

Naiara Milagres Augusto da Silva

**INFLUÊNCIA DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E
DA CONTAGEM BACTERIANA TOTAL DO LEITE CRU
NO RENDIMENTO DA PRODUÇÃO DE QUEIJOS,
UTILIZANDO METODOLOGIA EM ESCALA REDUZIDA**

Dissertação apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal.

Orientador: Leorges Moraes da Fonseca

**Belo Horizonte
Escola de Veterinária da UFMG
2012**

Ficha catalográfica

Assinatura da banca

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e à minha irmã, pelo amor, exemplo e apoio em todos os momentos da minha vida.

Ao Gustavo, meu amor, por vibrar comigo em todas as minhas conquistas.

Ao Prof. Leorges Moraes da Fonseca, pela orientação, pelo apoio e incentivo durante esta fase de amadurecimento pessoal e profissional.

Aos professores do DTIPOA, por me servirem de exemplo e despertarem em mim o gosto pela pesquisa.

Aos colegas da pós-graduação, pelos momentos de descontração e, em especial, ao Luiz Paulo e à Dalila, por compartilharem comigo as alegrias e as dificuldades do Mestrado.

Aos funcionários do DTIPOA e do LabUFMG, por serem tão prestativos.

Ao Danilo, pela ajuda com a análise estatística e por ser tão paciente.

À Capes, pelo apoio financeiro para o desenvolvimento das minhas atividades acadêmicas.

Ao CNPq (Projeto 578736/2008-0) e à FAPEMIG pelo apoio financeiro.

“O saber é a razão de ser da existência do homem na terra, a primeira e última de suas tarefas. Faça com que o estímulo de consegui-lo vibre em você permanentemente, porque nele está a verdadeira finalidade de sua vida”.

(Da Logosofia)

SUMÁRIO

<u>1.</u> Introdução	15
<u>2.</u> Revisão de literatura.....	15
2.1 Composição do leite	15
2.1.1 Gordura	16
2.1.2 Compostos nitrogenados	17
2.1.3 Lactose	18
2.1.4 Minerais.....	18
2.1.5 Vitaminas	18
2.2 pH e acidez titulável.....	18
2.3 Índice crioscópico	18
2.4 Contagem de células somáticas.....	19
2.5 Análise da composição do leite e CCS por equipamentos eletrônicos.....	20
2.6 Contagem bacteriana.....	21
2.6.1 Micro-organismos mesófilos.....	22
2.6.2 Micro-organismos psicrotróficos	23
2.6.3 Micro-organismos termodúricos	23
2.7 Contagem bacteriana no leite por equipamentos eletrônicos	23
2.8 Qualidade do leite e o rendimento de queijos	24
<u>3.</u> Material e métodos.....	28
3.1 Caracterização das amostras de leite cru.....	28
3.2 Produção de queijos em escala reduzida	29
3.3 Avaliação do rendimento do leite na fabricação do queijo	30
3.4 Análise estatística.....	30
<u>4.</u> Resultados e discussão	30
4.1 Composição físico-química, CCS e CBT do leite cru.....	30
4.2 Composição físico-química, CCS e CBT do soro de queijo	32
4.3 Rendimento de massa seca.....	35
4.4 Avaliação do rendimento pela retenção de componentes sólidos na massa dos queijos...	36
4.5 Comparação entre o rendimento calculado pelo método em escala reduzida e o rendimento teórico	37
<u>5.</u> Conclusões	37
<u>6.</u> Referências bibliográficas.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Teor de componentes, de acordo com a contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT), do leite cru utilizado para a produção dos queijos	31
Tabela 2 – Contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) do leite cru utilizado para a produção dos queijos	31
Tabela 3 - Índice crioscópico e pH, de acordo com a contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT), do leite cru utilizado para a produção dos queijos	31
Tabela 4 - Índice crioscópico (°C), de acordo com a contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT), do leite cru utilizado na produção dos queijos	32
Tabela 5 - pH do leite cru adicionado de ácido acético, de acordo com a contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT).....	32
Tabela 6 - Teor de gordura, proteína e lactose do soro obtido da produção dos queijos, de acordo com a contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) do leite cru...	33
Tabela 7 - Teor de EST e ESD no soro obtido da produção dos queijos, de acordo com a contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) do leite cru	33
Tabela 8- Comparação de médias de teor de EST (g/100mL) do soro de queijo, nas diferentes faixas de contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT)	35

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Requisitos físico-químicos para o leite cru refrigerado	16
Quadro 2 - Contagem de células somáticas permitida para o leite cru refrigerado.....	20
Quadro 3 - Requisitos microbiológicos para o leite cru refrigerado	22
Quadro 4 - Rendimento médio para a produção de algumas variedades de queijos no Brasil....	24
Quadro 5 - Alterações na composição do leite associadas com CCS alta.....	26
Quadro 6 – CCS e CBT das amostras de leite cru utilizadas para a produção dos queijos.....	28
Quadro 7 - Distribuição das amostras de leite cru de acordo com a faixa de CCS e CBT.....	28

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Proteína total e proteína verdadeira (g/100mL) do soro obtido na produção dos queijos em escala reduzida, de acordo com a CCS do leite cru	34
Figura 2 - <i>Scatter plot</i> do conteúdo de lactose do leite cru e do soro, de acordo com a contagem de células somáticas (CCS) do leite cru	35
Figura 3 - Teor de proteína do leite cru (g/100mL) e rendimento de massa seca (%) dos queijos produzidos a partir de leites com diferentes contagens de células somáticas (CCS)	36
Figura 4 - Rendimento teórico baseado em matéria seca após a coagulação do leite cru	37

RESUMO

A importância da avaliação da qualidade do leite cru tem se tornado cada vez maior para a indústria de laticínios, como forma de estimar o rendimento industrial. Este trabalho teve como objetivo verificar a influência da contagem de células somáticas (CCS) e da contagem bacteriana total (CBT) do leite cru no rendimento de queijos, utilizando método em escala reduzida desenvolvido na Universidade de Cornell (EUA). Foram utilizadas 270 amostras de leite cru adicionadas de conservante Bronopol com três níveis de CCS (abaixo de 200.000, 200.000-750.000 e acima de 750.000 CS/mL) e três níveis de CBT (abaixo de 100.000, 100.000-750.000 e acima de 750.000 UFC/mL). As amostras de leite cru foram submetidas a análises de composição (gordura, proteína, lactose, extrato seco total (EST) e extrato seco desengordurado (ESD), CCS, CBT, crioscopia e pH). A produção dos queijos foi feita em escala reduzida e as amostras de soro de queijo foram submetidas a análises de composição (gordura, proteína total, proteína verdadeira, lactose, EST e ESD) e CCS. O aumento da CCS no leite cru foi correlacionado à menor retenção de proteína na massa dos queijos e ao aumento das perdas de proteína no soro. CCS elevada (acima de 200.000 CS/mL) foi correlacionada com a redução dos teores de lactose no soro e redução do rendimento de massa seca. Não houve interferência da CBT no rendimento dos queijos produzidos nas condições experimentais utilizadas. Foi encontrada uma correlação alta entre os valores teóricos de rendimento e os valores de rendimento preditos pela metodologia em escala reduzida, indicando que esta metodologia pode ser utilizada para a predição do rendimento de queijos.

Palavras-chave: leite, soro de queijo, CCS, CBT, rendimento

ABSTRACT

The evaluation of raw milk quality has become increasingly important for the dairy industry as a way to estimate milk yield. The aim of this study was to evaluate the influence of somatic cell count (SCC) and total bacteria count (TBC) of raw milk on cheese yield, using a small-scale method developed in Cornell University (USA). A total of 270 samples of raw milk added with Bronopol preservative were used. The samples were distributed in three SCC levels (below 200,000; 200,000-750,000 and above 750,000 SC/mL) and three TBC levels (below 100,000; 100,000-750,000 and above 750,000 CFU/mL). The raw milk samples were submitted to composition analysis (fat, protein, lactose, total solids and solids non fat (SNF), SCC, TBC, freezing point and pH). Cheeses were produced in small scale and cheese whey samples were submitted to compositional analysis (fat, total protein, true protein, lactose, total solids and SNF) and SCC. The SCC increase of raw milk was correlated to decreased protein retention in cheese. High SCC (above 200,000 SC/mL) was correlated to lower levels of lactose in cheese whey and lower dry matter yield. There was no effect of TBC in cheese yield in the experimental conditions used. The small scale method presented a high correlation between the theoretical and predicted yield values, indicating its ability for cheese yield prediction.

Keywords: milk, cheese whey, SCC, TBC, cheese yield

1. Introdução

O Brasil é o quinto maior produtor mundial de leite, perdendo em termos de volume produzido somente para os Estados Unidos, a Índia, a China e a Rússia. A produção de leite em 2009 foi de 29 milhões de toneladas, o que correspondeu a 5% do volume total produzido no mundo (EMBRAPA, 2011). Durante as últimas décadas, houve um grande crescimento da produção de leite no Brasil e a produtividade do país, por exemplo, passou de 676 litros/vaca/ano em 1980 para 1.326 litros/vaca/ano em 2010 (IBGE, 2011).

Com o crescimento da produção de leite no Brasil, tornou-se necessário incentivar o aumento do consumo de leite e de seus derivados, bem como expandir a venda dos produtos brasileiros para novos mercados, via exportação. Para que essas necessidades fossem atendidas, se fez necessário atender à principal demanda do mercado, que é por produtos de qualidade e que não ofereçam riscos ao consumidor. A modernização da cadeia produtiva do leite tem como base a melhoria da qualidade do leite cru, que foi impulsionada com a publicação da Instrução Normativa nº 51 (BRASIL, 2002b).

Os principais elementos que definem a qualidade do leite são: os macrocomponentes (gordura, proteína e lactose), a contagem de células somáticas (CCS), a contagem bacteriana, a presença de adulterantes (água, resíduos de antimicrobianos e substâncias químicas), a qualidade sensorial (odor, sabor e aspecto) e a temperatura (MONARDES, 1998).

O rendimento industrial do leite e a qualidade dos produtos finais são as principais preocupações das indústrias produtoras de queijo, por influenciarem diretamente as perdas ou os ganhos econômicos (HICKS *et al.*, 1986). Segundo SOUSA *et al.* (2007), o leite de má

qualidade gera custos adicionais à produção de lácteos, quando comparados com os custos esperados no processamento de uma matéria-prima que atenda aos parâmetros físico-químicos e microbiológicos adequados para cada produto. Estes custos adicionais se devem à queda no rendimento, às dificuldades no processamento e à perda de produto final, além de impossibilitar a fabricação de produtos de maior valor agregado.

Desse modo, a importância de se monitorar a qualidade do leite, por meio da composição, CCS e contagem bacteriana total (CBT), tem se tornado cada vez maior para a indústria de laticínios, como forma de se estimar o rendimento industrial do leite na produção de queijo.

Neste contexto, os objetivos deste trabalho foram verificar a influência da CCS e da CBT do leite cru no rendimento de queijos, utilizando um método em escala reduzida; adaptar o método em escala reduzida, desenvolvido na Universidade de Cornell (EUA), para avaliação do rendimento de queijos nacionais e avaliar o rendimento de queijos produzidos a partir de leite contendo diferentes faixas de CCS e de CBT.

2. Revisão de literatura

2.1 Composição do leite

Entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 1952).

Segundo RIEL (1991), o leite é um sistema coloidal constituído por uma solução aquosa de lactose, sais minerais e outros elementos, em que a proteína se encontra em suspensão e a gordura em forma de emulsão.

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado (BRASIL, 2011), o leite cru

refrigerado deve obedecer a requisitos físico-químicos mínimos, conforme apresentado no Quadro 1.

Requisitos	Limites
Matéria gorda	Teor original, mínimo de 3g/100g
Densidade relativa	1,028 a 1,034
Acidez titulável	0,14 a 0,18g ácido láctico/100mL
Extrato seco desengordurado	Mínimo de 8,4g/100g
Índice crioscópico	-0,530°H a -0,550°H (-0,512°C a -0,531°C)
Proteínas	Mínimo de 2,9g/100g

Quadro 1 - Requisitos físico-químicos para o leite cru refrigerado

(Fonte: Adaptado de BRASIL, 2011)

Segundo HARDING (1995), o leite contém em média 87,4% de água e 12,6% de extrato seco total (EST) ou sólidos totais. A fração de sólidos totais contém 4,6% de lactose, 3,9% de gordura, 3,2% de proteína e 0,9% de minerais e vitaminas. Esta composição varia entre espécies diferentes, dentro de cada espécie e individualmente devido a fatores como nutrição, estresse, reprodução, estágio de lactação, idade, ocorrência de doenças infecciosas e mudanças ambientais.

A porcentagem de componentes do leite geralmente é inversamente proporcional ao volume de leite produzido. Quanto maior a produção leiteira, menor é o teor percentual de gordura, proteínas e minerais no leite (BEHMER, 1999). Além disto, animais melhorados geneticamente ou selecionados para maior produção de sólidos do leite podem contribuir para uma melhor qualidade do leite (CARVALHO, 1995).

ALVES (2006) avaliou os efeitos da variação sazonal na qualidade do leite e observou que, entre os macro-componentes do leite, os que apresentaram os teores com a menor variação sazonal em relação à média foram lactose e proteína, e o de maior variação foi a gordura.

2.1.1 Gordura

A gordura é o componente de maior variabilidade no leite e ocorre, geralmente, na concentração de 3 a 5%. Esta porcentagem é bastante influenciada por fatores genéticos, fisiológicos e ambientais, como raça, período de lactação, idade, manejo nutricional, temperatura, entre outros (RIEL, 1991).

Segundo CARVALHO (1999), alguns fatores que aumentam a porcentagem de gordura no leite são os teores adequados de fibra na dieta e o fornecimento de ração completa em comparação ao fornecimento do concentrado separado do volumoso. Entre os fatores que levam a uma redução na concentração de gordura no leite o autor cita o fornecimento de alimentos muito moídos ou de rápida degradação no rúmen, dietas úmidas (com mais de 50% de umidade), mudanças bruscas na dieta, sem adaptação prévia, estresse térmico e falta de conforto. O aumento do concentrado eleva a produção de ácidos graxos ruminais, levando à redução do pH do rúmen. Quando o pH fica inferior a 6,0, a degradação de fibra é bastante prejudicada, e observa-se um aumento na produção de ácido propiônico, acompanhado da diminuição da produção de ácido acético, que é o principal precursor da gordura do leite.

De acordo com HURLEY (2006), acréscimos no volume de produção de leite são geralmente acompanhados por redução na concentração de gordura e proteína do leite. Assim, os teores destes componentes são mais elevados no início e no final da lactação e mais baixos no pico de produção.

A estrutura básica principal da molécula de gordura envolve a esterificação de três moléculas de ácidos graxos com uma molécula de glicerol, para formar o triglicerídeo. Os ácidos graxos da gordura láctea são ácidos orgânicos de cadeia curta ou longa, saturados ou insaturados, o que afeta o valor nutricional da gordura, a qualidade e as características dos produtos elaborados a partir desta (HARDING, 1995). Segundo VARNAM e SUTHERLAND (1994), os triglicerídeos correspondem a 98% da gordura do leite, em que podem ser encontrados também monoglicerídeos, diglicerídeos, fosfolipídeos, cerebrosídeos, ácidos graxos livres e esteróis.

2.1.2 Compostos nitrogenados

Os compostos nitrogenados do leite são representados pelas proteínas e pelos compostos nitrogenados não protéicos, como aminoácidos, uréia, creatina, creatinina, ácido úrico, entre outros.

A proteína é o constituinte mais valioso do leite em relação à sua importância na nutrição humana e suas propriedades para a indústria de laticínios. A proteína é um composto orgânico de alto peso molecular, contendo em sua estrutura carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e enxofre, que formam os aminoácidos. As moléculas de proteína são compostas por longas cadeias de aminoácidos ligados entre si por ligações peptídicas (HARDING, 1995). O teor de proteína do leite está relacionado à produção de proteína microbiana no rúmen, que é dependente da disponibilidade de carboidratos no rúmen, e/ou de aminoácidos

essenciais absorvidos no intestino (CARVALHO, 1999).

O leite é constituído basicamente de duas frações de proteínas: as caseínas (α , β e κ -caseínas) que representam 80% do total de proteínas do leite, e as proteínas do soro, que representam os 20% restantes (VARNAM e SUTHERLAND, 1994). A α -caseína e a β -caseína são fosfoproteínas com cinco a 13 resíduos de fosfato sérico por molécula, enquanto a κ -caseína se difere das demais por ser uma glicoproteína (MUIR, 1996). As proteínas do soro englobam a α -lactalbumina, a β -lactoglobulina, a soroalbumina, imunoglobulinas, lactoferrina e lisozima.

A caseína apresenta alta qualidade nutricional e é muito importante na fabricação dos queijos. Ela é produzida pelas células secretoras da glândula mamária e se encontra organizada na forma de micelas, que são agrupamentos de várias moléculas de caseína junto com cálcio, fósforo e outros minerais (SGARBIERI, 2004).

As caseínas do leite são concentradas na massa do queijo durante a coagulação. A sua proporção em relação ao total de proteínas é variável por efeito da genética animal ou de fatores fisiológicos (COULON *et al.*, 1998).

O leite possui ainda uma fração de nitrogênio não protéico (NNP), constituindo cerca de 5% da proteína bruta do leite, composto principalmente de uréia (aproximadamente 48%) e em menor quantidade de creatinina, amônia e outros compostos nitrogenados (DE PETERS e FERGUSON, 1992).

Segundo HARDING (1995), o teor de proteína do leite tem sido cada vez mais usado como parâmetro em programas de pagamento por qualidade, devido à importância nutricional e econômica deste

componente, e auxiliado pela maior disponibilidade e aperfeiçoamento de métodos instrumentais rápidos de determinação do teor de proteína no leite.

2.1.3 Lactose

A lactose é um dissacarídeo formado por uma molécula de α -D-glicose e uma de β -D-galactose; é um açúcar redutor, por possuir em sua estrutura um grupo aldeído no resíduo de glicose (VARNAM e SUTHERLAND, 1994).

O conteúdo de lactose no leite se mantém em torno de 4,5 a 5,0% e este é o principal carboidrato do leite da maioria dos mamíferos. A lactose tem um importante papel na síntese do leite, por apresentar a principal contribuição na pressão osmótica, atraindo água para as células epiteliais mamárias. Portanto, a baixa amplitude de variação do teor de lactose no leite se deve ao fato da lactose estar relacionada à regulação da pressão osmótica na glândula mamária, de forma que a maior produção de lactose está correlacionada com maior produção de leite (GONZÁLEZ *et al.*, 2001).

2.1.4 Minerais

Segundo VARNAM e SUTHERLAND (1994), o leite é uma excelente fonte de minerais, sendo que os mais importantes são os bicarbonatos, os cloretos e os citratos de cálcio, magnésio, potássio e cloro. A distribuição de cálcio, citrato, magnésio e fosfato entre as fases solúvel e coloidal e suas interações com as proteínas do leite exercem grande influência sobre a estabilidade do leite e dos produtos lácteos.

O leite está em equilíbrio osmótico com o sangue e a pressão osmótica do leite, em função do conteúdo de lactose, sódio, potássio e cloro favorece a entrada de água na célula epitelial mamária para formar o

leite e controla, em parte, o volume de leite produzido (GONZÁLEZ *et al.*, 2001).

2.1.5 Vitaminas

O leite é uma fonte importante de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e de vitaminas hidrossolúveis, como a vitamina C e as vitaminas do complexo B (ácido pantotênico (B5), niacina (B3), biotina (B8) e ácido fólico (B9) (VARNAM e SUTHERLAND, 1994). As vitaminas hidrossolúveis são muito estáveis durante o processamento do leite, porém a riboflavina (vitamina B2) é extremamente sensível e é degradada pela ação da luz ou de microondas (GOFF e HILL, 1993).

2.2 pH e acidez titulável

O pH do leite recém ordenhado de uma vaca sadia é levemente ácido e varia de 6,4 a 6,8. Este parâmetro pode ser usado como um indicador da qualidade do leite, uma vez que nos casos graves de mastite, por exemplo, o pH pode chegar a 7,5 e, na presença de colostro, pode cair a 6,0 (VENTURINI *et al.*, 2007).

Diferentemente do pH, a acidez do leite, expressa em graus Dornic ($^{\circ}$ D), é determinada pela quantidade de ácido láctico presente e o leite possui acidez natural que varia de 14 a 16 $^{\circ}$ D. Com a multiplicação bacteriana no leite, a acidez pode se elevar a níveis acima de 18 $^{\circ}$ D, em função da transformação de lactose em ácido láctico pelo metabolismo das bactérias. Outros componentes do leite também interferem neste parâmetro, entre eles, os citratos, os fosfatos e as proteínas (FONSECA e SANTOS, 2000).

2.3 Índice crioscópico

O índice crioscópico ou crioscopia é a medida do ponto de congelamento do leite ou da depressão do ponto de congelamento do leite em relação ao da água. A

temperatura de congelamento do leite é mais baixa do que a da água devido ao efeito das substâncias nele dissolvidas, principalmente a lactose e os sais minerais. O ponto de congelamento máximo do leite aceito pela legislação brasileira é $-0,512^{\circ}\text{C}$ (ou $-0,530^{\circ}\text{H}$) (BRASIL, 2011) e este parâmetro é usado para detectar a adulteração do leite por adição de água. Quando se adiciona água ao leite, o ponto de congelamento aumenta, ou seja, se aproxima do ponto de congelamento da água (0°C).

O ponto de congelamento do leite de animais de uma mesma espécie pode apresentar ligeira variação, mas o de um conjunto de animais tenderá a se aproximar do valor médio esperado para a espécie. Alguns fatores podem levar a variações na concentração dos constituintes do leite e, desta forma, influenciar no valor de crioscopia do leite. Entre esses fatores, citam-se: estação do ano, idade, estado de saúde e raça das vacas, acesso à água, alimentação, temperatura ambiente e hora da ordenha (TRONCO, 1997).

2.4 Contagem de células somáticas

A CCS do leite tem sido usada como ferramenta para monitorar mastites em rebanhos bovinos leiteiros. A mastite é uma reação inflamatória do tecido mamário, geralmente em resposta a uma infecção, caracterizada por um influxo de glóbulos brancos, que são as células de defesa do sangue, na glândula mamária, acompanhado por um aumento de proteases endógenas no leite (VERDI *et al.*, 1987).

Vários fatores podem influenciar na CCS de vacas em lactação, como idade, ordem de parto, período de lactação, mês e estação do ano, entre outros. Porém, o estado de infecção é o principal fator responsável pela variação da CCS (HARMON, 1994).

Na glândula mamária sadia, as células somáticas são representadas por macrófagos, linfócitos, neutrófilos e células epiteliais secretoras (PHILPOT e NICKERSON, 2002). As células epiteliais, oriundas da descamação do tecido de revestimento e secretor interno da glândula mamária, correspondem de 2% a 25% do total de células somáticas, enquanto que os leucócitos, que têm a função de englobar e fagocitar os micro-organismos invasores, correspondem de 75% a 98% do total de células somáticas do leite. O aumento da CCS do leite nos casos de mastite se dá pela maior passagem de leucócitos do sangue para a glândula mamária, aliada à maior descamação (RIBAS, 1999).

Estudos têm sido realizados mostrando valores limites para classificar a glândula mamária como saudável ou infectada em relação à CCS (HARMON, 2001; SCHÄLLIBAUM, 2001; BEAUDEAU *et al.*, 2002). Nesse contexto, HARMON (2001) afirma que para o leite individual a CCS normal, geralmente, está abaixo de 200.000 CS/mL, mas pode ser inferior a 100.000 CS/mL em vacas de primeira lactação. Assim, uma elevação acima de 200.000 CS/mL seria considerada anormal e um indicativo de inflamação do úbere.

Em animais infectados, as células somáticas predominantes são os leucócitos, como macrófagos e neutrófilos. Estas células migram da corrente sanguínea para a glândula mamária, em resposta a uma variedade de mediadores inflamatórios, para fagocitar e eliminar patógenos. Os macrófagos aparecem em menor número do que os neutrófilos durante o quadro de mastite, mas também têm a importante função de fagocitose, além de secretar substâncias que facilitam a migração e a atividade bactericida dos neutrófilos (SORDILLO e STREICHER, 2002).

Legalmente, os países impõem limites máximos para a CCS do leite dos rebanhos.

Nos Estados Unidos, esse limite é de 750.000 CS/mL para o leite de tanque (FDA, 1991); no Canadá, permite-se até 500.000 CS/mL (NDC, 1997); na União Européia, Nova Zelândia e Austrália, o valor máximo aceito é 400.000 CS/mL

(HEESCHEN, 1997). No Brasil, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado (BRASIL, 2011) estabelece os limites máximos para CCS no leite cru refrigerado, conforme apresentado no Quadro 2.

Vigência	Limites
A partir de 01/07/2008 até 31/12/2011 (Regiões S/SE/CO) A partir de 01/07/2010 até 31/12/2012 (Regiões N/NE)	750.000 CS/mL
A partir de 01/01/2012 até 30/06/2014 (Regiões S/SE/CO) A partir de 01/01/2013 até 30/06/2015 (Regiões N/NE)	600.000 CS/mL
A partir de 01/07/2014 até 30/06/2016 (Regiões S/SE/CO) A partir de 01/07/2015 até 30/06/2017 (Regiões N/NE)	500.000 CS/mL
A partir de 01/07/2016 (Regiões S/SE/CO) A partir de 01/07/2017 (Regiões N/NE)	400.000 CS/mL

Quadro 2 - Contagem de células somáticas permitida para o leite cru refrigerado
(Fonte: Adaptado de BRASIL, 2011)

A Instrução Normativa nº 62, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, publicada no final de 2011, alterou os prazos e limites estabelecidos para a CCS no leite, inicialmente determinados pela Instrução Normativa nº 51 (BRASIL, 2002a). A intenção continua sendo a melhoria da qualidade do leite produzido no Brasil, porém são necessárias ações de orientação aos produtores, acompanhadas de financiamentos específicos para o setor e de treinamento dos agricultores, para assegurar as condições sanitárias adequadas do rebanho e permitir que a maioria dos produtores brasileiros possa atender aos requisitos legais.

No Brasil, a CCS é, juntamente com a CBT, um dos parâmetros do leite cru mais frequentemente em desacordo com a legislação. LIMA (2005) avaliou a qualidade do leite cru produzido na Zona da Mata, Minas Gerais, captado por estabelecimentos sob inspeção estadual e observou que a porcentagem de amostras

com CCS que atendia aos padrões legais foi 84%.

A mastite causa perdas econômicas pela redução da produção leiteira (RAUBERTA e SHOOK, 1982). Segundo KORHONEN e KAARTINEN (1995), contagens acima de 250.000 CS/mL já resultam em perdas econômicas, devido à perda de produção e qualidade. Esses prejuízos são ainda maiores à medida que a CCS aumenta.

2.5 Análise da composição do leite e CCS por equipamentos eletrônicos

A utilização de equipamentos eletrônicos para análises rápidas tem sido uma alternativa para facilitar o controle leiteiro e a avaliação da qualidade do leite. Para a determinação dos componentes do leite (gordura, proteína, lactose e EST) são utilizados os analisadores rápidos de infravermelho, método de análise prático e econômico, pela possibilidade de se analisar

um grande número de amostras (BARBANO e CLARK, 1989).

O princípio fundamental de todos os analisadores de infravermelho baseia-se na capacidade de absorção de radiação em diferentes comprimentos de ondas, dos grupos químicos específicos de alguns componentes do leite como gordura, proteína e lactose (BIGGS, 1987).

Dentre os equipamentos, utilizados, encontra-se o equipamento eletrônico CombiScope FTIR 400[®] (Delta Instruments; Drachten, Holanda), que oferece uma análise rápida e precisa de vários componentes e CCS do leite. Este analisador eletrônico é composto por um equipamento de tecnologia FTIR (Fourier Transform Infrared Technology) para análise composicional e um equipamento baseado em citometria de fluxo para a quantificação rápida e precisa de células somáticas no leite cru. Com o CombiScope FTIR 400[®] a quantidade de gordura, proteína, lactose, EST, além de outros componentes é determinada automaticamente, ao mesmo tempo em que é feita a contagem de células somáticas presentes na amostra.

Para a análise, a amostra de leite é previamente aquecida a 40°C e agitada. Para análise composicional, a amostra recebe irradiação do feixe de luz infravermelha e a diferença de energia absorvida entre a amostra a ser analisada e a amostra de referência é captada por um detector de infravermelho e quantificada, sendo transformada em teores de componentes de acordo com calibração prévia (DELTA..., 2008).

2.6 Contagem bacteriana

Segundo FRAZIER (1993), o leite é um excelente meio de cultura para micro-organismos nele existentes devido ao seu elevado teor de água, gordura, lactose, minerais, enzimas e vitaminas e o seu pH próximo da neutralidade.

O leite, ao ser sintetizado e secretado nos alvéolos da glândula mamária, é estéril. No entanto, ao ser retirado, manuseado e armazenado pode se contaminar com micro-organismos originários do interior da glândula mamária, da superfície dos tetos e do úbere, de utensílios, como os equipamentos de ordenha e de armazenamento e de várias fontes do ambiente da fazenda. Esta contaminação pode incluir tanto micro-organismos patogênicos quanto deterioradores (BRITO e BRITO, 1998).

Ainda, segundo BRITO e BRITO (1998), a contaminação microbiana prejudica a qualidade do leite, interfere na industrialização, reduz o tempo de prateleira do leite fluido e dos derivados lácteos e pode colocar em risco a saúde do consumidor. O estado de saúde e higiene da vaca, o ambiente do estábulo e da sala de ordenha e os procedimentos usados para limpeza e desinfecção dos equipamentos de ordenha, tanque de refrigeração e utensílios que entram em contato com o leite, são importantes para controlar a contaminação microbiana do leite cru. Além desses fatores, a temperatura e o período de armazenamento do leite também influenciam na carga microbiana.

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite Cru Refrigerado (BRASIL, 2011) estabelece os parâmetros microbiológicos para o leite cru refrigerado, conforme apresentado no Quadro 3.

Vigência	Limites
A partir de 01/07/2008 até 31/12/2011 (Regiões S/SE/CO)	750.000 UFC/mL
A partir de 01/07/2010 até 31/12/2012 (Regiões N/NE)	
A partir de 01/01/2012 até 30/06/2014 (Regiões S/SE/CO)	600.000 UFC/mL
A partir de 01/01/2013 até 30/06/2015 (Regiões N/NE)	
A partir de 01/07/2014 até 30/06/2016 (Regiões S/SE/CO)	300.000 UFC/mL
A partir de 01/07/2015 até 30/06/2017 (Regiões N/NE)	
A partir de 01/07/2016 (Regiões S/SE/CO)	100.000 UFC/mL
A partir de 01/07/2017 (Regiões N/NE)	

Quadro 3 - Requisitos microbiológicos para o leite cru refrigerado

(Fonte: Adaptado de BRASIL, 2011)

Tendo em vista as dificuldades enfrentadas pelos produtores de leite para a adequação aos limites estabelecidos na Instrução Normativa nº 51 (BRASIL, 2002a), o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento publicou em 2011 a Instrução Normativa nº 62, que adia a mudança nos limites microbiológicos estabelecidos para o leite cru refrigerado. Se adotadas de imediato, grande parte dos produtores brasileiros estaria fora do padrão de qualidade estabelecido pela legislação.

A CBT é uma ferramenta importante para auxiliar no controle da qualidade do leite, já que fornece um perfil geral de todo o processo de ordenha, da saúde do úbere e do armazenamento e da coleta do leite (FONSECA *et al.*, 1999).

A CBT mede a carga microbiana do leite, que depende da carga bacteriana inicial e da taxa de multiplicação dos micro-organismos. O leite recém ordenhado de animais sem infecção na glândula mamária apresenta baixa CBT. A carga bacteriana inicial é influenciada pela limpeza e desinfecção da pele dos tetos e do úbere, da limpeza dos utensílios e equipamentos de ordenha e do tanque de resfriamento e da qualidade da água usada nesses procedimentos. A multiplicação de micro-

organismos vai depender da temperatura que o leite é mantido após a ordenha, do tempo de resfriamento e armazenamento (PICININ *et al.*, 2001). O desafio é, portanto, manter o leite com baixa CBT durante a ordenha, o resfriamento e o transporte, até o seu processamento na indústria.

Segundo FONSECA *et al.* (2008), a composição e a contagem bacteriana do leite cru refrigerado são influenciadas pelas variações sazonais e regionais, com aumento significativo da CBT durante o verão. Além disto, observa-se que a contagem bacteriana do leite ainda é um dos principais fatores que fogem do padrão de qualidade estabelecido pela legislação em vigor.

2.6.1 Micro-organismos mesófilos

As bactérias mesofílicas são encontradas no ambiente de permanência dos animais, como cama, solo e lama, e se multiplicam bem na faixa de temperatura de 20 a 40°C (PASSOS, 2003). São exemplo de bactérias mesofílicas as bactérias ácido-láticas *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* e *Bifidobacterium*, além dos gêneros *Escherichia* e *Enterobacter*, que

predominam em situações em que há falta de condições básicas de higiene e quando o leite é mantido à temperatura ambiente. As bactérias ácido-láticas mesofílicas atuam fermentando a lactose, produzindo ácido lático, ocasionando a acidificação do leite, o que compromete, dentre outros fatores, o processamento industrial e a qualidade dos produtos finais (ALVES e FONSECA, 2006).

2.6.2 Micro-organismos psicrotróficos

Segundo PASSOS (2003), os micro-organismos psicrotróficos são aqueles capazes de se multiplicar em temperaturas baixas. Predominam em situações em que há deficiência de higiene de ordenha, problemas de limpeza e sanificação do equipamento de ordenha associados com o resfriamento do leite à temperatura entre 5 e 15°C, ou quando o tempo de estocagem é demasiadamente longo (FONSECA *et al.*, 1999). Quando o leite é obtido em condições sanitárias adequadas, a microbiota psicrotrófica geralmente representa menos de 10% da microbiota total do leite fresco, enquanto que em condições sanitárias precárias, pode chegar a representar 75% das bactérias presentes no leite (NIELSEN, 2002).

Os principais gêneros de bactérias psicrotróficas que contaminam o leite são não-patogênicos, como, por exemplo, *Aeromonas*, *Chromobacterium*, *Flavobacterium*, *Lactobacillus* e *Arthrobacter*. Entretanto, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* e *Bacillus cereus* são exemplos de bactérias psicrotróficas associadas com intoxicações alimentares após consumo de leite ou produtos lácteos (BRITO *et al.*, 2005). Os micro-organismos psicrotróficos atuam produzindo enzimas extracelulares termorresistentes como proteases, lipases e fosfolipases, que provocam reações bioquímicas, alterando as características sensoriais como sabor e aroma, o valor

nutritivo e o tempo de prateleira do leite (FONSECA *et al.*, 1999).

2.6.3 Micro-organismos termodúricos

Segundo BRITO *et al.* (2005), as bactérias termodúricas são micro-organismos que resistem à pasteurização por suportarem temperaturas altas porque produzem esporos, que são formas de resistência contra condições adversas. Exemplos de gêneros com capacidade de formação de esporos são *Clostridium* e *Bacillus*. Os esporos são inertes, não apresentam atividade metabólica e não se multiplicam, podendo sobreviver por anos no ambiente. São extremamente resistentes ao calor, necessitando-se, em geral, de 20 minutos a 120°C para poder inativá-los.

A contagem alta de bactérias termodúricas no leite é frequentemente associada com deficiências crônicas ou persistentes de limpeza dos equipamentos de ordenha ou de tetos sujos com lama ou outras sujeiras do solo. Indica, também, possibilidade de rachadura nos componentes de borracha ou presença de depósitos chamados de “pedras de leite” nas tubulações dos equipamentos de ordenha. Como sobrevivem à pasteurização, podem causar problemas no tempo de prateleira do leite, principalmente se as bactérias esporuladas forem psicrotróficas (BRITO *et al.*, 2005).

2.7 Contagem bacteriana no leite por equipamentos eletrônicos

A contagem bacteriana realizada no equipamento eletrônico BactoCount IBC® (Bentley Instruments Incorporated; Chaska, EUA) tem por princípio a citometria de fluxo.

No equipamento, uma alíquota da amostra é aspirada para uma das cavidades de um carrossel circular em rotação, onde é aquecida. Durante a rotação do carrossel, a alíquota da amostra entra em contato com

uma solução de incubação, constituída por reagentes hidrolisantes tamponados, enzimas proteolíticas e marcador fluorescente, para lisar as células somáticas, solubilizar os glóbulos de gordura e as proteínas, tornar a parede bacteriana permeável e corar o DNA bacteriano. O marcador fluorescente, à base de brometo de etídio, se liga rápida e seletivamente na cadeia dupla do ácido nucléico bacteriano. Durante a incubação, a mistura entra em contato com duas sondas ultra-sônicas, visando à quebra de partículas interferentes e o rompimento de aglomerados bacterianos, melhorando a detecção de bactérias individuais e a redução da fluorescência de fundo. A seguir, parte da mistura é transferida para o citômetro de fluxo, onde as bactérias são alinhadas em um tubo capilar e expostas a um raio *laser*, com emissão de fluorescência do DNA corado com brometo de etídio. A fluorescência emitida é coletada por receptores ópticos, filtrada e captada por um foto-multiplicador. Os pulsos são, então, transformados em contagem individual de bactérias e, finalmente, em UFC/mL (unidade formadora de colônia/mL), após transformação estatística automática, baseada em uma curva de calibração previamente elaborada (BENTLEY..., 2002).

Esta transformação é necessária uma vez que os limites legais para CBT, previstos pela Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2011), são estabelecidos em UFC. Isto implica na necessidade de se desenvolver uma equação de correlação entre o método de referência e o de citometria de fluxo, de modo que os resultados expressos em

contagem individual de bactérias sejam transformados em UFC (LEITE, 2006).

2.8 Qualidade do leite e o rendimento de queijos

O rendimento é definido basicamente como a quantidade de queijo, em kg, obtido a partir de 100 kg de leite, para uma determinada variedade, ou como a quantidade de leite, em litros, com a qual se obtém 1 kg de queijo. No entanto, alguns laticínios o definem de acordo com a quantidade de leite, em litros, necessária para a produção de 1000 ton de queijo (LUCEY e KELLY, 1994). No Quadro 4 são apresentadas algumas variedades de queijos e seus respectivos rendimentos médios.

O rendimento do leite na produção de queijos é influenciado por diversos fatores que incluem a composição do leite, o tratamento térmico a que o leite é submetido e o tipo de coagulação do leite (FENELON e GUINEE, 1999) e alguns autores têm se interessado em prever este rendimento do leite (VAN SLYKE e PUBLOW, 1921; EMMONS *et al.*, 1990; MELILLI *et al.*, 2002).

Uma forma de se estimar o rendimento é através da avaliação do teor de componentes retidos na massa do queijo, pela comparação do teor de componentes do leite com o teor de componentes que ainda permaneceram no soro obtido após a fabricação de queijos.

Variedade de queijo	Rendimento	Referência
Minas Frescal	6 a 6,5 litros/ kg	EMATER, 2001
Minas Padrão	8 a 8,5 litros/ kg	EMATER, 2001
Mussarela	9,5 a 10,5 litros/ kg	EPAMIG, 1989
Prato	9 a 10 litros/ kg	EPAMIG, 1989

Quadro 4 - Rendimento médio para a produção de algumas variedades de queijos no Brasil (Fonte: Adaptado de vários autores)

O rendimento teórico de queijos pode ser estimado também pelo teor de gordura, caseína ou proteína do leite, usando, por exemplo, a fórmula de Van Slyke (VAN SLYKE e PUBLLOW, 1921):

$$Y = [(GR \times G) + (CN - 0,1)] \times 1,09 / [1 - (UQ/100)]$$

Na fórmula, *GR* é a porcentagem de gordura recuperada no queijo, *F* é o teor de gordura no leite, *CN* é o teor de caseína no leite, *0,1* é o valor fixo que representa a perda de caseína durante o processo de fabricação do queijo e *UQ* é a umidade do queijo. Esta fórmula foi descrita para o cálculo do rendimento teórico de queijo Cheddar. O fator de correção *1,09* é o fator pelo qual se multiplica a quantidade de gordura e de caseína no queijo para se obter o teor total de sólidos do queijo (gordura, caseína, sais, etc.).

No entanto, em indústrias pequenas, a aferição precisa dos teores de gordura e de caseína do leite usando métodos químicos ou análises por infravermelho acaba sendo bastante demorada e economicamente inviável. Desta forma, foi desenvolvido um teste para predição do rendimento de queijos, usando equipamentos simples, como centrífuga, balança analítica e estufa de circulação forçada, para a fabricação de queijos em escala reduzida, seguida de aferição gravimétrica do rendimento de massa seca (MELILLI *et al.*, 2002).

A fabricação de queijos é um processo de concentração dos componentes do leite, principalmente gordura e proteínas, que são os fatores determinantes do rendimento, influenciando a eficiência e a lucratividade do processo (EMMONS, 1993). A produção de queijos é feita basicamente de dois modos. No primeiro, a renina, uma fosfoproteína de ação proteolítica, presente no estômago de ruminantes jovens é adicionada ao leite e atua hidrolisando ligações peptídicas da caseína, transformando-a em *para-κ*-caseína, que

precipita em presença de íons Ca^{2+} , formando um gel ou coágulo. Este processo é dependente da temperatura, do pH e do teor de cálcio do leite. Outro método de coagulação da caseína consiste na adição de ácido ao leite em quantidade suficiente para igualar o pH do meio ao ponto isoelétrico da proteína (pH 4,5). Neste pH, as micelas de caseína agregam-se e precipitam (PERRY, 2004).

A capacidade de rendimento do leite na produção de queijos é importante para os laticínios. Os teores de caseína e gordura e a sua proporção na composição do leite influenciam o rendimento industrial, então qualquer fator que afete estes componentes irá alterar o rendimento de produção (POLITIS e NG-KWAI-HANG, 1988b).

A qualidade e o rendimento do leite na produção de derivados lácteos estão diretamente relacionados à qualidade da matéria-prima. O resfriamento do leite a 4°C, imediatamente após a ordenha reduz o crescimento de micro-organismos mesófilos, mas a estocagem do leite por longos períodos nessas condições permite a multiplicação de micro-organismos psicotróficos. Esta proliferação tem sido associada com a redução do rendimento industrial na produção de queijos, devido, por exemplo, à atuação das enzimas proteolíticas desses micro-organismos que promovem a degradação da caseína (BERG *et al.*, 1998).

Segundo HICKS *et al.* (1986), o rendimento de queijos é comprometido pela população inicial de psicotróficos no leite e pelo tempo que o leite cru é mantido armazenado. A estocagem do leite sob refrigeração por alguns dias leva à redução de sólidos do queijo e perda de rendimento, relacionados, entre outros fatores, ao aumento da população bacteriana. O menor rendimento do leite na fabricação de queijos pode estar associado à ação de enzimas de bactérias psicotróficas que causam a

proteólise e lipólise. Além disso, observa-se um aumento da retenção de água na massa de queijos fabricados com leite estocado sob refrigeração, colocando-os, frequentemente, em desacordo com os limites legais e reduzindo a qualidade dos queijos produzidos à medida que a população de psicotróficos aumenta.

Segundo LUCEY e KELLY (1994), proteases produzidas por psicotróficos no leite degradam as micelas de caseína liberando produtos solúveis, como polipeptídeos e aminoácidos, que podem ser perdidos no soro ao invés de formarem parte do coágulo, reduzindo o rendimento de queijos.

O rendimento de queijos também pode ser reduzido em função da atividade de enzimas lipolíticas sobre os triglicerídeos com consequente liberação de ácidos graxos no soro e aumento das perdas de gordura (CROMIE, 1992). As perdas econômicas para as indústrias de queijo em função da redução do rendimento provocada pelo crescimento de psicotróficos no leite cru refrigerado podem ser consideráveis (HICKS *et al.*, 1986). As perdas estimadas por YAN *et al.* (1983) foram de, respectivamente, US\$ 5,32; US\$ 1,43 e US\$ 0,74 por 100kg de leite para queijos fabricados a partir de leite

estocado a 7°C por oito dias, 4°C por oito dias e 7°C por seis dias.

CARDOSO (2006) relacionou o rendimento industrial da fabricação de queijo Minas Frescal com a contagem de bactérias psicotróficas no leite cru refrigerado granelizado. Foi estimado um prejuízo mensal associado ao menor rendimento industrial de US\$15.480, para uma indústria de laticínios processadora de 50.000 litros de leite por dia e que destinava 33% do leite captado para a fabricação de queijo Minas Frescal. Isto equivale a um prejuízo anual de US\$185.760.

Outro fator que tem sido correlacionado com a redução do rendimento industrial de leite na produção de queijos é a alta CCS. Durante a mastite ocorrem mudanças da composição e das características funcionais do leite, devido à redução na secreção de componentes do leite que são sintetizados na glândula mamária (como proteína, gordura e lactose) e em função do aumento da permeabilidade vascular, que resulta em um aumento do influxo de componentes do sangue (como proteínas do soro e minerais) (SCHÄELLIBAUM, 2001). Estas modificações estão apresentadas no Quadro 5.

Componente (g/100mL)	Contagem de Células Somáticas (x1000 CS/mL)				Razão da alteração
	<100	<250	500-1000	>1000	
Lactose	4,90	4,74	4,60	4,21	Redução da síntese
Caseína	2,81	2,79	2,65	2,25	
Gordura	3,74	3,69	3,51	3,13	
Proteínas do soro	0,81	0,82	1,10	1,31	Passagem do sangue
Cloro	0,091	0,096	0,121	0,147	
Sódio	0,057	0,062	0,091	0,105	
Potássio	0,173	0,180	0,135	0,157	

Quadro 5 - Alterações na composição do leite associadas com CCS alta

(Fonte: Adaptado de SCHÄELLIBAUM, 2001)

O teor de gordura é normalmente reduzido no leite com CCS alta, quando comparado com o leite normal, uma vez que a mastite interfere com a capacidade da glândula mamária de sintetizar a gordura (KITCHEN, 1981).

O efeito da mastite sobre o teor de proteína do leite é variável. Observa-se um aumento do influxo de proteína de origem do sangue e a concomitante diminuição da síntese de proteína nas células epiteliais (α -caseína, β -caseína, α -lactalbumina e β -lactoglobulina). O efeito geral é de manutenção de níveis de proteína total relativamente constante ou de mudanças muito pequenas (AULDIST e HUBBLE, 1998).

Durante a mastite, o teor de caseína no leite é normalmente diminuído, devido à redução da síntese e a ocorrência de proteólise (SENIK *et al.*, 1985). O nível circulante e a atividade de proteases endógenas do leite aumentam durante a mastite (SAEMAN *et al.*, 1988). A origem destas proteases são as células somáticas (VERDI e BARBANO, 1988) e o plasma sanguíneo, sendo a plasmína a protease de maior importância no sangue (SAEMAN *et al.*, 1988). O aumento da CCS do leite também resulta em aumento da concentração de proteínas do soro, soroalbumina bovina e imunoglobulinas (ROGERS *et al.*, 1989). Estas alterações são causadas, principalmente, devido ao maior influxo de substâncias do sangue para dentro do leite, passando através das membranas. Como a α -lactalbumina e a β -lactoglobulina são sintetizadas na glândula mamária, a concentração destas proteínas encontra-se reduzida durante a mastite (ROGERS *et al.*, 1989).

Enzimas proteolíticas quebram a caseína do leite e podem comprometer o rendimento do leite usado na fabricação de queijos (POLITIS e NG-KWAI-HANG, 1988a). CCS alta no leite tem sido associada com o aumento do tempo de coagulação e a

obtenção de textura menos firme da massa do queijo (POLITIS e NG-KWAI-HANG, 1988b). É possível, ainda, que a multiplicação de bactérias ácido-láticas seja inibida por ação antibacteriana de componentes das células de defesa do sangue.

A inflamação da glândula mamária resulta em diminuição da síntese de lactose e, conseqüentemente, a concentração deste composto no leite é menor em vacas com mastite (AULDIST *et al.*, 1995). A redução da concentração da lactose do leite com CCS alta é, em parte, devido às lesões nas células alveolares, no entanto, outros fatores como a passagem de lactose para o sangue também podem estar envolvidos.

Leites com CCS altas têm reduzido teor de caseína em relação à quantidade de proteína total (JAEGGI *et al.*, 2003; ALBENZIO, CAROPRESE e SANTILLO, 2004), além de apresentarem maiores perdas de gordura e caseína no soro resultante da produção de queijos. Esse tipo de leite quando utilizado para fabricação de queijo apresenta menor velocidade de coagulação e resulta em queijos com maiores teores de umidade (POLITIS e NG-KWAI-HANG, 1988a; KLEI *et al.*, 1998; ALBENZIO *et al.*, 2004).

Estas alterações reduzem o rendimento do leite na fabricação de queijo em cerca de 5%, prolongam o tempo de coagulação e reduzem o teor de gordura, proteína e EST. CCS elevada tem sido relacionada com a redução da qualidade do coágulo por resultar em uma diminuição de até 70% em sua firmeza, como consequência da concentração mais elevada de proteínas séricas e mais baixa de cálcio no leite (MA *et al.*, 2000).

3. Material e métodos

3.1 Caracterização das amostras de leite cru

O experimento foi realizado no período entre maio e setembro de 2011 no Laboratório de Análise da Qualidade do Leite da Escola de Veterinária da UFMG (LabUFMG). As amostras de leite cru utilizadas neste experimento foram amostras de rotina enviadas por produtores rurais para serem analisadas no LabUFMG e cada amostra foi constituída de duas subamostras armazenadas em dois frascos, o primeiro destinado à análise de composição e CCS e o segundo para análise de CBT.

Para as análises de composição e CCS, as amostras de leite foram adicionadas do conservante Bronopol e mantidas sob refrigeração ($4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) por um período máximo de cinco dias até o seu uso para elaboração dos queijos. Da amostra de leite cru contendo conservante Bronopol foi retirada uma alíquota para análise de composição (teores de gordura, proteína, lactose, EST e ESD) e para a CCS em equipamento eletrônico CombiScope FTIR 400[®] (Delta Instruments, Drachten, Holanda). Neste mesmo equipamento foram

feitas as análises de composição (teores de gordura, proteína total, proteína verdadeira, lactose, EST e ESD) e de CCS do soro obtido após a produção dos queijos elaborados no experimento, para posterior avaliação do teor de componentes retidos na massa dos queijos e cálculo do rendimento baseado na retenção de componentes.

As amostras para análise de CBT foram adicionadas de conservante Azidiol, porém não foram utilizadas para elaboração dos queijos neste experimento. O equipamento utilizado para contagem bacteriana total por citometria de fluxo foi o BactoCount IBC[®] (Bentley Instruments, Chaska, Estados Unidos) (BENTLEY..., 2002).

Para produção dos queijos e avaliação do rendimento foram utilizadas 270 amostras de leite cru adicionadas de conservante Bronopol com três níveis de CCS e três níveis de CBT, conforme o Quadro 6. Os três níveis de CCS foram combinados com os três níveis de CBT, gerando um total de nove combinações, com 30 amostras cada uma, conforme apresentado no Quadro 7.

A seleção das amostras de leite cru para a produção dos queijos levou em conta, além da CCS e da CBT, o teor dos componentes do leite.

Parâmetro	Valores dos diferentes níveis de CCS e CBT		
	Baixo	Médio	Alto
CS/mL	A <200.000	B 200.000-750.000	C >750.000
UFC/mL	D <100.000	E 100.000-750.000	F >750.000

Quadro 6 – CCS e CBT das amostras de leite cru utilizadas para a produção dos queijos

A+D	B+D	C+D
A+E	B+E	C+E
A+F	B+F	C+F

Quadro 7 - Distribuição das amostras de leite cru de acordo com a faixa de CCS e CBT

Foram selecionadas para a produção dos queijos as amostras de leite que apresentaram teores normais de componentes, isto é, teor de gordura entre 3,0 e 4,5%; teor de proteína entre 2,9 e 4,0%; teor de lactose entre 4,2 a 5,3%; teor de EST acima de 11,4% e teor de extrato seco desengordurado (ESD) acima de 8,4%. Estes teores de componentes estão de acordo com os limites estabelecidos pela legislação vigente (BRASIL, 2011).

Logo antes de serem utilizadas para produção dos queijos, as amostras de leite cru contendo conservante Bronopol foram submetidas à análise de índice crioscópico e pH.

O índice crioscópico foi determinado em miligráus Hortvet (m°H), utilizando-se crioscópio eletrônico Laktron® LK 7000 (Laktron, Londrina, PR), previamente calibrado com soluções padrão de cloreto de sódio (-422m°H; -530m°H e -621m°H), conforme BRASIL (2003).

Os resultados foram convertidos em graus Celsius (°C) utilizando-se a fórmula a seguir, segundo HARDING (1986):

$$^{\circ}\text{C} = 0,96418 \times ^{\circ}\text{H} + 0,00085$$

A determinação do pH também foi realizada conforme BRASIL (2003), usando pHmetro digital de bancada Tecnopon®, modelo mPA-210 (Tecnopon, Piracicaba, SP), calibrado com as soluções-padrão de pH 4,0 e 7,0.

3.2 Produção de queijos em escala reduzida

A produção dos queijos foi feita utilizando-se o método em escala reduzida desenvolvido por MELILLI *et al.* (2002) com algumas modificações. Após análise dos parâmetros de qualidade, 25g de cada amostra de leite cru contendo conservante Bronopol foram transferidos para um tubo

de centrífuga Falcon de 50 mL com tampa de rosca (Sigma, Alemanha) com massa previamente conhecida. Ao tubo de centrífuga contendo a amostra de leite cru foram adicionados 300µL de ácido acético glacial PA-ACS (Quimex S.A., São Paulo, SP) diluído, para reduzir o pH do leite. Os tubos foram agitados manualmente durante 20 segundos e o pH das amostras adicionadas de ácido acético foi medido utilizando-se pHmetro digital. As amostras de leite acidificadas foram mantidas em banho-maria com agitação durante 10 minutos a 35°C (Solab®, modelo SL-155/22, Solab, Piracicaba, SP). Após este período, foram adicionados, a cada um dos tubos, 230µL de coagulante líquido HALA® (Chr. Hansen LTDA, Valinhos, SP), diluído seguindo a recomendação do fabricante, e cada tubo foi novamente agitado manualmente durante 20 segundos. Em seguida, os tubos ficaram imersos em banho-maria a 35°C durante 30 minutos. O leite coagulado foi centrifugado em centrífuga refrigerada Sigma® modelo 3K30, com rotor angular modelo 12159H (Sigma, Harz, Alemanha) para tubos vedados, a 1630 x G durante 30 minutos a 15°C para a completa separação do soro e da massa. Ao final da centrifugação, o soro foi transferido para um frasco coletor estéril (J. Prolab, Curitiba, PR) e mantido sob refrigeração a 4°C ± 1°C para ser analisado no equipamento eletrônico CombiScope FTIR 400®. A massa centrifugada foi transferida do tubo de centrífuga para pratos de aço inoxidável (10cm de diâmetro), previamente limpos e secos. A massa foi espalhada no prato com o auxílio de um bastão de vidro, com o objetivo de aumentar a superfície exposta ao calor e favorecer a perda total de umidade durante a secagem da massa centrifugada. Os pratos de metal com as amostras de queijo foram mantidos em estufa de secagem Quimis® (Diadema, SP) modelo Q317B, a 100°C ± 2°C durante 4 horas. Após a secagem, os pratos foram retirados da estufa, resfriados em dessecador de policarbonato 250mm

sem vacuômetro (J. Prolab, Curitiba, PR) até atingir a temperatura ambiente e então pesados em balança analítica com precisão de 4 dígitos. A massa do queijo seco, contida em cada prato de metal, foi obtida pela diferença entre a massa do prato de metal contendo o queijo seco e a massa do mesmo prato, vazio.

3.3 Avaliação do rendimento do leite na fabricação do queijo

O rendimento de massa seca dos queijos foi obtido pela divisão entre a massa do queijo centrifugado e seco e a massa do leite cru, conforme a fórmula a seguir (MELILLI *et al.*, 2002):

$$\text{Rendimento de massa seca (\%)} = (\text{massa do queijo} / \text{massa do leite}) \times 100$$

Os resultados de rendimento de massa seca, assim como os resultados de composição das amostras de leite cru e do soro de queijo, foram utilizados para calcular o rendimento baseado em retenção de componentes. O peso relativo ao conservante bronopol foi subtraído da massa do queijo seco.

3.4 Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com arranjo fatorial 3x3 (em que foram avaliados três níveis de CCS e três níveis de CBT). Os resultados foram submetidos à análise estatística descritiva e à análise de variância (ANOVA), utilizando-se o programa SAEG (2007). Foi realizada a transformação dos dados de CCS e CBT, utilizando-se a função logarítmica, para obtenção de distribuição normal dos dados. A comparação de médias dos diferentes grupos experimentais foi feita pelo teste de Duncan ($p=0,05$), segundo SAMPAIO (2002). Foi analisada a influência individual de cada resultado e o

peso que cada parâmetro fornecia para o rendimento do leite na fabricação de queijos. A partir dos dados obtidos, foi investigada a possibilidade de se montar uma equação com base em CCS, CBT e itens de composição (gordura, lactose, proteína e EST) para calcular o rendimento teórico de queijos.

4. Resultados e discussão

4.1 Composição físico-química, CCS e CBT do leite cru

Os valores médios, os desvios-padrão e o coeficiente de variação (CV) médio dos teores de gordura, proteína, lactose, EST e ESD do leite cru utilizado na fabricação dos queijos são apresentados na Tabela 1. Estes teores de componentes atenderam aos limites estabelecidos pela legislação vigente (BRASIL, 2011).

A Tabela 2 apresenta valores médios, os desvios-padrão e o CV médio de CCS e CBT e a Tabela 3 valores médios, os desvios-padrão e o CV médio de índice crioscópico e pH das amostras de leite cru. O CV alto encontrado para CCS e CBT pode ser justificado pelo fato de que estas variáveis são de natureza instável, com grande heterogeneidade entre as amostras.

A crioscopia é uma propriedade física inerente à composição do leite e está relacionada somente às substâncias verdadeiramente dissolvidas no mesmo, isto é, à lactose e aos minerais (FONSECA e FONSECA, 2003). A maioria dos valores médios de índice crioscópico do leite atenderam aos padrões estabelecidos pela legislação vigente (BRASIL, 2011). As amostras de leite cru que apresentaram índice crioscópico médio abaixo do limite mínimo estabelecido, que é de $-0,531^{\circ}\text{C}$, foram aquelas com as maiores CCS.

Tabela 1 - Teor de componentes, de acordo com a contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT), do leite cru utilizado para a produção dos queijos

Classificação CCS	Classificação CBT	Médias e desvios-padrão				
		Gordura (g/100g)	Proteína (g/100g)	Lactose (g/100g)	EST (g/100g)	ESD (g/100g)
A	D	3,79 ± 0,35	3,41 ± 0,17	4,65 ± 0,09	12,86 ± 0,49	9,07 ± 0,22
A	E	3,84 ± 0,37	3,44 ± 0,18	4,61 ± 0,08	12,92 ± 0,49	9,08 ± 0,21
A	F	3,79 ± 0,34	3,32 ± 0,16	4,73 ± 0,13	12,79 ± 0,38	8,99 ± 0,19
B	D	3,88 ± 0,29	3,32 ± 0,16	4,60 ± 0,11	12,79 ± 0,35	8,90 ± 0,15
B	E	3,95 ± 0,28	3,35 ± 0,13	4,60 ± 0,09	12,87 ± 0,36	8,91 ± 0,15
B	F	3,88 ± 0,26	3,29 ± 0,17	4,69 ± 0,17	12,71 ± 0,37	8,84 ± 0,19
C	D	3,74 ± 0,33	3,23 ± 0,13	4,47 ± 0,12	12,38 ± 0,46	8,63 ± 0,18
C	E	3,92 ± 0,28	3,25 ± 0,13	4,55 ± 0,12	12,62 ± 0,36	8,70 ± 0,16
C	F	3,93 ± 0,24	3,39 ± 0,15	4,56 ± 0,14	12,80 ± 0,33	8,86 ± 0,18
CV médio (%)		7,90	4,59	2,53	3,13	2,03

Tabela 2 – Contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) do leite cru utilizado para a produção dos queijos

Classificação CCS	Classificação CBT	Médias e desvios-padrão	
		CCS (x10 ³ CS/mL)	CBT (x10 ³ UFC/mL)
A	D	123,70 ± 46,63	32,36 ± 23,24
A	E	117,86 ± 54,27	309,20 ± 160,51
A	F	119,93 ± 51,91	3352,83 ± 3249,84
B	D	394,00 ± 142,54	38,43 ± 27,92
B	E	429,86 ± 144,17	329,10 ± 185,68
B	F	385,43 ± 139,58	3400,13 ± 2963,99
C	D	857,50 ± 119,21	58,60 ± 31,79
C	E	928,13 ± 130,83	445,66 ± 173,22
C	F	1351,00 ± 601,90	2747,80 ± 1919,73
CV médio (%)		33,94	66,65

Tabela 3 - Índice crioscópico e pH, de acordo com a contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT), do leite cru utilizado para a produção dos queijos

Classificação CCS	Classificação CBT	Médias e desvios-padrão	
		Crioscopia (°C)	pH
A	D	-529,27	6,72 ± 0,06
A	E	-529,46	6,73 ± 0,07
A	F	-531,00	6,68 ± 0,07
B	D	-530,49	6,71 ± 0,06
B	E	-528,81	6,70 ± 0,07
B	F	-531,00	6,66 ± 0,07
C	D	-536,85	6,69 ± 0,10
C	E	-532,06	6,71 ± 0,05
C	F	-532,42	6,72 ± 0,06
CV médio (%)		1,24	1,01

Conforme observado na Tabela 4, houve uma diminuição no índice crioscópico médio do leite nas amostras com CCS elevadas ($p < 0,05$), indicando que alterações

na composição destas amostras com contagens elevadas de células somáticas foram suficientes para alterar o ponto de congelamento do leite.

Tabela 4 - Índice crioscópico ($^{\circ}\text{C}$), de acordo com a contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT), do leite cru utilizado na produção dos queijos

Classificação CBT	Classificação CCS			Médias
	A	B	C	
D	-529,27	-530,49	-536,85	-532,20 ^a
E	-529,46	-528,81	-532,06	-530,11 ^a
F	-531,00	-531,00	-532,42	-531,47 ^a
Médias	-529,91 ^A	-530,10 ^A	-533,77 ^B	

Letras maiúsculas diferentes, na mesma linha, e letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, indicam diferença estatística entre as médias ($p < 0,05$).

As amostras de leite cru com CBT alta apresentaram os menores valores de pH ($p < 0,05$). Entretanto, esta pequena diferença não tem significado prático, uma vez que estes valores ainda se mantiveram dentro da faixa considerada normal.

Durante a produção dos queijos, o leite foi adicionado de ácido acético para a redução do pH e favorecimento da coagulação do leite. Os valores médios de pH do leite ácido assim como os desvios-padrão e o coeficiente de variação estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - pH do leite cru adicionado de ácido acético, de acordo com a contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT)

Classificação CCS	Classificação CBT	Médias e desvios-padrão
A	D	5,69 \pm 0,06
A	E	5,67 \pm 0,07
A	F	5,63 \pm 0,07
B	D	5,66 \pm 0,06
B	E	5,65 \pm 0,07
B	F	5,61 \pm 0,07
C	D	5,65 \pm 0,10
C	E	5,64 \pm 0,05
C	F	5,66 \pm 0,06
CV médio (%)		1,16

4.2 Composição físico-química, CCS e CBT do soro de queijo

Os valores médios, os desvios-padrão e o CV médio dos teores de gordura, proteína total, proteína verdadeira e lactose do soro obtido da produção dos queijos são apresentados na Tabela 6. Os teores de EST

e ESD do soro do queijo produzido encontram-se na Tabela 7.

Os valores de CCS no soro foram baixos, próximos a zero, devido à coprecipitação junto com o gel, além da sedimentação por ação centrífuga. Este é um achado importante, uma vez que as células somáticas se mantêm retidas na massa do

queijo e CCS altas poderiam comprometer a qualidade do queijo, já que a elevação da atividade local de plasmina mediada pelo

aumento da CCS pode estar relacionada com a lise de caseína (WENG *et al.*, 2006).

Tabela 6 - Teor de gordura, proteína e lactose do soro obtido da produção dos queijos, de acordo com a contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) do leite cru

Classificação CCS	Classificação CBT	Médias e desvios-padrão			
		Gordura (%)	Proteína total (%)	Proteína verdadeira (%)	Lactose (%)
A	D	0,03 ± 0,02	1,10 ± 0,05	0,78 ± 0,05	4,82 ± 0,13
A	E	0,03 ± 0,01	1,10 ± 0,07	0,80 ± 0,07	4,77 ± 0,10
A	F	0,04 ± 0,02	1,09 ± 0,06	0,78 ± 0,06	4,84 ± 0,10
B	D	0,04 ± 0,01	1,12 ± 0,06	0,82 ± 0,08	4,77 ± 0,12
B	E	0,03 ± 0,02	1,11 ± 0,06	0,85 ± 0,04	4,74 ± 0,11
B	F	0,03 ± 0,02	1,13 ± 0,07	0,83 ± 0,06	4,75 ± 0,10
C	D	0,03 ± 0,01	1,23 ± 0,10	0,94 ± 0,10	4,70 ± 0,09
C	E	0,03 ± 0,01	1,18 ± 0,05	0,88 ± 0,06	4,68 ± 0,10
C	F	0,03 ± 0,02	1,23 ± 0,08	0,93 ± 0,09	4,66 ± 0,12
CV médio (%)		49,07	5,80	7,97	2,27

Tabela 7 - Teor de EST e ESD no soro obtido da produção dos queijos, de acordo com a contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) do leite cru

Classificação CCS	Classificação CBT	Médias e desvios-padrão	
		EST (%)	ESD (%)
A	D	6,75 ± 0,15	6,73 ± 1,10
A	E	6,73 ± 0,13	6,71 ± 0,16
A	F	6,82 ± 0,14	6,78 ± 0,16
B	D	6,80 ± 0,06	6,77 ± 0,18
B	E	6,69 ± 0,11	6,67 ± 0,15
B	F	6,75 ± 0,15	6,73 ± 0,19
C	D	6,78 ± 0,15	6,76 ± 0,14
C	E	6,71 ± 0,10	6,68 ± 0,12
C	F	6,80 ± 0,14	6,77 ± 0,21
CV médio (%)		1,86	3,98

Segundo SMITHERS *et al.* (1996), a composição média do soro de queijo é 0,05% de gordura, 0,7% de proteína, 4,9% de lactose e 6,35% de EST. Os valores encontrados no soro obtido depois da produção dos queijos em escala reduzida foram semelhantes a estes valores de referência, o que demonstra que a técnica utilizada levou à produção de soro de queijo com composição semelhante ao produzido na indústria.

Conforme mostrado na Figura 1, extratos com maiores contagens de células somáticas apresentaram aumento no teor de proteína total e de proteína verdadeira no soro ($p < 0,05$), independentemente da CBT. Parte da proteína do leite que deveria ser retida na massa do queijo pode ter sido perdida no soro, o que resultaria em prejuízo para o rendimento. Além disso, o leite contendo contagens altas de células somáticas, utilizado para a produção destes queijos, poderia apresentar teores mais elevados de proteínas do soro, como

resultado do aumento da passagem de proteínas do sangue para o interior da glândula mamária durante o quadro de mastite, em que se observa o aumento da permeabilidade vascular. Após a fabricação de queijos, a maior parte destas proteínas estará no soro. De forma semelhante, CONNEY *et al.* (2000) relataram que

durante o processamento de queijos tipo suíço a partir de leite com alta CCS houve aumento de proteases, as quais interferiram diretamente na produção do derivado lácteo, diminuindo os teores de proteína total do queijo e aumentando a perda de proteína no soro.

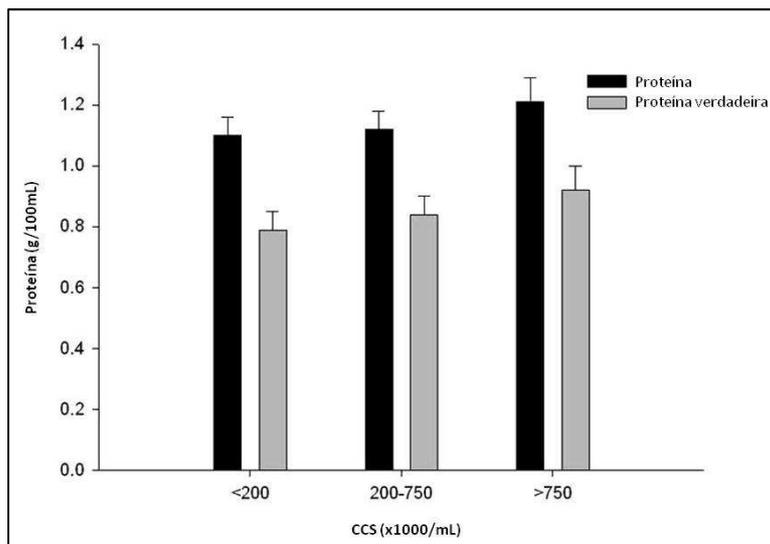


Figura 1 - Proteína total e proteína verdadeira (g/100mL) do soro obtido na produção dos queijos em escala reduzida, de acordo com a contagem de células somáticas (CCS) do leite cru

O teor médio de gordura no soro foi de 0,03g/100g e não foi observada variação em função do aumento da CCS e da CBT ($p>0,05$). Entretanto, VIEIRA (2010) avaliou o efeito de diferentes CCS do leite *in natura* (níveis de 100.000-250.000, 400.000-750.000 e >750.000 CS/mL) sobre as características físico-químicas e sensoriais do queijo mussarela e relatou uma maior perda de gordura no soro na faixa de CCS mais elevadas. Outras variáveis relacionadas ao processamento, como corte do gel e tempo e velocidade de agitação, tamanho dos grãos, temperatura, entre outros são também relevantes para a quantidade de gordura no soro.

A Figura 2 mostra que o aumento da CCS no leite cru levou à redução dos teores de lactose no soro de queijo ($p<0,05$) em todos os extratos com elevada CCS.

As amostras de soro oriundas de leite com CCS mais elevadas apresentaram tendência similar de menores teores de lactose, como previamente encontrado por VIANNA (2008). Entretanto, variações de CCS e CBT no leite não afetaram os teores de EST e ESD do soro de queijo (Tabela 8). Isto pode ser explicado pelo fato de que, com o aumento da CCS, o teor de proteínas no soro do queijo aumentou, porém, o teor de lactose diminuiu, o que resultou na manutenção dos valores de sólidos.

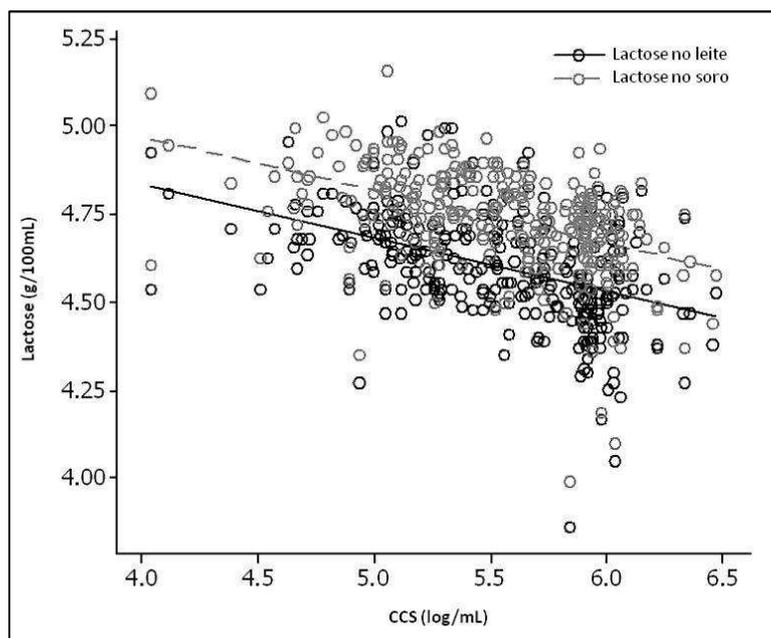


Figura 2 - Scatter plot do conteúdo de lactose do leite cru e do soro, de acordo com a contagem de células somáticas (CCS) do leite cru

Tabela 8- Comparação de médias de teor de EST (g/100mL) do soro de queijo, nas diferentes faixas de contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT)

Classificação CBT	Classificação CCS			Médias
	A	B	C	
D	6,75	6,80	6,78	6,77 ^a
E	6,73	6,69	6,71	6,71 ^a
F	6,82	6,75	6,80	6,79 ^a
Médias	6,76 ^A	6,74 ^A	6,76 ^A	

Letras maiúsculas diferentes, na mesma linha, e letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, indicam diferença estatística entre as médias ($p < 0,05$).

4.3 Rendimento de massa seca

Ao final do processo de produção dos queijos em escala reduzida, foram obtidos os valores de rendimento de massa seca. Os valores obtidos neste experimento variaram entre 5,7 e 8,9%, sendo que CCS altas foram correlacionadas com rendimentos menores, conforme apresentado na Figura 3. Os valores de rendimento de massa seca encontrados foram próximos àqueles observados por MELILLI *et al.* (2002).

Estes autores analisaram 11 amostras de leite cru com teores de componentes próximos ao normal e valores de CCS variando entre 11×10^3 CS/mL e 1.273×10^3 CS/mL e encontraram resultados de rendimento de massa seca entre 3,98 e 8,30%.

Este resultado sugere que as contagens elevadas de CS no leite cru prejudicariam de forma mais significativa o rendimento do que as contagens elevadas de bactérias.

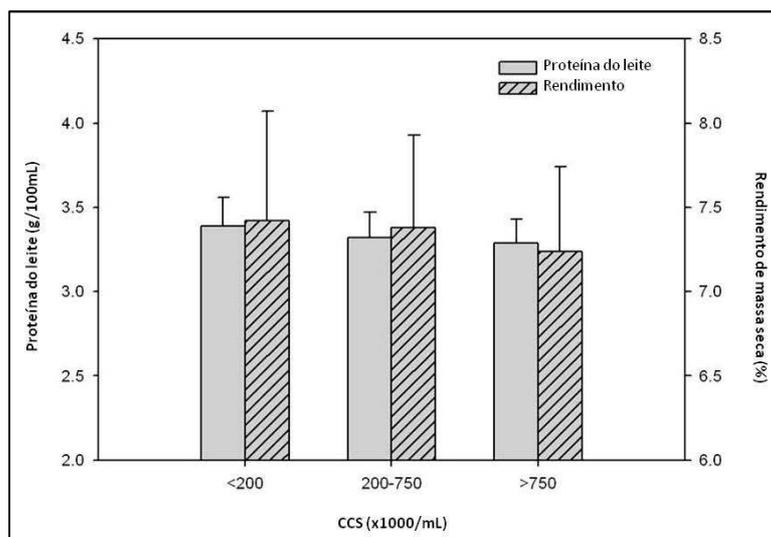


Figura 3 - Teor de proteína do leite cru (g/100mL) e rendimento de massa seca (%) dos queijos produzidos a partir de leites com diferentes contagens de células somáticas (CCS)

O mesmo efeito do aumento da CSS foi descrito por MATIOLI *et al.* (2000), que observaram menores rendimentos na fabricação de queijos Minas Frescal utilizando leites contendo CCS acima de 500.000 CS/mL quando comparadas a faixas menores de CCS.

Resultados semelhantes foram encontrados por VIEIRA (2010), em um trabalho em que foram necessários 9,29kg de leite para cada quilo de queijo mussarela produzido a partir do leite com níveis de CCS entre 100.000-250.000 CS/mL, 10,25kg/kg de queijo nos processamentos cujas faixas variaram entre 400.000-750.000 CS/mL e 10,74kg/kg de queijo para os processamentos com níveis de CCS acima de 750.000 CS/mL. Isso significou uma perda de rendimento de 10,3% entre o primeiro e o segundo tratamento e de 15,6% entre o primeiro e o terceiro tratamento.

4.4 Avaliação do rendimento pela retenção de componentes sólidos na massa dos queijos

A porcentagem de retenção de gordura no queijo foi alta (99%) e não foi influenciada pela variação de CCS e de CBT ($p > 0,05$). A

perda de gordura no soro de queijo foi baixa, para todas as classes de CCS e CBT avaliadas, o que indica que estes parâmetros não interferiram no rendimento baseado na retenção de gordura.

Os valores de retenção de gordura foram semelhantes aos valores encontrados por SABOYA *et al.* (1998). Estes autores observaram uma perda de gordura no soro de 0,3g/100mL durante a produção de queijo Minas Frescal a partir de leite com

teor de gordura de 3,24g/100mL. Neste caso o percentual de retenção de gordura foi 92,29%.

O aumento da CCS no leite cru levou à menor retenção de proteína na massa dos queijos ($p < 0,05$). Este fato reforça a idéia de que o leite com CCS elevada apresenta um aumento da atividade de proteases que podem interferir diretamente na produção industrial por aumentar as perdas de proteína para o soro durante a fabricação de queijos.

Os valores de retenção de proteína estão próximos aos valores encontrados por SABOYA *et al.* (1998), que observaram

uma perda de proteína no soro de 1,06g/100mL durante a produção de queijo Minas Frescal a partir de leite com teor original de proteína de 3,29g/100mL. Neste caso o percentual de retenção de proteína foi de 68%.

4.5 Comparação entre o rendimento calculado pelo método em escala reduzida e o rendimento teórico

A Figura 4 apresenta a equação de regressão gerada para o cálculo do rendimento teórico em função do rendimento de massa seca obtido neste experimento.

O rendimento teórico apresentado no gráfico foi calculado a partir da fórmula de van Slyke (VAN SLYKE e PUBLLOW, 1921). Para o cálculo do rendimento teórico dos queijos produzidos neste experimento, levou-se em consideração os teores de gordura e proteína do leite apresentados nas Tabelas 1 e 2, respectivamente, a porcentagem de recuperação de gordura e proteína mostrada nas Figuras 1 e 2, respectivamente, e o teor de umidade esperado para o queijo Minas Frescal, isto é, pelo menos 55% (BRASIL, 2004).

A equação de regressão obtida foi $Y = 1,5522x + 5,0988$ e o coeficiente de determinação da regressão (R^2) foi de 0,8344.

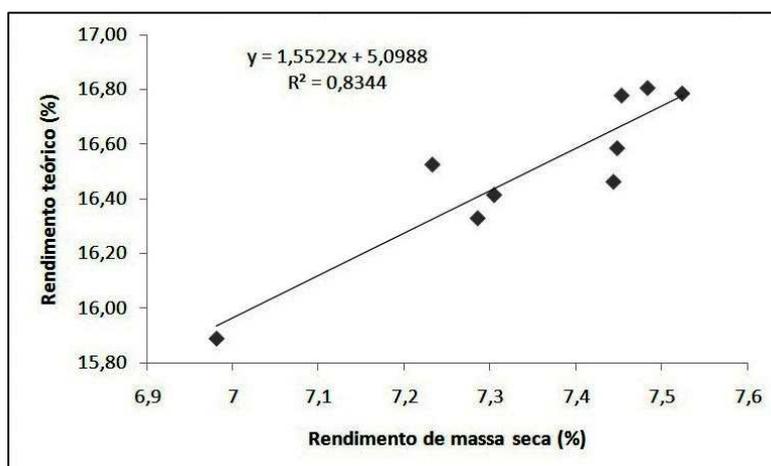


Figura 4 - Rendimento teórico baseado em matéria seca após a coagulação do leite cru

Os valores preditos foram obtidos pela equação:

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Rendimento de massa seca (\%)} \times 100}{100 - \text{Teor de umidade (\%)}}$$

A correlação entre os valores teóricos de rendimento e os valores de rendimento preditos pela metodologia em escala reduzida foi de 0,9134, o que indica que esta metodologia pode ser utilizada de forma confiável para a predição do rendimento de queijos.

5. Conclusões

A CCS influenciou no rendimento do leite na fabricação de queijos. O aumento da CCS no leite cru refletiu em menor retenção de proteína na massa dos queijos e aumento das perdas de proteína no soro.

CCS acima de 200.000 CS/mL foi correlacionada à redução dos teores de lactose no soro.

Não houve interferência da CBT no rendimento dos queijos produzidos nas condições experimentais utilizadas.

Houve alta correlação entre os valores teóricos de rendimento e os valores de rendimento preditos pela metodologia em escala reduzida, indicando que esta metodologia pode ser utilizada para a predição do rendimento de queijos.

6. Referências bibliográficas

ALBENZIO, M.; CAROPRESE, M.; SANTILLO, A. Effects of somatic cell count and stage of lactation on the plasmin activity and cheese making properties of ewe milk. *J. Dairy Sci.* v. 87, p. 533-542, 2004.

ALVES, C. *Efeito de variações sazonais na qualidade do leite cru refrigerado de duas propriedades de Minas Gerais*. 2006. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

AULDIST, M. J.; COATS, S.; ROGERS, G. L. *et al.* Changes in the composition of milk from normal and mastitic dairy cows during the lactation cycle. *Aust J Dairy Tech.* v. 35, p. 427-436, 1995.

AULDIST, M. J.; HUBLLE, I. B. Effects of mastitis on raw milk and dairy products. *Aust J Dairy Tech.* v. 53, p. 28-36, 1998.

ALVES, C.; FONSECA, L. M. Avaliação das variações sazonais na qualidade do leite cru refrigerado, por meio dos parâmetros de composição centesimal, CCS e CBT. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 23, 2006, Juíz de Fora. *Anais...* Juíz de Fora: Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG, 2006. v. 61, p. 416-419.

BARBANO, D. M.; CLARK, J. L. Symposium: Instrumental methods for measuring components of milk- Infrared milk analysis - challenges for the future. *J. Dairy Sci.*, v.72, p.1627-1636, 1989.

BEHMER, M. L. A. *Tecnologia do leite*. 13ª ed. São Paulo: Editora Noel, 1999.

BERG, G van den; BOER, F.; ALLERSMA, D. Consequences of cold storage of milk. *Voed. Mid. Techn.*, v. 31, n. 8, p. 101-104, 1998.

BEAUDEAU, F.; FOURICHON, C.; SEEGERS, H. Risk of clinical mastitis in dairy herds with a high proportion of low individual milk somatic-cell counts. *Prev. Vet. Med.*, v. 53, p. 43-54, 2002.

BENTLEY INSTRUMENTS INC. *Bactocount 150 operator's manual*. Chaska: Bentley Instruments Inc., 2002. 49p.

BIGGS, D. A.; JOHNSON, G.; SJAUNJA, L. O. Analysis of fat, protein, lactose and total solids by infra-red absorption. In: Monograph on rapid indirect methods for measurement of the major components of milk. *Bull. Int. Dairy Fed.*, n.208, p.21-29, 1987.

BRASIL. Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Diário Oficial da União*, 07 de julho de 1952. Seção 1, p. 10785.

BRASIL. Instrução Normativa nº 4, de 1 de março de 2004. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Diário Oficial da União*, 5 de março de 2004. Seção 1, p. 5.

BRASIL. Instrução Normativa nº 22, de 14 de abril de 2003. Métodos analíticos

oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Diário Oficial da União*, 2 de maio de 2003. Seção 1, p. 3-25.

BRASIL. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Diário Oficial da União*, 30 de dezembro de 2011. Seção 1, p. 6-11.

BRASIL. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002a. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Diário Oficial da União*, 20 de setembro de 2002. Seção 1, p. 13.

BRASIL. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002b. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Diário Oficial da União*, 20 de setembro de 2002. Seção 1, p. 13.

BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P. *A qualidade do leite*. Juiz de Fora: EMBRAPA, 1998. p. 75-82.

BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P.; ACURI, E. *et al.* Tipos de microrganismos. *Agronegócio do leite*. Juiz de Fora: EMBRAPA, 2005.

CARDOSO, R. R. Influência da microbiota psicrotrofica no rendimento de queijo Minas Frescal elaborado com leite estocado sob refrigeração. 2006. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

CARVALHO, M. P. Gordura e Proteína: como definir seus níveis na composição do leite. In: INTERLEITE - SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE, 4, 1999, Caxambu. *Anais...* São Paulo: Instituto Fernando Costa, 1999.

CARVALHO, A. L. *Qualidade do leite do Centro-Oeste*. Goiânia: Editora da UFG, 1995.

CONNERY, S.; THIERMAN, D.; JOYCE, P. Effects of mastitis on raw milk and dairy products. *J. Dairy Res.*, Cambridge, v.67, p.305-315, 2000.

COULON, J. B.; HURTAUD, C.; RÉMOND, B. *et al.* Factors contributing to variation in the proportion of casein in cows' milk true protein: a review of recent INRA experiments. *J. Dairy Res.* v. 65, p. 375-387, 1998.

CROMIE, S. Psychrotrophs and their enzyme residues in cheese milk. *Aust. J. Dairy Tech.*, v. 47, p. 96-100, 1992.

DE PETERS E. J.; FERGUSON J. D. Non protein nitrogen and protein distribution in the milk of cows. *J. Dairy Sci.* v. 75, n. 11, p. 3192. 1992.

DELTA INSTRUMENTS: Combiscope FTIR – analisador automático para gordura, proteína, lactose, sólidos, ponto de congelamento e CCS. *Guia do usuário*. The Netherlands. 2ª Revisão. 2008.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Informações Técnicas – Estatísticas do Leite. Embrapa Gado de Leite. 2011.

EMMONS, D. B. Economic importance of cheese yield. In: INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION SPECIAL ISSUE 9301. Factors affecting the yield of cheese. Bruxelas: International Dairy Fed., 1993.

EMMONS, D. B.; ERNSTROM, C. A.; LACROIX, C. *et al.* Predictive formulas for yield of cheese from composition of milk - A review. *J. Dairy Sci.* v. 73, p. 1365-1394, 1990.

- FENELON, M. A.; GUINEE, T. P. The effect of milk fat on Cheddar cheese yield and its prediction using modifications of the Van Slyke cheese yield formula. *J. Dairy Sci.* v. 82, p. 2287–2299, 1999.
- FDA. Food and Drug Administration. *Actions of the 1991 National Conference on Interstate Milk Shipments*. August 22 memorandum from Milk Safety Branch. 1991
- FONSECA, L. F. L.; PEREIRA, C. C.; CARVALHO, M. P. Qualidade microbiológica do leite. In: INTERLEITE - SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE, 4, 1999, Caxambu. *Anais...* São Paulo: Instituto Fernando Costa, 1999. p. 36-43.
- FONSECA L. M.; FONSECA C. S. P. Índice crioscópico - Qual é a importância deste parâmetro na qualidade do leite? Artigos técnicos – ReHAgro. 2003.
- FONSECA, L. M.; RODRIGUES, R.; CERQUEIRA, M. M. O. P. *et al.* Situação da qualidade do leite cru em Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 3, Recife. *Anais...* CCS-Gráfica: 2008.
- FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. *Qualidade do Leite e Controle de Mastite*. São Paulo: Lemos Editorial, 2000.
- FRAZIER, W. C. *Microbiologia de los alimentos*. 4ª ed. Zaragoza: Editorial Acribia S. A., 1993. 681p.
- GOFF, H. D.; HILL, A. R. *Dairy Science and Technology Handbook: Chemistry and Physics*. Nova York: VCH Publishers, 1993. v. 1, p. 1-82.
- GONZÁLEZ, F. H. D.; DÜRR, J. W.; FONTANELLI, R. S. Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras. UFRGS, Porto Alegre, 2001. 72p.
- HARDING, F. Determination of the freezing point of milk by means of the thermistor cryoscope. *Bull. of the Intern. Dairy Fed.*, n.207, p. 198-207, 1986.
- HARDING, F. *Milk Quality*. Londres: Blackie, 1995. 166 p.
- HARMON, R. J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* v. 77, p. 2103-2113, 1994.
- HARMON, R. J. Somatic cell counts: a primer. In: ANNUAL MEETING - NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 40, 2001, Reno. *Proceedings...* Madison: National Mastitis Council, 2001. p.3-9.
- HEESCHEN, W. H. Codex Regulations and Food Safety. *Bull. of the Int. Dairy Fed.* n.º.319/1997, p 24. 1997.
- HICKS, C. L.; ONUORAH, C.; O'LEARY, J. *et al.* Effect of milk quality and low temperature storage on cheese yield - A summation. *J. Dairy Sci.* v. 69, n. 3, p. 649-657, 1986.
- HURLEY, W. L. *Milk Composition & Synthesis: Physicochemical properties*. Illinois: Resource Library, University of Illinois, 2006.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa da Pecuária Nacional. 2011.
- JAEGGI, J. J.; GOVINDASAMY-LUCEY, S.; BERGER, M. Hard ewe's milk cheese manufactured from milk of three different groups of somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* v. 86, p. 3082-3089, 2003.
- KITCHEN, B. J. Reviews of the progress of dairy science: Milk compositional changes

- and related diagnostic tests. *J. Dairy Res.* v. 48, p. 167-188, 1981.
- KLEI, L.; YUN, J.; SAPRU, A. Effects of milk somatic cell count on Cottage cheese yield and quality. *J. Dairy Sci.* v. 81, p. 1205-1213, 1998.
- KORHONEN, H.; KAARTINEN, L. *The bovine udder and mastitis: Changes in the composition of milk induced by mastitis.* Finlândia: 1995. p. 76-82.
- LEITE, M. O. *Fatores interferentes na análise eletrônica da qualidade do leite cru conservado com azidiol líquido, azidiol comprimido e bronopol.* 2006. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- LIMA, L L.; CASTRO, J. F.; OLIVEIRA, A. M. G. *et al.* Avaliação do leite cru produzido na Zona da Mata, Minas Gerais, e captado por estabelecimentos sob inspeção estadual. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2, São Paulo. *Anais...* CCS-Gráfica: 2005.
- .LUCEY, J.; KELLY, J. Characteristics in milk influencing the cheese yield and cheese quality. *J. Animal and Feed Sci.* v. 16, n. 1, p. 130-142, 1994.
- MA, Y.; RYAN, C.; BARBANO, D. M. *et al.* Effects of somatic cell count on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk. *J. Dai. Sci.* v. 83, p. 264-274, 2000.
- MATIOLI, G. P.; PINTO, S. M.; ABREU, L. R. *de et al.* Effect of milk from cows with mastitis on the production of fresh Minas cheese. *Revista do Instituto de Laticínio Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v.54. p.38-45, 2000.
- MELILLI, C.; LYNCH, J. M.; CARPINO, S. An empirical method for prediction of cheese yield. *J. Dairy Sci.*, v. 85, p. 2699-2704. 2002.
- MINAS GERAIS. Os Queijos da Fazenda. Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG. 4.ed. São Paulo: Editora Globo S.A, 1988. 219 p.
- MINAS GERAIS. Processamento do Leite: Queijo Minas Frescal, Meia-cura, Mussarela. Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais – EMATER. 2001.
- MONARDES, H. Programa de pagamento de leite por qualidade em Québec, Canadá. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DE LEITE, 1, Curitiba. *Anais...* Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 1998.
- MUIR, D. D. The shelf-life of dairy products: 3. Factors influencing intermediate and long life dairy products. *J. Soc. Dairy Technol*, v. 49, p. 67-72, 1996.
- NDC. National Dairy Code. *Production and Processing Regulations.* Forth Edition. 1997. 46 p.
- NIELSEN, S. S. Plasmin system microbial proteases in Milk: Characteristics, roles and relationship. *J. Agri. Food Chem.*, v. 50, p. 6628-6634, 2002.
- ORMOND, J. G. P. Glossário de termos usados em atividades agropecuárias, florestais e ciências ambientais. Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social-BNDES, 2006. 316 p.
- PASSOS, T. Micro-organismos psicrotóxicos no leite. *Artigos Técnicos - ReHAgro.* Belo Horizonte: ReHAgro, 2003.
- PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. *Quím. Nova*, v. 27, n. 2, 2004.

- PHILPOT, N.; NICKERSON, S. C. *Vencendo a luta contra a mastite*. São Paulo: Milkbizz, 2002. 188p.
- PICININ, L. C. A.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; SOUZA, M. R. *et al.* Diagnóstico de situação de contagem de células somáticas no leite cru refrigerado de algumas propriedades leiteiras de Minas Gerais. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, 1, e CONGRESSO BRASILEIRO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, 7, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: Revista Higiene Alimentar, 2003.
- POLITIS, I.; NG-KWAI-HANG, K. F. Association between somatic cell count of milk and cheese-yielding capacity. *J. Dairy Sci.* v. 71, p. 1720-1727, 1988a.
- POLITIS, I.; NG-KWAI-HANG, K. F. Effects of somatic cell counts and milk composition on the coagulating properties of milk. *J. Dairy Sci.* v. 71, p. 1740-1746, 1988b.
- RAUBERTA, S. R. F.; SHOOK, G. E. Relationship between lactation measures of somatic cell concentration and milk yield. *J. Dairy Sci.* v. 65, p. 419-425, 1982.
- RIBAS, N. P. Importância da contagem de células somáticas para a saúde da glândula mamária e qualidade do leite. In: INTERLEITE - SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE, 4, 1999, Caxambu. *Anais...* São Paulo: Instituto Fernando Costa, 1999. p. 77-87.
- RIEL, R. *Ciencia e tecnologia de la leche: Composicion y estructura físico-química de la leche*. Zaragoza: Editorial Acribia S. A. 1991. p. 1-54.
- ROGERS, S. A.; SLATTERY, S. L.; MITCHELL, G. E. *et al.* The relationship between somatic cell count, composition and manufacturing properties of bulk milk. 3. Individual proteins. *Aust J Dairy Tech.* v. 44, p. 49-52, 1989.
- SABOYA, L. V.; OLIVEIRA, A. J.; FURTADO, M. M. *et al.* Efeitos físico-químicos da adição de leite reconstituído na fabricação de queijo Minas frescal. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v. 18, n. 4, p. 368-376, 1998.
- SAEG. Sistemas para Análise Estatística. Versão 9.1. FUNARBE. UFV, Viçosa, MG, 2007.
- SAEMAN, A. I.; VERDI, R. J.; GALTON, D. M. *et al.* Effects of mastitis on proteolytic activity in bovine milk. *J. Dairy Sci.* v. 71, p. 505-512, 1988.
- SAMPAIO, I. B. M. *Estatística Aplicada à Experimentação Animal*. Belo Horizonte, FEPMVZ Ed. Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. 2002.
- SCHÄELLIBAUM, M. Impact of SCC on the quality of fluid milk and cheese. In: ANNUAL MEETING -NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 40, 2001, Reno. *Proceedings...* Madison: National Mastitis Council, 2001. p. 39.
- SENYK, G. F.; BARBANO, D. M.; SHIPE, W. F. Proteolysis in milk associated with increasing somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* v. 68, p. 2189-2194, 1985.
- SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. *Rev. Nutr.* v. 17, n. 4, p. 397-409, 2004.
- SILVA, P. H. F. da; TORRES, K. F. Acidez, pH e efeitos tampão no leite. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v. 50, n. 296, p. 33-41, 1995.

- SMITHERS, G. W.; BALLARD, F. J.; COPELAND, A. D. *et al.* New opportunities from the isolation and utilization of whey proteins. *J. Dairy Sci.*, v. 79, p. 1454-1459, 1996.
- SORDILLO, L. M.; STREICHER, K. L. Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* v. 7, p. 135-146, 2002.
- SOUSA, A. G.; NORONHA, J. F.; MOURA, C. J. *et al.* Influência da qualidade do leite sobre os custos de uma indústria de laticínios em Goiás. In: CONGRESSO DA SOBER - SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 45, 2007, Londrina. *Anais...* Londrina: UEL, 2007.
- TETRA PAK. *Dairy Processing Handbook*. Tetra Pak Processing Systems. Lund, Sweden. 1995.
- TRONCO, V. M. Controle físico-químico do leite. Manual para inspeção da qualidade do leite. Santa Maria-RS, 1997.
- VAN SLYKE, L. L.; PUBLOW, C. A. *The Science and Practice of Cheese Making*. New York: Orange Judd Company. 1921. 487 p.
- VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. *Milk and Milk products: Technology, chemistry and microbiology*. Londres: Chapman & Hall, 1994. p. 1-34.
- VENTURINI, K. S.; SARCINELLI, M. F.; SILVA, L. C. da. Características do leite. Vitória: Universidade Federal do Espírito Santo/Pró-Reitoria de Extensão, Programa Institucional de Extensão, 2007. (Boletim Técnico - PIE-UFES: 01007).
- VERDI, R. J.; BARBANO, D. M.; DELLAVALLE, M. E. *et al.* Variability in true protein, casein, nonprotein nitrogen, and proteolysis in high and low somatic cell milks. *J. Dairy Sci.* v. 70, p. 230-242, 1987.
- VERDI, R. J.; BARBANO, D. M. Preliminary investigation of properties of somatic cell proteases. *J. Dairy Sci.* v. 71, p. 534-538, 1988.
- VIANNA, P. C. B.; MAZAL, G.; SANTOS, M. V. *et al.* Microbial and Sensory Changes Throughout the Ripening of Prato Cheese Made from Milk with Different Levels of Somatic Cells. *J. Dairy Sci.*, v.91 n.5, 2008.
- VIEIRA, V. F. Características físico-químicas e sensoriais de queijos Mussarela elaborados a partir de leites com diferentes contagens de células somáticas. (Dissertação – Mestrado em Engenharia de Alimentos). Itapetinga- BA: UESB, 2010. 71p.
- WENG, M. H.; CHANG, C. J.; CHEN, W. Y. *et al.* Contribution of somatic cell-associated activation of plasminogen to caseinolysis within the goat mammary gland. *J. Dairy Sci.*, v.89, p.2025-2037, 2006.
- YAN, L.; LANGLOIS, B. E.; O'LEARY, J. Effect of storage conditions of grade A raw milk on proteolysis and cheese yield. *Milchwissenschaft*, v.38, p. 715-717, 1983.