboratório de Análise da Qualidade do Leite (LabUFMG), da Escola de Veterinária da UFMG.

Produção e caracterização da fermentação durante a fabricação dos iogurtes

Para produção dos iogurtes, os leites de animais com elevada e baixa CCS foram imediatamente encaminhados ao Laboratório de Produtos Lácteos, onde as amostras foram submetidas ao tratamento térmico sob binômio tempo/ temperatura de 90°C por 5 minutos e resfriadas a 42°C conforme a Figura 1.

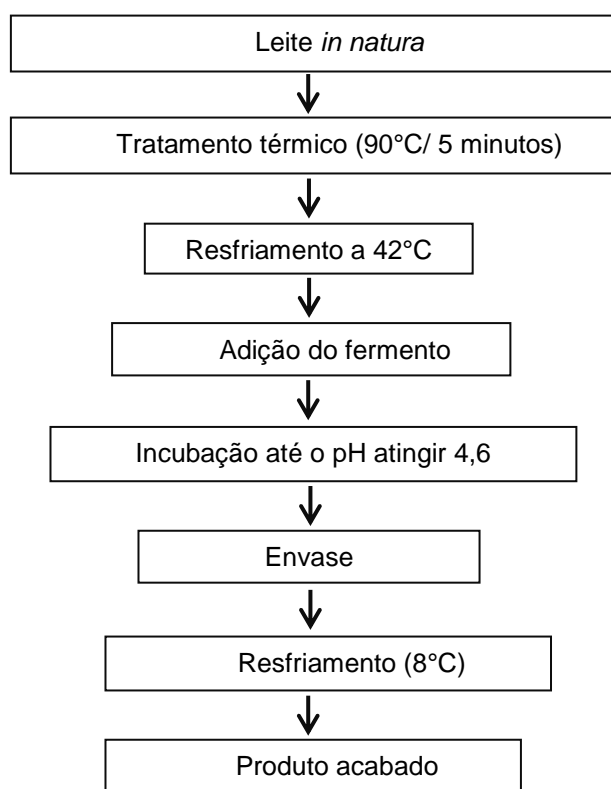


Figura 1. Fluxograma de fabricação do iogurte tradicional

Fonte: Adaptado de Abreu¹²

Após atingir a temperatura de 42°C foi adicionado ao leite por meio de inoculação direta o fermento lácteo YR03 da marca Rica Nata[®], em formato de cápsulas constituídas por 70% de bactérias lácticas *Streptococcus thermophilus* (St) e 30% de *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* (Lb), cada cápsula produz dois litros de iogurte. Para fabricação do iogurte adicionado de sólidos, além do fermento lácteo, adicionou-se 4% de leite em pó ao leite *in natura*. Durante a

fabricação dos iogurtes tradicional e adicionado de sólidos foram realizadas, em triplicatas, medidas de pH e acidez expressa em porcentagem de ácido láctico¹³, monitoradas no tempo zero e a cada 40 minutos, durante 6 horas, a fim de determinar o perfil de fermentação das culturas lácticas nos iogurtes elaborados com leite com elevada e baixa CCS.

No final das 6 horas de fermentação, os iogurtes foram imediatamente mantidos em temperatura de refrigeração a 8°C durante 30 dias.

Análises laboratoriais

O leite empregado na fabricação dos iogurtes foi submetido a análises de Composição Centesimal e Contagem de Células Somáticas, por absorção de comprimento de onda na região do infravermelho médio, utilizando o equipamento eletrônico Bentley Combi System 2300® (Chaska, Estados Unidos da América), segundo protocolos propostos pelas normas IDF Standard 148 A e ISO 9622:2013^{14,15}, além da Contagem Bacteriana Total, pelo princípio de citometria de fluxo, utilizando o equipamento eletrônico IBC Bacto Count IBC da Bentley Instruments Incorporated®¹⁶.

Visando avaliar a qualidade dos iogurtes durante o período de validade foram analisadas, em triplicatas, características físicas da sinérese, determinada pela metodologia descrita por TAMIME et al.¹⁷, acidez, expressa em ácido láctico e pH¹², nos intervalos de 1; 5; 10; 20; e 30 dias de armazenamento.

Delineamento experimental e Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados (DBC), com seis repetições e em parcela subdividida, tendo nas parcelas os tratamentos, (Tratamento 1, iogurte tradicional com CCS até 250.000 CS/mL; Tratamento 2, iogurte adicionado de sólidos com CCS até 250.000 CS/mL; Tratamento 3, iogurte tradicional com CCS maior que 250.000 CS/mL e Tratamento 4, iogurte adicionado de sólidos com CCS maior que 250.000 CS/mL) e nas subparcelas os tempos de fermentação (0; 40; 1:20; 2:00; 2:40; 3:20; 4:00; 4:40; 5:20; 6:00 horas) e de armazenamento (1; 5; 10; 20; 30 dias).

Os dados da caracterização da fermentação e do iogurte durante a validade foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey a 5% de probabilidade. Análise de regressão foi realizada em função dos tempos de fermentação e de armazenamento, ao nível de 5% de probabilidade. Os dados da composição do leite foram avaliados pela ANOVA e Correlação de Pearson (r). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa SISVAR, versão 5.6¹⁸.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização físico-química e microbiológica do leite

Na tabela 4 encontram-se os resultados obtidos nas análises físico-químicas, CCS e CBT do leite com elevada e baixa CCS utilizado na elaboração do iogurte.

Tabela 4: Resultados médios das análises físico-químicas, CCS e CBT do leite com elevada e baixa CCS

Parâmetro	Elevada CCS	Baixa CCS	CV (%)
Gordura (%)	3,02 ^b	3,77 ^a	12,7
Lactose (%)	3,92 ^b	4,39 ^a	2,7
Proteína (%)	3,05 ^a	3,41 ^a	9,4
Sólidos Totais (%)	11,47 ^a	11,98 ^a	5,9
ESD (%)	8,41 ^a	8,44 ^a	5,4
CCS (x1000 CS/mL)	2.202 ^a	82,17 ^b	53,8
CBT (x1000 UFC/mL)	263 ^a	15,67 ^b	14,1

Letras diferentes na mesma linha diferem entre si ($p < 0,05$)

CV = Coeficiente de Variação.

Dentre os constituintes do leite, a gordura foi o parâmetro que apresentou maior coeficiente de variação, por ser, normalmente, o componente mais sujeito a variações devido a diversos fatores de manejo e fisiológicos¹⁹. O leite com elevada CCS apresentou valor inferior de gordura ($p < 0,05$), houve correlação entre as variáveis ($r = -0,68$) ($p < 0,005$). Em relação à variação da gordura do leite devido ao aumento da CCS, existem relatos na literatura de aumento, diminuição ou não alteração no seu teor^{7-20-9-21,22}, devido a diminuição da produção de leite ocasionada pela infecção da glândula mamária²³ ou devido a redução da capacidade da secreção de gordura pelos alvéolos²⁰.

Com o aumento da CCS ocorre a redução da síntese de lactose no leite, devido às lesões ocorridas nos alvéolos, podendo sofrer interferência com a passagem de lactose para o sangue²⁰. Os valores relativos à lactose apresentaram diferenças ($p < 0,05$), com maiores concentrações no leite com baixa CCS, e estão de acordo com os resultados encontrados por Machado et al.²⁴ e Fernandes et al.⁷. Foi observada correlação ($p < 0,005$) entre a CCS e a lactose ($r = -0,69$).

No leite com elevada CCS a redução no teor de gordura não foi suficiente para comprometer a adequação do índice, que deve apresentar o teor mínimo de 3%, porém, não se apresentou adequado quanto ao teor de lactose, segundo o proposto pelo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, que deve apresentar o teor mínimo de 4,3%²⁵.

Quando a CCS se encontra elevada, a síntese de proteínas verdadeiras, principalmente da caseína, é reduzida, pois o tecido secretor encontra-se comprometido. Porém, os níveis de proteína total são mantidos pela presença das proteínas do sangue, que são lançadas nos alvéolos mamários devido ao aumento da permeabilidade vascular²⁰. Simultaneamente, pode haver uma significativa redução da fração de caseína, pela sua degradação por proteases

bacterianas e leucocitárias e pela diminuição de sua síntese devido à inflamação da glândula mamária. Dessa forma, no leite com CCS elevada, ocorre aumento da atividade enzimática, favorecendo ativação do plasminogênio em plasmina, a qual promove proteólise, principalmente na caseína e, mais especificamente, na β -caseína e α_{S2} -caseína, alterando a composição proteica do leite²⁶. Não foram observadas diferenças ($p>0,05$) entre os valores de proteínas, fato que diverge dos resultados de Mazal et al.²⁷, Najafi et al.²² e Sabedot et al.²⁸. Houve correlação ($r= -0,63$) ($p<0,005$) entre a CCS e a proteína no leite.

Devido à esperada diminuição nos teores de gordura, proteína e lactose, supõe-se que os sólidos totais apresentem menores concentrações com o aumento de células somáticas, porém, às vezes, há um pequeno aumento. Essa variação deve-se à diminuição da produção, em consequência da inflamação do úbere, acarretando uma concentração de sólidos totais no leite²⁹. Não houve influência ($p>0,05$) da CCS sobre os sólidos totais do leite, apresentando correlação negativa ($p>0,005$) com o EST ($r= -0,40$). Esse resultado corrobora as pesquisas de Silva et al.³⁰ de que os sólidos totais não são influenciados pelo aumento da CCS. Entretanto, divergem dos resultados encontrados por Fernandes et al.⁷, que observaram diminuição dos sólidos totais quando o nível de CCS supera 1.000.000 CS/mL.

O ESD compreende os componentes sólidos desengordurados do leite e é importante para o rendimento dos produtos derivados. Neste estudo não foi observada influência ($p>0,05$) da CCS sobre o ESD do leite e houve correlação ($p>0,005$) entre a CCS e o ESD ($r= -0,16$). Esses resultados divergem daqueles verificados por Reis et al.³¹ e Lima et al.³².

Houve diferença ($p<0,05$) entre as amostras de leite com elevada e baixa CCS, indicando adequação na obtenção das amostras do experimento, uma vez que o leite que apresentou grau de três cruzeiros (3+) no teste de CMT estava realmente com valor de CCS bem superior ao determinado pela legislação³³, que preconiza contagens máximas de 5×10^5 CS/mL para o leite cru entregue nos laticínios.

O valor máximo de CBT preconizado pela legislação é de 3×10^5 UFC/mL³³, indicando que o leite é de qualidade aceitável. O leite com elevada CCS apresentou valor de CBT superior ($p<0,05$) ao leite com baixa CCS (Tabela 4), porém, ambos encontram-se dentro dos limites preconizados pela legislação. Na análise de correlação entre CCS e CBT, houve correlação ($p=0,0522$) entre os parâmetros ($r= -0,57$). Para evitar altas contagens bacterianas é preciso trabalhar com higiene e refrigerar o leite o mais rapidamente após a ordenha. Santos e Fonseca²⁰ relataram que geralmente o aumento na CCS não tem relação direta com a CBT, excetuando nas infecções em que o agente etiológico da mastite seja *Streptococcus agalactiae* ou *S. dysgalactiae*.

Caracterização da fermentação do iogurte

De acordo com Viotto e Cunha³⁴, a produção de antimicrobianos pelos leucócitos, devido ao aumento da CCS, poderia inibir o desenvolvimento da cultura láctica, retardando o processo de fermentação e coagulação do iogurte. Ao analisar a curva de fermentação dos iogurtes com

baixa e elevada CCS observa-se que não houve mudança ($p>0,05$) no comportamento de acidez e pH (Figuras 2 e 3). Fernandes et al.⁷ também não verificaram diferenças significativas nos valores de acidez de iogurtes produzidos com leite contendo diferentes níveis de CCS. Okello-Uma e Marshall³⁵ constataram que altas CCS no leite não ocasionaram diferenças ($p>0,05$) no crescimento dos microrganismos da cultura starter utilizada para a fabricação do iogurte.

Quanto ao perfil de fermentação dos iogurtes, os teores de ácido láctico e pH foram influenciados apenas pelo tempo de fermentação ($p<0,05$), demonstrando atividade metabólica do fermento lácteo adicionado. A acidez dos quatro tipos de iogurtes permaneceu estabilizada por cerca de 120 minutos, tendo rápido aumento após esse período até o final da fermentação, como observado na Figura 2. Observa-se que durante o tempo de fermentação de 6 horas os quatro tipos de iogurtes geraram produtos dentro dos valores estabelecidos pela legislação, entre 0,6 a 1,5% de ácido láctico³⁶, de 0,72%, 0,85%, 0,71% e 0,75% respectivamente, para T1, T2, T3 e T4.

O iogurte tem um perfil fermentativo característico que pode mudar com a adição de sólidos totais. Essa adição pode influenciar no aumento ou diminuição da atividade fermentativa das bactérias, que por sua vez influenciam nas características físico-químicas do produto. Na prática, utiliza-se leite em pó (integral, semi-desnatado ou desnatado), com o objetivo de alcançar a concentração de sólidos necessária para a melhoria de sua consistência³⁷. Porém, nessa pesquisa, a adição de 4% de leite em pó não foi suficiente para promover alterações sobre o tempo de fermentação dos iogurtes ($p>0,05$), contrariando os achados de Martínéz et al.³⁸.

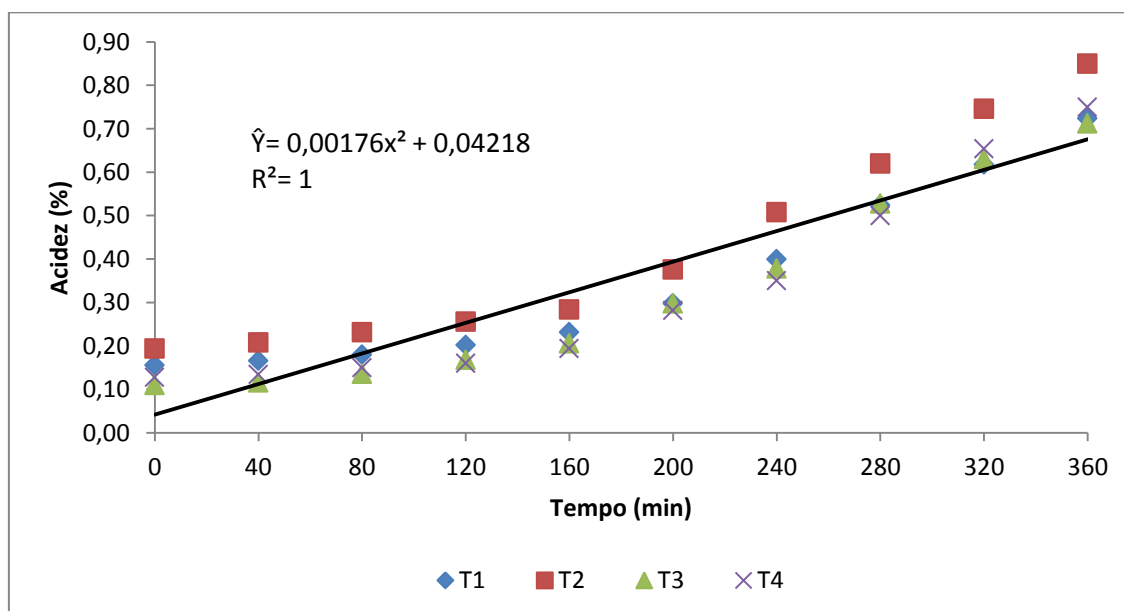


Figura 2: Acidez (% de ácido láctico) dos processos fermentativos para a obtenção do iogurte tradicional elaborado com baixa CCS (T1), iogurte adicionado de sólidos elaborado com baixa CCS (T2), iogurte tradicional elaborado com elevada CCS (T3) e iogurte adicionado de sólidos elaborado com elevada CCS (T4) em função do tempo de fermentação.

A legislação brasileira não estabelece limites em relação ao pH de iogurtes³⁶. Valores de pH entre 3,7 a 4,6 são normalmente encontrados nos iogurtes, e valores entre 4,6 a 4,7 são considerados próximo do ideal, pois o produto nessa faixa não se apresenta excessivamente amargo ou ácido³⁷. Os quatro tipos de iogurte apresentaram valores de pH de 4,4, 4,5, 4,7 e 4,6 no final da fermentação, respectivamente, para T1, T2, T3 e T4. No início da fermentação todos os quatro tipos de iogurte permaneceram estabilizadas por aproximadamente 80 minutos e então começaram a decrescer até o final das 6 horas de fermentação (Figura 3). Valores semelhantes foram observados por Fernandes et al.⁷, com pH de 4,6 para o iogurte com baixa CCS e 4,5 para iogurte com elevada CCS. Oliveira et al. (2002)⁵ concluíram que o pH do iogurte produzido com leite com diferentes níveis de CCS não é diferente ($p > 0,05$).

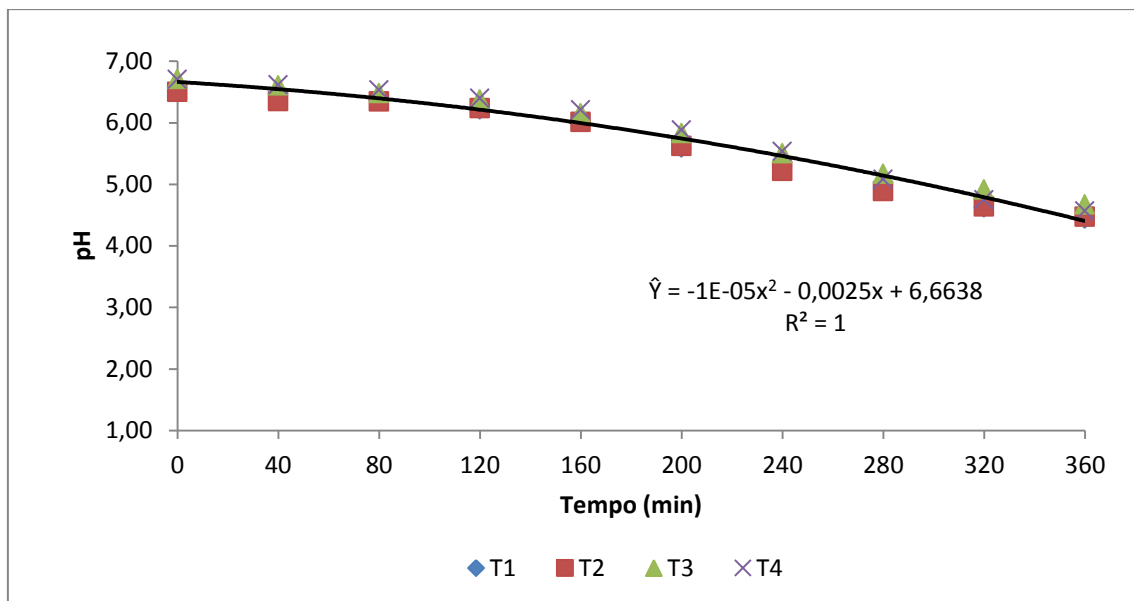


Figura 3: pH dos processos fermentativos para a obtenção do iogurte tradicional elaborado com baixa CCS (T1), iogurte adicionado de sólidos elaborado com baixa CCS (T2), iogurte tradicional elaborado com levada CCS (T3) e iogurte adicionado de sólidos elaborado com elevada CCS (T4) em função do tempo de fermentação.

Caracterização físico-química do iogurte

Analisando a qualidade do iogurte durante seu armazenamento verificou-se que a CCS do leite não influenciou as características físico-químicas dos iogurtes ($p > 0,01$) (Figuras 4, 5 e 6). Os teores de acidez expressa em ácido láctico, pH e sinérese foram influenciados apenas pelo tempo de armazenamento ($p < 0,01$).

Ao comparar os valores de pH e acidez expressa em ácido láctico obtidos durante o período de armazenamento refrigerado dos iogurtes (Figuras 4 e 5) verifica-se que houve aumento no valor de acidez e decréscimo no valor do pH, em virtude da produção contínua de ácidos pelas bactérias lácticas.

No 1º dia de análise os valores de acidez expressa em ácido láctico para os tipos de iogurtes, T1, T2, T3 e T4, foram de 0,54%, 0,56%, 0,52% e 0,56%, respectivamente, aumentando gradativamente até alcançar 0,89%, 0,94%, 0,91% e 0,95% no 30º dia, correspondente ao período final de armazenamento (Figura 4). Segundo Gallina et al.³⁹, os iogurtes estão sujeitos ao decréscimo de pH e aumento da acidez durante o armazenamento refrigerado, devido à persistente atividade das bactérias durante o armazenamento do produto. Fernandes et al.⁷ observaram aumento da acidez de 0,69% de ácido láctico no 1º dia após a fabricação para 0,72% no 30º dia de armazenamento para o iogurte com baixa CCS, e o aumento da acidez de 0,70% de ácido láctico no 1º dia após a fabricação para 0,76% no iogurte com leite contendo mais de 800.000 CS/mL ($p < 0,05$).

Estudos realizados por Donkor et. al.⁴⁰ mostraram que em iogurtes armazenados sob refrigeração, a acidez titulável pode apresentar alterações em maior ou menor grau, dependendo do valor inicial da mesma, da temperatura de refrigeração, do tempo de armazenamento e do poder de pós acidificação das culturas utilizadas. O aumento da acidez titulável é diretamente proporcional à temperatura e ao tempo de armazenamento⁴¹.

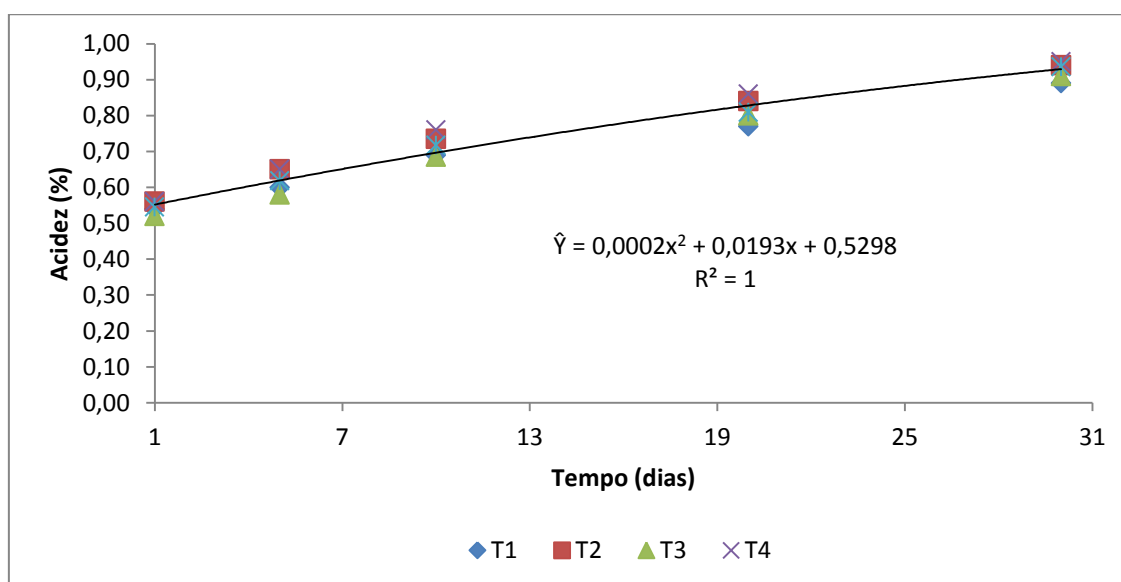


Figura 4: Valores médios de acidez (% de ácido láctico) durante o tempo de armazenamento do iogurte tradicional elaborado com baixa CCS (T1), iogurte adicionado de sólidos elaborado com baixa CCS (T2), iogurte tradicional elaborado com elevada CCS (T3) e iogurte adicionado de sólidos elaborado com elevada CCS (T4).

No 1º dia de análise os valores de pH para quatro os tipos de iogurtes, T1, T2, T3 e T4, foram de 4,7, 4,6, 4,6 e 4,7, respectivamente, reduzindo gradativamente até alcançar 3,9, 3,9, 3,8 e 3,8 no 30º dia, correspondente ao período final de armazenamento (Figura 5). Luz et al.⁴² observaram diminuição de pH em iogurtes durante o período de 30 dias de armazenamento.

Conforme Damini et al.⁴³, a redução do pH dos iogurtes nos sete primeiros dias de armazenamento está relacionada à hidrólise de lactose e produção de ácido láctico e galactose,

mostrando a existência da atividade metabólica da bactéria láctica. O valor de pH implica na atividade metabólica das bactérias, podendo favorecer determinado grupo em detrimento de outro, sendo que no iogurte as bactérias do gênero *Lactobacillus* crescem e toleram valores de pH mais baixos que *Streptococcus* spp..

O valor do pH é importante, pois, o iogurte com baixa acidez (pH<4,6) favorece a separação do soro devido à não adequada formação do gel. Por outro lado, em pH inferior a 4,0 pode ocorrer contração do coágulo, devido à redução da hidratação das proteínas, também conduzindo ao dessoramento do produto⁴⁴.

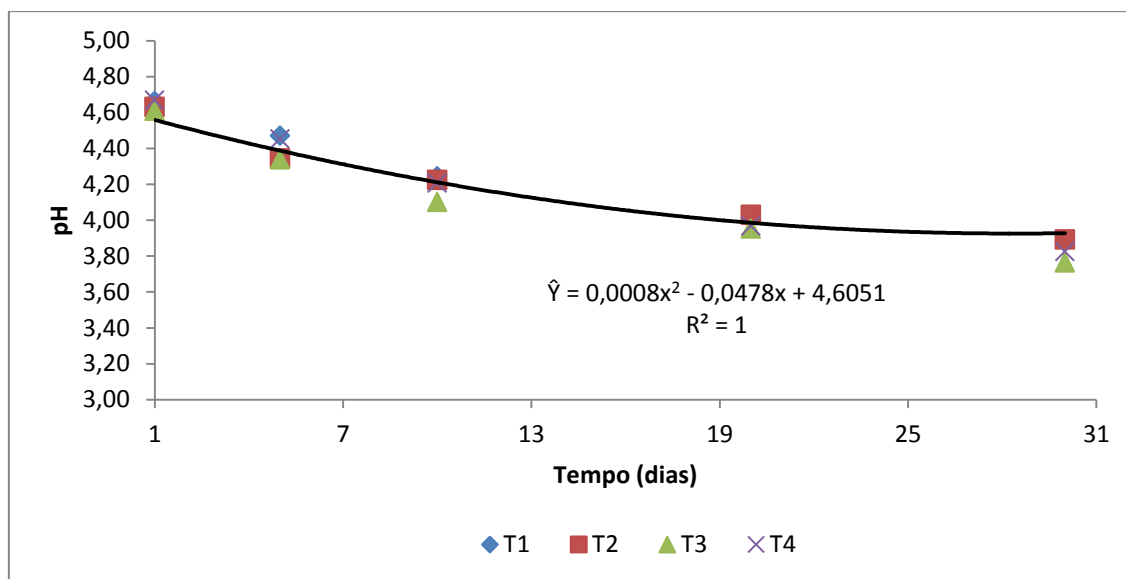


Figura 5: Valores médios de pH durante o tempo de armazenamento do iogurte tradicional elaborado com baixa CCS (T1), iogurte adicionado de sólidos elaborado com baixa CCS (T2), iogurte tradicional elaborado com elevada CCS (T3) e iogurte adicionado de sólidos elaborado com elevada CCS (T4).

A sinérese é um fenômeno causado pela liberação espontânea de soro, acompanhada pela redução do seu volume e intensificado por mudanças na temperatura, pH e fatores mecânicos⁴⁵. A sinérese não foi influenciada pela CCS do leite e sim pelo do tempo de armazenamento que favoreceu o aumento da produção do soro na superfície dos iogurtes ($p < 0,05$).

No primeiro dia de análise os valores de sinérese para os tipos de iogurtes, T1, T2, T3 e T4, foram de 1,22%, 0,93%, 1,10% e 0,55%, respectivamente, aumentando gradativamente até alcançar 3,23%, 3,13%, 3,23% e 2,63% no 30º dia, correspondente ao período final de armazenamento (Figura 6).

Observa-se que houve produção de soro em todos os quatro tipos de iogurtes. A adição de leite em pó na elaboração dos iogurtes ajuda a melhorar a firmeza e a reduzir a sinérese no produto³⁷. Porém, a adição realizada nesse experimento não foi suficiente para alcançar esses

objetivos, pois houve dessoragem nos iogurtes que possuíam leite em pó na sua constituição. Kücükçetin⁴⁶ também não encontrou efeito da adição de sólidos sobre a sinérese.

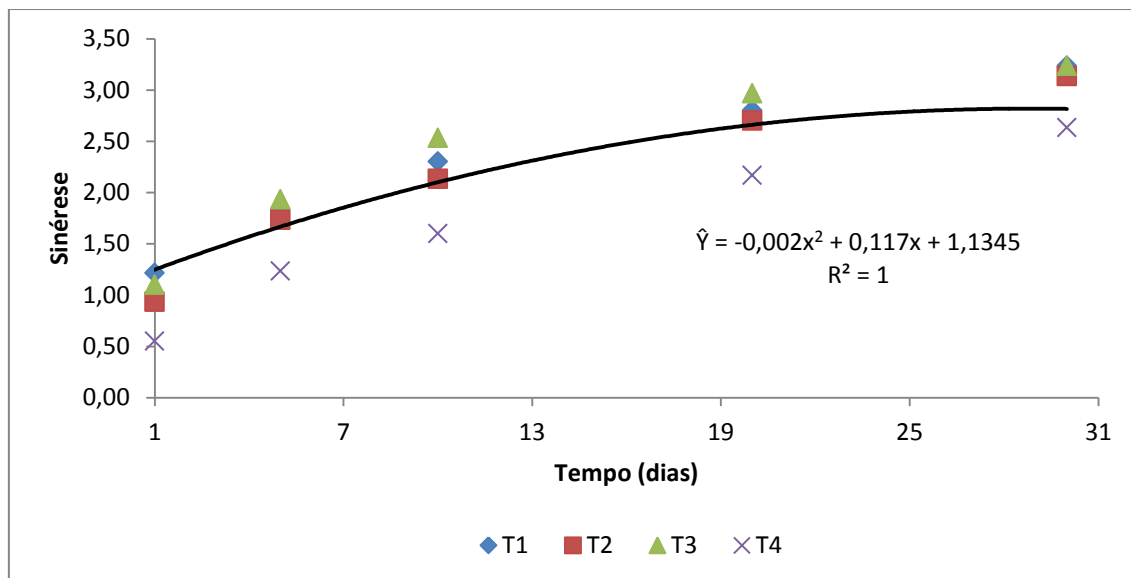


Figura 6: Valores médios de sinérese durante o tempo de armazenamento do iogurte tradicional elaborado com baixa CCS (T1), iogurte adicionado de sólidos elaborado com baixa CCS (T2), iogurte tradicional elaborado com elevada CCS (T3) e iogurte adicionado de sólidos elaborado com elevada CCS (T4).

CONCLUSÕES

A utilização de leite com elevada CCS não interferiu no tempo de fermentação e no crescimento da cultura láctica utilizada na elaboração dos iogurtes durante as seis horas de fermentação e nas características de acidez, pH e sinérese dos iogurtes.

A adição do leite em pó na confecção do iogurte adicionado de sólidos não foi suficiente para promover mudanças no índice de sinérese entre os dois tipos de produto, assim como a CCS do leite cru também não afetou essa resposta.

REFERÊNCIAS

1. RAMOS T M, GAJO AA, PINTO SM, ABREU LR, PINHEIRO AC. Perfil de textura de Labneh (iogurte grego). Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes. 2009; 64(369): 8-12.
2. OLIVEIRA CAF, FONSECA LFL, GERMANO PML. Aspectos relacionados à produção, que influenciam a qualidade do leite. Higiene Alimentar. 1999;13(62):10-13.
3. MAGALHÃES HR, EL FARO L, CARDOSO VL, PAZ CCP, CASSOLI LD, MACHADO PF. Influência de fatores ambientais sobre a contagem de células somáticas e sua relação com perdas na produção de leite de vacas da raça Holandesa. Revista Brasileira de Zootecnia. 2006; 35(2): 415-421.

4. SANTOS MV. Alto nível de CCS prejudica leite e derivados [Internet]. Revista Mundo do Leite; 2015 Aug 12 [cited 2016 Jan 15]. Available from:<http://www.portaldbo.com.br/mundo-do-leite/artigos/alto-nivel-de-ccs-prejudica-leite-e-derivados/13465>. Portuguese.
5. OLIVEIRA CAF, FERNANDES AM, CUNHA NETO OC, FONSECA LFL, SILVA EOT, BALIAN SC. Composition and sensory evaluation of whole yogurt produced from milk with different somatic cell counts. The Australian Journal of Dairy Technology. 2002; 57(3):192-196.
6. VIVAR-QUINTANA AM, DE LA MANO EB, REVILLA I. Relationship between somatic cell counts and the properties of yoghurt made from ewes' milk. International Dairy Journal. 2006; 16:262-267.
7. FERNANDES AM, OLIVEIRA CAF, LIMA CG. Effects of somatic cell counts in milk on physical and chemical characteristics of yogurt. International Dairy Journal. 2007; 17:111-115.
8. SIMOES TVMD, OLIVEIRA AA, TEIXEIRA KM, RODRIGUES JUNIOR AS, FREITAS IM. Identificação laboratorial de *Staphylococcus aureus* em leite bovino. 1 st ed. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros. 2013. 15p. Portuguese.
9. CUNHA RPL, MOLINA LR, CARVALHO AU, FACURY FILHO EJ, FERREIRA PM, GENTILINI MB. Mastite subclínica e relação da contagem de células somáticas com número de lactações, produção e composição química do leite de vacas da raça Holandesa. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 2008; 60(1):19-24.
10. EMBRAPA, Sistemas de Produção de Leite para diferentes regiões do Brasil. [Internet]. Embrapa Gado de Leite; 2011 Nov [cited 2015 dez 13]. Available from: <http://www.cnpq.embrapa.br/sistemaproducao/>. Portuguese.
11. INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Milk and Milk Products. Determination of Nitrate and Nitrite. Brussels: International Dairy Federation. 2003. 189p.
12. ABREU, L. R. de. Tecnologia e aproveitamento do leite. Lavras: FAEPE. 1997. 149 p.
13. BRASIL. MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 68, de 12 dezembro de 2006 – Oficializar os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 2006. Portuguese.
14. INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Milk: enumeration of somatic cell. IDF Standard 148A. Brussels: International Dairy Federation. 1995. 8p.
15. INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (IDF) ISO 9622:2013 (IDF 141) Milk and liquid milk products - Guidelines for the application of mid-infrared spectrometry, 2013.
16. BENTLEY INSTRUMENTS INC. Bactocount 150 operator's manual. Chaska: Bentley Instruments Inc. 2002. 49p.
17. TAMIME AY, BARRANTES EA, SWORD M. The effects of starch-based fat substitutes on the microstructure of set-style yogurt made from reconstituted skimmed milk powder. Journal of Society of Dairy Technology. 1996; 49(1):1- 10.
18. FERREIRA D. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. Ciência e Agrotecnologia. 2014; 38(2):109-112.

19. BRITO AS, NOBRE FV, FONSECA JRR. Bovinocultura leiteira: informações técnicas e de gestão [Internet]. Natal: SEBRAE/RN; 2009 Dec 01 [cited 2016 Feb 11]. Available from:[http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/59F7F0013C0E7280832576EB00692AFE/\\$File/NT00043CA6.pdf](http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/59F7F0013C0E7280832576EB00692AFE/$File/NT00043CA6.pdf). Portuguese.
20. SANTOS MV, FONSECA LFL. Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite. 1nd ed. Barueri: Manole; 2007. p. 314. Portuguese.
21. VIANNA PCB, MAZAL G, SANTOS MV, BOLINI HMA, GIGANTE ML. Microbial and sensory changes throughout the ripening of Prato cheese made from milk with different levels of somatic cells. *Journal of Dairy Science*. 2008; 91:1743-1750.
22. NAJAFI NM, MORTAZAVI SA, KOOCHEKI A, KHORAMI J, REKIK B. Fat and protein contents, acidity and somatic cell counts in bulk milk of Holstein cows in the Khorosan Razavi Province, Iran. *International Journal of Dairy Technology*. 2009; 62:19-26.
23. HANUŠ O, VEGRICHT J, FRELICH J, MACEK A, BJELKA M, LOUDA F, JANŮ L. Analysis of raw milk quality according to free fatty acid contents in the Czech Republic. *Czech Journal Animal Science*. 2008; 53(1):17-30.
24. MACHADO PF, PEREIRA AR, SARRIÉS GA. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2000; 29(6):1883-1886.
25. BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal-RIISPOA. Decreto 30.691 de 29 de março de 1952. 952 art. 133 p. 1952. Portuguese.
26. Harmon RJ. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *Journal of Dairy Science*. 1994;77(7):2103-2112.
27. MAZAL G, VIANNA PCB, SANTOS MV, GIGANTE ML. Effect of somatic cell count on prate cheese composition. *Journal of Dairy Science*. 2007; 90:630-636.
28. SABEDOT MA, POZZA MSS, POZZA PC, ALMEIDA RZ, NUNES RV, ECKSTEIN II. Correlação entre contagem de células somáticas, parâmetros microbiológicos e componentes do leite em amostras de leite *in natura*. *Arquivo de Ciência Veterinária e Zoologia*. UNIPAR. 2011;14(2):101-106.
29. MATIOLI GP, PINTO SM, DE ABREU LR, XAVIER L, TEIXEIRA LAM. Influência do leite proveniente de vacas mastísticas no rendimento do queijo minas frescal. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*. 2000; 54(313): 38-45.
30. SILVA LFP, PEREIRA AR, MACHADO PF, SARRIÉS GA. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite II – lactose e sólidos totais. *Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science*. 2000;37(4):330-333.
31. REIS LG, ALVES AA, LANA AMQ, COELHO SG, SOUZA MR, CERQUEIRA MMOP, PENNA CFAM, MENDES EDM. Procedimentos de coleta de leite cru individual e sua relação com a composição físico-química e a contagem de células somáticas. *Revista Ciência Rural Brasileira*. 2007;37(4):1134-1138.
32. LIMA MCG, SENA MJ, MOTA RA, MENDES ES, ALMEIDA CC, SILVA RPPE. Contagem de células somáticas e análises físico-químicas e microbiológicas do leite cru tipo C produzido na região agreste do estado de Pernambuco. *Arquivos do Instituto Biológico*. 2006;73(1):89-95.

33. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 07, de 03 de maio de 2016. Altera a Instrução Normativa MAPA nº 62 de 2011, que altera o caput, exclui o parágrafo único e insere os §§ 1º ao 3º, todos do art. 1º, da Instrução Normativa MAPA nº 51, de 18 de setembro de 2002. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 04 de maio de 2016. Seção 1. Portuguese.
34. VIOTTO WH, CUNHA CR. Teor de sólidos do leite e rendimento industrial. In: ALBENONES JM, DÜRR JW, COELHO KO. Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil. 1nd ed. Goiânia: Talento Gráfica e Editora; 2006. p. 241-258. Portuguese.
35. OKELLO-UMA I, MARSHALL VME. Influence of mastitis on growth of starter organisms used for the manufacture of fermented milks. *Journal of Dairy Research*. 1986; 53:631-637.
36. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 46 de 23 de outubro de 2007. Regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 24 out. 2007. Seção I, p.5. Portuguese.
37. TAMIME AY, ROBINSON R K. *Yogurt: Science and Technology*. 2 st ed. New York: CRC. Press; 2007. 791p.
38. MARTINÉZ C, BECERRA M, CHÁFER M, ALBORS A, CAROT JM, CHIRALT A. Influence of substituting milk powder for whey powder on yogurt quality. *Trends Food Science and Technology*. 2002;13(9):334-340.
39. GALLINA DA, ALVES ATS, TRENTO FKHS, CARUSI J. Caracterização de leites fermentados com e sem adição de probióticos e prebióticos e avaliação da viabilidade de bactérias lácticas e probióticas durante a vida de prateleira. *UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde*. 2011; 13(14):239-244.
40. DONKOR O N, HENRIKSSON A, VASILJEVIC T, SHAH NP. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal*. 2006; 16(10):1181-1189.
41. PIMENTEL TC. Iogurte probiótico com fruta tipo inulina de diferentes graus de polimerização: características físico-químicas e microbiológicas e estabilidade ao armazenamento. *Ciências Agrárias*. 2012; 33(3):1059-1070.
42. LUZ LM, SPRANGOSKI AL, BORTOLOZO EAFQ. Processo de produção de “iogurte de soja” na unidade de produção de alimentos. *Série em Ciência e Tecnologia de Alimentos: Desenvolvimento em Tecnologia de Alimentos*. 2007; 1: 41-46.
43. DAMIN MR, ALCÂNTARA MR, NUNES AP, OLIVEIRA MN. Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium caseinate on acidification kinetics, rheological properties and structure of nonfat stirred yogurt. *Food Science of Technology*. 2009; 42(10):1744-1750.
44. BRANDÃO SCC. Tecnologia da produção industrial de iogurte. *Leite e Derivados*. 1995; 5(25):24-38.
45. FRANÇOISE KA, KABLAN T, KAMENAN A, LAGAÚDE A. Rheological and Biochemical Properties of Acidified Milk/ Pectin Co- Gels. *European Journal of Scientific Research*. 2009; 259(4):584-596.
46. KÜCÜCETIN A. Effect of heat treatment of skim milk and final fermentation pH on graininess and roughness of stirred yogurt. *International Journal of Dairy Technology*. 2008; 61(4):385-390.