

**INFLUÊNCIA DA CONTAGEM DE CÉLULAS
SOMÁTICAS NA QUALIDADE DO LEITE E
NAS PROPRIEDADES DO QUEIJO MINAS
PADRÃO AO LONGO DA MATURAÇÃO.**

GILSON PINTO MATIOLI

2005



59072
050428

GILSON PINTO MATIOLI

**INFLUÊNCIA DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS NA
QUALIDADE DO LEITE E NAS PROPRIEDADES DO QUEIJO MINAS
PADRÃO AO LONGO DA MATURAÇÃO .**

Tese apresentada à Universidade Federal de
Lavras como parte das exigências do
Programa de Pós-graduação "Stricto Sensu"
em Ciência dos Alimentos, para obtenção do
título de "Doutor".

Orientador
Prof. Luiz Ronaldo de Abreu

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2005

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Matioli, Gilson Pinto

Influência da contagem de células somáticas na qualidade do leite e nas propriedades do queijo Minas-Padrão ao longo da maturação / Gilson Pinto Matioli. -- Lavras : UFLA, 2005.

100 p. : il.

Orientador: Luiz Ronaldo de Abreu.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

I. Leite. 2. Célula somática. 3. Agente etiológico da Mastite. 4. Queijo Minas Padrão. 5. Aspecto tecnológico. 6. Maturação. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-637.35

GILSON PINTO MATIOLI

**INFLUÊNCIA DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS
NA QUALIDADE DO LEITE E NAS PROPRIEDADES DO
QUEIJO MINAS PADRÃO AO LONGO DA MATURAÇÃO.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação "Stricto Sensu" em Ciência dos Alimentos, para obtenção do título de "Doutor".

APROVADA em 04 de março de 2005

Prof. Dr. Luiz Carlos Gonçalves Costa

Profa. Dra. Sandra Maria Pinto

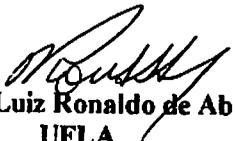
CEFET

Prof. Dr. Juan Ramon O. Perez

UFLA

Prof. Dr. Carlos José Pimenta

UFLA


Prof. Dr. Luiz Ronaldo de Abreu
UFLA
(Orientador)

**LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2005**

DEDICO

A Deus,

A meus pais, Maurílio e Sebastiana

A minha esposa e filhos, Helena, Mariana e Otávio

A minha irmã, cunhados, cunhadas e sobrinhos

AGRADECIMENTOS

A Deus por tornar possível a realização de meu sonho.

À Universidade Federal de Lavras, ao Departamento de Ciência dos Alimentos, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Prof. Luiz Ronaldo de Abreu, pela orientação e conhecimentos transmitidos, para realização deste trabalho.

Ao Prof. Geraldo Magela, do Departamento de Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Lavras, pela grande presteza e orientação nas análises microbiológicas do experimento.

Ao Dr. Renaldi Feitosa Brito, pesquisador da EMBRAPA.

À amiga e laboratorista Cleusa, do laboratório do Departamento de Ciência dos Alimentos, pela colaboração na realização das análises.

As laboratoristas Constantina e Sandra que contribuíram para as análises físico-químicas.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro para realização do projeto.

Ao Instituto Adventista (Fazenda Adventista).

À Cooperativa Agrícola Alto Rio Grande, e seus funcionários do setor de laticínios.

Aos professores do Departamento de Ciência dos Alimentos, pelos conhecimentos transmitidos.

Aos amigos de Pós-Graduação e colaboradores que tanto contribuíram para a realização deste projeto.

Ao amigo Leonardo que colaborou enormemente nas análises estatísticas.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	i
ABSTRACT	iii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 História do queijo no Brasil.....	4
2.2 Queijo minas padrão.....	5
2.3 Rendimento de queijo.....	6
2.3.1 Fatores diretos que afetam o rendimento.....	7
2.3.1.1 Composição do leite.....	7
2.3.1.2 Composição do queijo.....	8
2.3.1.3 Perdas no corte.....	8
2.3.2 Fatores indiretos que afetam o rendimento do queijo.....	9
2.3.2.1 Estocagem do leite a frio.....	9
2.3.2.2 Pasteurização do leite.....	10
2.3.3 Processo de Coagulação do leite.....	11
2.4 Proteólise.....	11
2.5 Extensão e profundidade de proteólise.....	13
2.6 pH do queijo.....	14
2.7 Proteases naturais do leite.....	15
2.8 Contagem de células somáticas.....	16
2.9 Mastite.....	17
2.9.1 Tipos de mastite.....	19
2.9.1.1 Mastite clínica.....	20
2.9.1.2 Mastite subclínica.....	20
2.9.2 Principais agentes etiológicos.....	20
2.9.2.1 Patógenos contagiosos.....	21
2.9.2.2 Patógenos ambientais.....	22
2.9.3 Métodos de diagnóstico.....	23
2.9.4 Custo do problema.....	26
2.9.5 Composição do leite de vacas sadias e vacas com mastite subclínica.....	27
2.9.6 Influência do leite de vacas mastíticas na fabricação de produtos lácticos.....	28
2.9.7 Parâmetros a serem seguidos em contagem de células somáticas de acordo com a instrução normativa Nº51.....	30
3 MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1 Seleção de animais.....	31
3.1.1 CMT e contagem de células somáticas.....	31
3.1.2 Análises microbiológica do leite.....	31

3.2 Leite.....	34
3.3 Tratamentos.....	35
3.4 Análises físico-químicas.....	35
3.5 Análises físico-químicas do leite.....	35
3.5.1 Acidez titulável.....	35
3.5.2 Gordura.....	35
3.5.3 Densidade.....	35
3.5.4 Extrato seco total.....	35
3.5.5 Determinação de nitrogênio total e proteína total.....	36
3.5.6 Determinação de nitrogênio solúvel.....	36
3.5.7 Determinação de nitrogênio não protéico.....	36
3.5.8 Cloreto de sódio.....	36
3.6 Análises físico-químicas do soro.....	36
3.7 Análises físico-químicas do queijo.....	37
3.7.1 Umidade.....	38
3.7.2 Gordura.....	38
3.7.3 Extrato seco total (E.S.T).....	38
3.7.4 Gordura no extrato seco (G.E.S).....	38
3.7.5 Nitrogênio total, caseína, nitrogênio solúvel e não protéico do queijo.....	38
3.7.6 Rendimento.....	38
3.7.7 pH.....	39
3.7.8 Avaliação dos índices de maturação (extensão e profundidade).....	39
3.7.9 Análises estatísticas.....	39
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
4.1 Contagem de células somáticas do leite.....	41
4.2 Resultados de análises microbiológicas do leite e agentes etiológicos.....	42
4.3 Resultado de análises físico-química do leite.....	43
4.3.1 Sólidos totais.....	44
4.3.2 Teor de gordura.....	45
4.3.3 Proteínas totais, caseína, proteínas solúveis e nitrogênio não protéico.....	47
4.3.4 Teores de lactose e cloretos.....	49
4.3.5 Acidez do leite.....	51
4.4 Parâmetros de fabricação do queijo em tempo de coagulação e mexedura do queijo.....	52
4.5 Composição do soro em proteínas totais, caseína, proteínas solúveis e nitrogênio não proteico.....	54
4.6 Rendimento do queijo em Cifras de transição (sólidos totais do leite para o queijo e gordura do leite para o soro).....	56
4.7 Composição do queijo em teores de gordura, gordura no extrato seco,	

umidade e sal na umidade.....	57
4.8 Rendimento e umidade do queijo.....	59
4.9 pH do queijo na maturação.....	61
4.10 Índices de extensão e profundidade de maturação.....	62
4.10.1 Extensão de maturação do queijo.....	62
4.10.2 Profundidade de maturação do queijo.....	64
5 CONCLUSÕES.....	67
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69
ANEXOS.....	78

RESUMO

MATIOLI, Gilson Pinto. **Influência da contagem de células somáticas na qualidade do leite e nas propriedades do queijo Minas Padrão ao longo da maturação.** 2005. 100 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

A contagem de células somáticas (CCS) é um método de detecção de mastite subclínica. O declínio na produção de leite causado por essa enfermidade do úbere é bastante evidente e causa sérios prejuízos econômicos para a pecuária leiteira. Com uma alta contagem de células somáticas há uma grande mudança na composição físico-química do leite, principalmente com o aumento de proteínas solúveis e diminuição de caseína. Além de afetar o rendimento industrial afetará a qualidade do produto final, por alterar as propriedades organolépticas e a vida de prateleira dos produtos. Na fabricação de queijos, há inibição no desenvolvimento do fermento inoculado e proteólise da caseína, esta causada pela enzima plasmina, que é gerada pela ativação do plasminogênio. Entretanto ainda não está completamente elucidada a intensidade dos prejuízos causados pelos diferentes agentes etiológicos da mastite. O objetivo deste trabalho foi avaliar o leite e o queijo Minas-padrão elaborado com o leite de lotes de animais com contagens de células somáticas, L1(975.000 cel/mL) L2(370.000 cel/mL) e L3(195.000 cel/mL), identificando possíveis agentes etiológicos causadores da mastite ou contaminantes do leite; avaliando o queijo quanto ao rendimento, umidade, cifras de transição, teor de gordura e gordura no extrato seco e índices de maturação do queijo Minas-Padrão. Nas análises microbiológicas do leite os resultados não diferiram estatisticamente em mesófilos, psicotróficos e nos agentes causadores de mastite ou contaminantes encontrados nos leites dos tanques de fabricação. A composição físico-química do leite, diferiram estatisticamente e com maior intensidade são os sólidos desengordurados (8,3%) e acidez (12°D) no tratamento de maior contagem de células somáticas (L1). As análises físico-químicas do soro, seguiram a mesma seqüência dos tratamentos do leite. Nos tempos de coagulação e mexedura todos tratamentos diferem entre si estatisticamente se prolongando nos tratamentos com maiores contagens L1>L2>L3. Nos teores de gordura e gordura no extrato seco do queijo, a maior umidade dos queijos com maior contagem fez conseqüentemente que estes queijos tivessem um menor teor de gordura e gordura no extrato seco. O rendimento do queijo deve ser correlacionado com o teor de umidade do mesmo, pois apesar dos tratamentos L1 e L3 serem iguais estatisticamente diferem com muita intensidade na umidade em até 8,44%. Nos índices de maturação, o NS/NT aumentou linearmente nos tratamentos L1 e L3, com uma maior intensidade no tratamento L1, devido ao maior teor de umidade

neste tratamento. No NNP/NT, os tratamentos diferem estatisticamente, com um aumento linear nos tratamentos L1 e L2 causado pelo aumento enzimático.

* Orientador: Prof. Dr. Luiz Ronaldo de Abreu - UFLA

ABSTRACT

MATIOLI, Gilson Pinto. Influence of somatic cell counting on both milk quality and Minas Padrão cheese properties along ripening period. 2005. 100 p. Thesis (Doctorate in Food Science) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Somatic cell counting (SCC) is an efficient method to detect sub-clinical mastitis. Milk yield depletion in function of that udder disease is quite evident and brings about high economical damages to dairy farmers. There is, with high SCC, a remarkable changing in the physico-chemical composition of milk, mainly in the increasing in whey protein and oppositely, decreasing in casein content. Besides affecting milk products yield, it also negatively impact the quality those products, by modify sensory properties and shelf life. In cheese manufacturing, there is a considerable inhibition of the starter culture and an abnormal proteolysis, caused by enzyme plasmin, which is generated by the activation of the plasminogen. However, it is still not totally elucidated the intensity of damages caused by the different etiological agents of mastitis. This work aimed to evaluate the milk and the Minas-Padrão cheese manufactured with milk from groups of cows, with somatic cell counting of: 975.000 cells/mL (L1); 370.000 cells/mL (L2) and 195.000 cells/mL (L3), at the same time identifying possible etiological agents involved either in mastitis or in milk contamination; evaluating cheese yield, moisture content, transition coefficients, fat content, fat in dry matter and maturation indexes of the cheeses. The results from the microbiological analysis of the milk did not statistically differ for mesofilics, psychrotrophic and for the mastitis-causing agents, as well as for the contaminants isolated from milk in the manufacturing vats. The results for the physico-chemical composition, statistically differed for total solids (8,3%) and acidity (12° D) for the treatment L1. Concerning the physico-chemical analysis of the whey, the results followed the same trends of the results from the milk. Both clotting and stirring times statistically differed among treatment, being longer for the higher SCC, being L1>L2>L3. The higher moisture content of the cheeses made from milk with higher SCC caused a considerable decreasing in fat content and fat in dry matter of the chesses. Cheese yield must be correlated with its moisture content. Despite the treatments L1 and L2 did not statistically differed for the yield they highly differed for the moisture content in up to 8,44%. In relation to the ripening indexes, the SN/TN relation linearly increased from the treatments L1 to L3 with the highest intensity for the treatment L1, due to its high moisture content. The treatments statistically differed for the NPN/TP relation, linearly increased during ripening period in the treatments L1 and L2, caused by a high activity of the enzyme involved.

* Adviser: Prof. Dr. Luiz Ronaldo de Abreu - UFLA

1 INTRODUÇÃO

O queijo é um alimento que, além de poder ser disponibilizado em uma quantidade enorme de variedades, solucionou um grande problema que se arrastava por séculos, que era a alta perecibilidade do leite e, conseqüentemente, de seus nutrientes. Dentre as diversas variedades de queijos produzidos no Brasil, destaca-se o Minas Padrão. O queijo Minas Padrão, também conhecido como Minas Curado, Minas Prensado ou Minas Pasteurizado, é um dos mais tradicionais produtos da indústria de transformação do leite no Brasil. A caracterização deste queijo se dá pela casca fina amarelada, coloração branco-creme, algumas olhaduras irregulares, sabor pronunciado levemente ácido, massa macia, quebradiça, pouco flexível e formato cilíndrico. O rendimento médio da fabricação é de cerca de 8,0-8,5 litros/kg (Furtado & Lourenço Neto 1994).

Para obtenção de queijo de boa qualidade, incluindo o Minas Padrão, é imprescindível que sua matéria-prima, o leite, possua boa qualidade. A qualidade do leite usado na fabricação de queijos deve ser controlada com rigor em alguns fatores como acidez adequada, ausência de colostro, baixa contagem de psicotróficos, ausência de resíduos de antibióticos e baixa contagem de células somáticas.

A acidificação do leite é causada por certas bactérias que realizam o processo de fermentação, transformando a lactose em ácido láctico, e em geral se deve à contaminação por flora mesofílica, impossibilitando sua pasteurização para o processo de fabricação do queijo. Leite com colostro tem composição, aparência, cheiro e sabor anormais. As bactérias psicotróficas estão relacionadas à má higienização e processo de resfriamento do leite, pois se desenvolvem a temperaturas de 7°C ou menos; uma elevada população acarreta freqüentemente queda do rendimento e qualidade do produto. Resíduos de

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 História do queijo no Brasil

A alta perecibilidade do leite fez com que surgisse interesse por aqueles leites que eram fermentados naturalmente até que se chegasse, devido à constante evolução tecnológica, aos processos atuais de fabricação de iogurtes e queijos. O queijo vem representando, durante séculos, e em várias regiões da terra, um importante papel na nutrição humana. As diferentes condições regionais fizeram com que se desenvolvessem diferentes tipos de queijos, que continuam sendo aperfeiçoadas e adaptadas tecnologicamente a cada região.

A fabricação de queijos no Brasil vem ocorrendo desde a introdução do rebanho bovino no país, que ocorreu no século XVI (Ribeiro, 1954). Por volta de 1700 foram instaladas as primeiras “fábricas de laticínios” e, segundo documentos da época, desde 1703 começou a ser racionalmente industrializado o queijo no Brasil, na província de Minas Gerais, onde esta prática era mais expressiva. Em 1772, o Rei se interessou pela nova indústria, incentivando o fabrico de queijo e manteiga. Há indícios de que em 1796 os queijos mineiros eram utilizados para pagamento de direitos alfandegários e que sua produção era cada vez maior (Dominguez Londoño, 1998).

A produção em nível industrial no país surgiu em 1888, graças ao imigrante português Carlos Pereira de Sá Fortes, médico na cidade de Barbacena, MG, o qual importou máquinas e mão-de-obra da Europa e trouxe dois mestres queijeiros da Holanda para liderar a produção, estabelecendo a primeira fábrica de queijo holandês adaptado na zona da Mantiqueira, em Minas Gerais; esta foi a primeira fábrica de laticínios do Brasil e da América do Sul (Dominguez Londoño, 1998).

Os queijos mais produzidos no Brasil são os tipos Mussarela, Prato, Minas Frescal e Minas Padrão.

2.2 Queijo Minas Padrão

O queijo Minas Padrão teve sua fabricação iniciada no século XIX, no estado de Minas Gerais, sendo considerado o mais original e antigo queijo brasileiro.

O queijo Minas Padrão, também conhecido como Minas Curado, Minas Prensado ou Minas Pasteurizado, é um dos mais tradicionais produtos da indústria de transformação do leite no Brasil. Esse queijo é ainda fabricado em determinadas regiões, principalmente no estado de Minas Gerais, onde recebe denominações específicas, destacando-se queijo do Serro, da Canastra, de Araxá, da Serra do Salitre, Catiara e o queijo de coalho, todos estes de fabricação artesanal a partir de leite cru (Abreu, 1999). A textura mais seca e a maior firmeza da massa o diferenciam do Minas Frescal. A caracterização deste queijo se dá pela casca fina amarelada, coloração branco-creme, algumas olhaduras irregulares, sabor pronunciado levemente ácido, massa macia, quebradiça, pouco flexível e formato cilíndrico. O rendimento médio da fabricação é de cerca de 8,0-8,5 litros/kg (Furtado & Lourenço Neto, 1994).

Segundo Furtado (1992), sua fabricação é feita com leite pasteurizado (72°C/15 segundos ou 65°C/30 minutos), teor médio de gordura do leite entre 3,2 e 3,4% e fermento láctico mesofilico tipo O (*Streptococcus lactis* 5% e *Streptococcus cremoris* 95%). Sua coagulação é feita através de coalho a 32°C e no corte devem obter-se grãos de tamanho grande (1,0 a 1,5 cm de aresta); após a obtenção do ponto elimina-se todo soro com pré-prensagem, corta-se em blocos e procede-se a enformagem, prensagem, salga e maturação, devendo ser maturado no mínimo por 10 dias.

Na fabricação do queijo Minas Padrão, alguns pontos devem ser rigorosamente observados a fim de se conseguir um produto de alta qualidade, dentre eles o tamanho do grão no corte, fermentação durante a agitação, ponto

da massa (umidade final) e período completo de maturação (consistência e sabor).

Um resumo da composição físico-química do queijo Minas Padrão encontra-se no Quadro 1.

QUADRO 1 Composição físico-química do queijo Minas padrão

Parâmetros	Resultados
Umidade (%)	46-49%
Gordura (%)	23-25%
PH	5,0-5,2
Sal	1,4-1,6%

Fonte : Furtado e Lourenço Neto (1994)

2.3 Rendimento de queijo

O rendimento em queijos é definido como a quantidade de queijo com determinado teor de sólidos totais produzido a partir de um peso fixo de leite (Kosikowski, 1977). A composição do leite, a porcentagem de transição dos constituintes do leite para o queijo e a porcentagem de umidade retida são os principais fatores que interferem no rendimento do queijo (Furtado, 1983). Segundo Kammerlhner (1994), a qualidade do leite, aditivos como coalho e fermento láctico e tecnologia de fabricação são determinantes para o rendimento.

Segundo Fox (1988), a fabricação da maioria dos queijos envolve essencialmente a concentração das caseínas e da gordura do leite de 6 a 12 vezes, dependendo da variedade. A concentração é obtida por meio de coagulação, dessoramento, prensagem e desidratação durante a salga e maturação do queijo (Silva, 1995). Os cálculos são; com base na composição do queijo ou então derivadas da comparação entre o rendimento real e a

composição do leite utilizado, normalmente teores de caseína, gordura e sólidos solúveis (Emmons et al., 1990). Um método para estimativa de rendimento em queijos baseia-se nas cifras de transição do leite para o queijo, as quais podem ser preditas com sucesso por fórmulas em que os valores calculados e reais são próximos (Furtado, Wolfschoon-Pombo e Munck, 1979).

2.3.1 Fatores diretos que afetam o rendimento

2.3.1.1 Composição do leite:

O leite recebido pela indústria direcionado à fabricação de queijo deve passar por algumas análises visando à qualidade do produto final, tais como cheiro, gosto e aspecto normal; acidez compreendida entre 15 a 18°D redutase entre 3ª a 4ª classe; a fermentação não deve apresentar os tipos gasosos ou esfacelado e esponjoso (Abreu, 1999).

Obviamente, a composição do leite, especialmente seu teor de proteínas e de gordura, tem um papel fundamental na definição do rendimento. Em relação às proteínas, considera-se sobretudo a caseína, que é a fração coagulável pelo coelho e que, ao formar uma rede (paracaseinato de cálcio), "aprisiona" em diferentes proporções os demais elementos do leite, como gordura, lactose e sais minerais, entre outros. Aumentando-se o teor de caseína do leite, o rendimento da fabricação é visivelmente aumentado pelo próprio peso da proteína que é retida a mais e também pelo fato de que a caseína aumenta consideravelmente a retenção de água no queijo. Por outro lado, um aumento do teor de gordura provoca o mesmo efeito positivo no rendimento; porém, neste caso a maior retenção de água no queijo é devida à menor sinérese durante a elaboração no tanque.

É muito importante que a padronização do leite para a fabricação seja feita com base na relação caseína/gordura, que mantida fixa permite obter queijos com a mesma composição físico-química. Vale ainda lembrar que a

composição do leite e, por consequência, seu rendimento, sofrem influência de diversos fatores como raça do animal, alimentação e período de lactação, entre outros (<http://www.milknet.com.br>). |

2.3.1.2 Composição do queijo:

A influência mais expressiva é do teor de umidade do queijo. Naturalmente, quanto maior o teor de água de um queijo, melhor será o rendimento daquela respectiva fabricação.

Segundo Furtado (1983a), o teor de umidade do queijo influencia indiretamente na textura, favorecendo o crescimento bacteriano e a atividade enzimática sobre a lactose, proteínas e citratos, afetando o percentual de proteínas solúveis, que pode variar de queijo para queijo com o mesmo período de maturação em função das bactérias lácticas. |

Procura-se sempre manter um teor de umidade compatível com as características funcionais e sensoriais desejadas num determinado queijo; a melhor abordagem é a padronização da Umidade no Extrato Desengordurado (UESD) do Queijo, um parâmetro cada vez mais usado por modernas fábricas de queijo. Obviamente, quanto maior for o teor de proteínas ou de gordura de um queijo, mais positivo será o efeito no rendimento. Compreende-se assim porque o "ponto" da fabricação é um fator fundamental na definição do rendimento, pois regula o teor final de umidade do queijo, juntamente com o corte da coalhada e o processo de acidificação no tanque e na prensa (<http://www.milknet.com.br>).

2.3.1.3 Perdas no corte:

O corte da coalhada tem como objetivo aumentar a superfície da mesma, acelerando a eliminação do soro, uma vez que esta operação torna mais fácil a

contração. Cortes mal feitos, desordenados, contribuem para perdas de gordura e caseína no soro (Abreu, 1999).

Sem dúvidas, é impossível cortar uma coalhada sem que haja, no soro, perdas parciais de componentes do leite. Entretanto, estas perdas podem ser minimizadas através da coagulação bem controlada do leite e de um corte cuidadoso da coalhada. A rapidez do corte e o tamanho dos grãos, bem como a intensidade da agitação feita imediatamente após o corte, têm forte influência nas perdas de gordura e proteínas no soro (<http://www.milknet.com.br>). Por outro lado, o processo de coagulação é afetado por outros fatores, como a temperatura de pasteurização do leite, seu teor de cálcio e proteínas, acidez e pH, temperatura de adição do coalho, entre outros. Considera-se normal, no Brasil, que cerca de 10 a 15% da gordura do leite se percam no soro no momento do corte. Esta porcentagem poderá variar em função do teor de caseína do leite.

2.3.2 - Fatores indiretos que afetam o rendimento do queijo

2.3.2.1 Estocagem do leite a frio:

A estocagem prolongada do leite cru a baixas temperaturas provoca mudanças físico-químicas no leite, como a dissociação parcial da caseína micelar (fração β), que passa para a fase solúvel, aumentando as perdas de nitrogênio, gordura e finos de coalhada, conseqüentemente reduzindo o rendimento da fabricação. Em resumo, trabalhando com o leite "do dia" há mais chances de melhorar o rendimento. Este é um fator cada vez mais importante, dada a tendência crescente de se trabalhar com leite estocado nas fábricas (<http://www.milknet.com.br>).

Outro problema relativo à estocagem de leite a frio são os psicrotróficos, que são microrganismos como os do gênero *Pseudomonas* ou *Achromobacter* que podem desenvolver-se rapidamente no leite, mesmo a baixas temperaturas de estocagem, como 7°C ou menos (Abreu, 1999). Produzem

lipases e proteases de alta termoresistência que passam pela pasteurização, ou mesmo pela esterilização do leite. Estas proteases podem degradar lentamente a caseína, aumentando a perda de nitrogênio e finos de coalhada no corte. Considera-se, por exemplo, que contagens de psicrotróficas superiores a 1×10^6 ufc/ml podem comprometer não somente o rendimento da fabricação, mas também o sabor do queijo, especialmente se este for de longa maturação como o Parmesão, através da ação de lipases que degradam triglicérides, provocando a rancidez do queijo. A boa higiene da produção do leite pode reduzir drasticamente a contaminação com psicrotróficas.

2.3.2.2 Pasteurização do leite:

A composição físico-química do leite sofre uma série de alterações quando ele é submetido ao tratamento térmico. O grau de alteração depende da temperatura e do tempo de aplicação (Silva, 1975). Quando o leite é pasteurizado, uma pequena porcentagem das soro-proteínas é desnaturada (cerca de 2 a 3%). A β -lactoglobulina desnaturada tende a agregar-se à k-caseína, e passa em parte para a coalhada, ao invés de perder-se no soro, como acontece usualmente com as soro-proteínas. Este fenômeno provoca um ligeiro aumento no rendimento, pela própria presença da soro-proteína e também por sua conhecida capacidade de hidratação. Deduz-se assim que, comparado ao leite cru, o leite pasteurizado possibilita maior rendimento. Quanto maior for a temperatura de pasteurização, maior será o índice de desnaturação. Entretanto, não é aconselhável o uso de temperaturas superiores a $75^\circ\text{C} / 15$ segundos (Furtado, 1983) porque a coalhada torna-se mais mole, com risco de maiores perdas no corte, e o queijo torna-se mais úmido, curando mais rápido e com maior risco de apresentar gosto amargo (maior retenção de coalho), além de possíveis problemas com o fatiamento após um certo período de cura, em casos de queijos semiduros como o Prato ou filados como a Mussarela.

2.3.3 Processo de coagulação do leite:

A coagulação do leite ocorre com a desestabilização do complexo micelar caseínico, o que pode ser conseguido por meio de enzimas proteolíticas, precipitação isoelétrica ou ação conjunta de ácido e calor (Fox, 1988).

A enzima que alia a melhor atuação coagulante à mais alta especificidade, e portanto permite o melhor aproveitamento de elementos do leite na coalhada e melhor rendimento, é a quimosina (presente nos coalhos obtidos por fermentação, genericamente conhecidos por "genéticos"), seguida pela pepsina bovina. A escolha adequada do tipo de coalho é, portanto, um fator de grande importância no controle do rendimento da fabricação de queijos (<http://www.milknet.com.br>).

Segundo Silva (1995), a quimosina (EC 3.4.23.4) uma enzima proteolítica atua sobre a k-caseína ao acaso, movimentando-se pela fase líquida, e através da camada de filamentos, até encontrar um sítio vulnerável. A hidrólise ocorre na ligação entre os aminoácidos fenilalanina (105) e metionina (106), e a seqüência de aminoácidos compreendida entre a histidina (98) e a lisina (112) garante a conformação espacial adequada (Fox, 1989). O efeito do cálcio na agregação é essencial e não parece ser devido à diminuição de cargas, mas à formação das últimas ligações entre os agregados micelares (Walstra, 1990). A fração amino-terminal proveniente da hidrólise da k-caseína é insolúvel na presença de íons de cálcio, passando a fazer parte da estrutura do coágulo. A fração carboxi-terminal, genericamente denominada caseíno-macropéptido, é solúvel na presença de íons cálcio, sendo perdida no soro (Fox, 1991).

2.4 Proteólise

Segundo Fox (1989), a proteólise pode ser dividida em três fases distintas: 1) no leite antes da fabricação; 2) na coagulação enzimática do leite; e 3) durante a maturação ou armazenamento.

1) leite antes da coagulação: a quebra ou degradação das proteínas ocorre por proteases naturais do leite, como a proteinase alcalina (plasmina), ou é de origem microbiana, como as proteinases produzidas por bactérias psicrotólicas. Em leites provenientes de animais com mastite podem ocorrer proteinases de leucócitos, capazes de afetar a qualidade e o rendimento de queijos produzidos com estes leites (Fox, 1989).

2) coagulação enzimática do leite: este processo é o resultado da ação de uma enzima (quimosina, pepsina ou protease ácida fúngica similar) que degrada a k-caseína na ligação Phe 105 e Met 106 e ainda pode ter uma ação proteolítica não específica na qual continuaria hidrolizando a k-caseína em grandes peptídeos (Wolfschoon – Pombo, 1983).

3) maturação do queijo: os principais agentes são enzimas coagulantes, enzimas naturais do leite, enzimas de bactérias lácticas utilizadas como fermento. A maior parte dos microorganismos que crescem dentro ou na superfície dos queijos possui proteases endo e exocelulares que são liberadas na maturação. As bactérias do fermento láctico promovem a liberação de peptídeos da caseína por meio de proteases que elas produzem, sendo que alguns destes peptídeos (hidrofóbicos) podem conferir gosto amargo aos queijos (Wolfschoon – Pombo, 1983).

Segundo Abreu (1999), a composição química do queijo se altera da seguinte maneira:

- a) A água não sofre alterações durante a maturação, é simplesmente evaporada;
- b) As proteínas são as que mais se alteram quimicamente. No início da maturação ocorrem apenas 4% do total de proteínas solúveis (formando complexos aquo-solúveis), chegando ao final da maturação com cerca de 33% das proteínas solúveis.

- c) A gordura é formada pela combinação de 3 ácidos graxos com uma molécula de glicerol. Os responsáveis pelo sabor durante a maturação são o butírico, capríico e cáprico.
- d) A lactose é fermentada pelos microrganismos, produzindo ácido láctico. No Queijo Frescal encontram-se de 1 a 2% de lactose, sendo que após 24 horas de cura quase toda a lactose já foi transformada, sendo que depois da segunda semana já não existe mais.
- e) Os sais no queijo apresentam características ácidas. A amônia produzida, reagindo com estes sais, neutralizam a acidez destes.
- f) Os gases são formados durante a maturação (H₂ e o CO₂), cuja quantidade é em função da cultura utilizada no fermento láctico e da temperatura de maturação.

2.5 Extensão e profundidade da proteólise

O avanço da proteólise em queijos pode ser mensurado através de índices chamados de “extensão” e “profundidade”. Extensão da proteólise é caracterizada pela quantidade de substâncias nitrogenadas solúveis (NS) acumuladas durante o processo e expressas como porcentagem do nitrogênio total, também conhecido como índice de maturação. Pode-se afirmar que extensão da proteólise em queijos é a ação proteolítica do coalho sobre as caseínas, principalmente nas frações α e β , que elevam o teor de peptídeos de médio e baixo peso molecular que compõem o nitrogênio solúvel (Choisy et al., 1984).

A determinação analítica da extensão da maturação é baseada na precipitação isoeletrica da caseína a pH 4,6 em uma amostra diluída de queijo e da quantificação das substâncias solúveis através do método de Kjeldahl (Wolfschoon-Pombo e Lima, 1989).

$$\text{Extensão} = \frac{\text{NS} \times 100}{\text{NT}}$$

NT

NS: Nitrogênio solúvel.

NT: Nitrogênio total.

Profundidade da proteólise diz respeito às substâncias nitrogenadas de baixo peso molecular acumuladas durante o processo, tendo como compostos característicos aminoácidos, oligo-peptidases, aminas, entre outros. A quantificação da profundidade pode ser obtida pelo teor de nitrogênio não protéico (NNP), que são aqueles solúveis em ácido tricloroacético (TCA) a 12%, ou pela determinação direta dos aminoácidos produzidos e expressos como percentual de proteína solúvel total (Wolfschoon-Pombo e Lima, 1989).

$$\text{Profundidade} = \frac{\text{NNP} \times 100}{\text{NT}}$$

NT

NNP: Nitrogênio não-protéico.

NT: Nitrogênio total.

O índice de profundidade de proteólise é relacionado à atividade do fermento. As proteinases e peptidases atuam sobre peptídeos, principalmente os liberados devido à ação do coalho, produzindo compostos de baixo peso molecular, aumentando o nitrogênio solúvel em TCA 12% (Farrey e Fox, 1990; Choisy et al., 1984).

2.6 pH do queijo

O pH do queijo influi no sabor e, principalmente, nas reações bioquímicas responsáveis pela maturação. Estas reações são catalizadas por enzimas naturais do leite, do coalho e produzidas por microrganismos que dependem do pH para sua atividade. Os microrganismos são responsáveis pela alteração de textura e do sabor do queijo devido à produção do ácido lático e de

outros compostos a partir da lactose e da degradação de proteínas e lipídeos (Oliveira, 2001).

2.7 Proteases naturais do leite

No leite cru, a atividade das proteases naturais é considerada baixa. A plasmina é uma protease natural do leite; a maior parte desta enzima se encontra no leite sob a forma de seu precursor, plasminogênio, que não tem atividade proteolítica. Células somáticas, especialmente em altas contagens, produzem um ativador do plasminogênio que pode convertê-lo para a plasmina ativa ainda na glândula mamária. Como a temperatura ideal para a atuação da plasmina é próxima à temperatura corporal da vaca, a maior parte do dano provocado por sua atividade proteolítica na caseína ocorre ainda no úbere.

A plasmina cliva a β -caseína em solução, levando à formação de γ -caseínas (Grappin, Rank e Olsn, 1985). Esta enzima (protease natural do leite) está associada à caseína; com o abaixamento do pH na fabricação de queijo ocorre uma dissociação. A proporção de plasmina é maior em queijos, nos quais o dessoramento da massa ocorre em pH alto, e menor em queijos mais ácidos. A plasmina, porém é relativamente resistente ao calor e parece ter grande atuação na degradação da caseína (Lawrence, Creamer e Gilles, 1987). Se o leite for resfriado rapidamente após a ordenha, os efeitos negativos no rendimento são consideravelmente reduzidos.

Walstra, Noomen e Geurts (1987) relatam que as proteases do leite atuam sozinhas no queijo. Elas podem decompor a alfa S1 e a β -caseína em algumas extensões durante a maturação prolongada, com aparecimento de pequenas quantidades de peptídeos de baixo peso molecular e liberação de aminoácidos.

De acordo com Minussi (1994), a atividade proteolítica sobre a caseína durante a maturação é resultado da ação sinérgica do coalho e do fermento

lático. Produtos de degradação liberados por certos agentes são usados por outros e o processo pode ser considerado uma cadeia de degradação. A Figura 1 esquematiza a proteólise da caseína pela ação de enzimas (proteases) presentes no fermento láctico e no coalho adicionados durante a fabricação do queijo, além de enzimas (proteases) naturais presentes no leite.

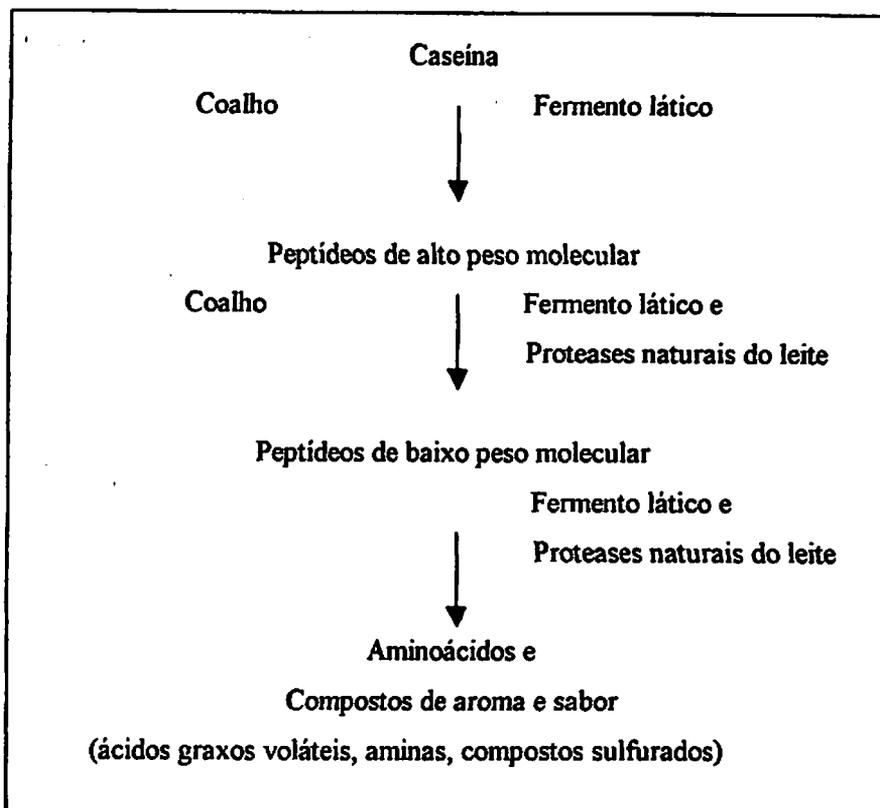


FIGURA 1 Proteólise da caseína - adaptado de Law (1981)

2.8 Contagem de células somáticas (CCS):

O termo somático se refere a corpo (organismo). Portanto, uma célula somática é, simplesmente, qualquer célula do corpo do animal, seja ela da pele,

dos ossos, dos músculos ou do sangue. As células somáticas predominantes no leite pertencem a dois grupos: as epiteliais (células secretoras de leite, específicas da glândula mamária) e as células brancas do sangue ou leucócitos (Brito 2003). A contagem de células somáticas (CCS) é também o índice mais usado para estimar o nível de infecção da glândula mamária de vacas individualmente e de rebanhos (Rebuhn, 1995). O aumento da contagem de células somática acontece na maioria das vezes por uma infecção microbiana que ataca o úbere de matrizes leiteiras, danificando o tecido celular e atraindo para o local células brancas (leucócitos) do sangue, que são parcialmente transferidas para o leite. Se a CCS ultrapassa a 2×10^6 /ml, as enzimas proteolíticas que produzem atingem um nível e atividades suficientes para degradar a caseína a ponto de diminuir o rendimento da fabricação. Além disso, células somáticas contêm fortes componentes antimicrobianos que podem ser liberados no leite e vir a inibir a atividade das culturas lácticas.

As altas contagens de células somáticas acabam tendo, portanto, uma influência negativa no rendimento de queijo.

2.9 Mastite

O termo mastite é derivado do grego *mastos*, que significa mama, e *ite*, que indica ser uma inflamação; portanto, a mastite bovina é definida como uma doença inflamatória na glândula mamária, podendo afetar um ou mais tetos. A mastite geralmente é ocasionada por microrganismos patogênicos, e o objetivo da reação inflamatória é eliminar o microrganismo invasor e restabelecer a função normal do teto afetado (Nascif Junior, 2000).

A mastite, também conhecida como mamite, vem sendo considerada, desde o século XIX, uma das enfermidades mais importantes da pecuária leiteira devido, principalmente, aos prejuízos econômicos que acarreta. Tem sido definida como a reação inflamatória da glândula mamária (IDF, 1987), a qual é

caracterizada por alterações físicas e químicas, pelo aumento na ocorrência de células somáticas no leite (Tolle, 1975) e por alterações patológicas na própria glândula mamária.

Vários autores (Fonseca, 2000; Brito, 1999; Nickerson, 1994) caracterizam a mastite bovina como um processo inflamatório da glândula mamária que assume relevância econômica, não só devido ao aumento dos custos de substituição de animais e a perdas do potencial genético destes, mas também pelos elevados prejuízos decorrentes da redução da quantidade e da qualidade do leite, havendo, inclusive, riscos à saúde pública pelo fato de o leite proveniente de vaca com mastite poder veicular agentes patogênicos ao homem.

Além dos prejuízos acima citados, essa enfermidade modifica negativamente a composição do leite. Isso leva à diminuição do valor nutritivo do leite e produtos lácteos, especialmente em relação aos teores de cálcio. Além disso, o leite adquire um sabor salgado devido ao aumento dos níveis de sódio e cloro à queda do percentual de lactose (Kitchen, 1981).

Os efeitos das mastites sobre a proteína do leite são de natureza qualitativa, uma vez que os valores absolutos de proteína bruta não sofrem alterações significativas. As quantidades relativas e absolutas de imunoglobulinas e albuminas originadas do soro podem aumentar significativamente; por outro lado, o leite proveniente de vacas com mastite apresenta menor teor de caseína, mais especificamente k-caseína e β -caseína, acompanhada da queda dos níveis de β -lactoglobulina e α -lactoalbumina, podendo diminuir em até 70% de seus níveis normais (Brito, 1999). As conseqüências mais importantes destas alterações manifestam-se sobre o rendimento industrial e o valor nutritivo dos produtos lácteos, sobretudo queijos e iogurtes.

A ocorrência de mastite pode afetar, também, a qualidade microbiológica do leite (Germano & Germano, 1995). Primeiramente, os próprios patógenos

causadores da mastite podem gerar aumento na contagem total de mesófilos do leite entregue à indústria. Isto particularmente é importante em rebanhos que apresentam alta prevalência da doença causada por *Streptococcus agalactiae* e *S. uberis*. Além disso, outras bactérias causadoras de mastite, tais como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, podem gerar toxinas termoresistente, o que representa um risco considerável à saúde humana (Bramley, 1996).

O tratamento das mastites, por outro lado, apresenta sérias implicações em Saúde Pública devido, sobretudo, à presença de resíduos de antibióticos no leite. Alguns estudos têm demonstrado que a maior fonte destes resíduos é representada pela freqüente inoculação intramamária de antibióticos utilizados no combate à mastite (Allison, 1995). Os antimicrobianos (antibióticos e sulfonamidas) são freqüentemente usados para o tratamento de mastite ou outras infecções das vacas leiteiras. Conseqüentemente, o leite eliminado por esses animais durante, e por um certo período, após o tratamento, pode conter resíduos dessas substâncias, isto é, a própria droga ou um metabólico. A presença desses resíduos interfere diretamente com a qualidade do leite e com os processos industriais, além de constituir, em alguns casos, um problema para saúde pública.

O consumo de leite com resíduos antimicrobianos pode causar intoxicações, alergias e resistência bacteriana (Brito, 1999).

2.9.1 Tipos de mastite

Segundo Nikerson (1986), a doença pode manifestar-se de duas formas distintas: clínica e subclínica. A primeira caracteriza-se por ser facilmente reconhecida devido a alterações visíveis tanto no leite como no úbere do animal, tais como grumos e pus formados pelos leucócitos que passam para o leite, pela presença de leite aquoso ou pela inflamação visível do úbere, que se apresenta endurecido, com elevação de temperatura e dolorido ao tato. Já na forma

subclínica essas alterações não são percebidas, já que tanto o leite como o animal apresentam-se aparentemente normais.

2.9.1.1 Mastite clínica

É o tipo que pode ser visualizada através das condições anormais do úbere. Caracteriza-se pelas alterações presentes no leite como coágulos, leite aguado, úbere inchado, dolorido, avermelhado e quente. Representa em torno de 5% dos casos de mastite (Correia, 1989).

2.9.1.2 Mastite subclínica

É uma forma de mastite na qual não ocorre inchaço do úbere ou anormalidades visíveis no leite, embora sejam casos que possam ser detectados por testes especiais. Este tipo de mastite é o de maior ocorrência, em torno de 95%; e causa os maiores prejuízos econômicos pelo fato de ser de difícil detecção pelos produtores menos avisados (Correia, 1989).

Segundo Auld e Hubble (1998) a mastite, tanto na forma clínica como na subclínica, afeta a produção e a composição do leite e de seus derivados, além de causar problemas de saúde pública através do consumo de leite e derivados contaminados. A mastite subclínica se torna a forma mais importante pois ocorre com maior frequência. Normalmente antecede a forma clínica, sendo necessário uma atenção maior nesta fase da doença; geralmente é de longa duração, difícil e cara de ser detectada no rebanho, reduzindo consideravelmente a produção e afetando negativamente a qualidade do leite. Entretanto, os dois tipos ocorrem geralmente de formas independentes, devido às características de infecção.

2.9.2 Principais agentes etiológicos

Segundo Philpot & Nikerson (2003), já foram descritos mais de 140 microrganismos como sendo agentes etiológicos da mastite bovina, os quais

microrganismos podem ser divididos em duas categorias: patogênicos (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus ssp* e várias espécies de bactérias gram negativas como *Escherichia coli* e *Enterobacter ssp*) e ambientais (*Streptococcus uberis*, *Proteus ssp*, *Candida ssp*, entre outros) (Watts, 1988). Entre outros encontram-se *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulase negativa*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Nocardia sp*, *Mycoplasma sp*, *Serratia marcescens*, *Prototheca sp*, *Listeria monocytogenes*, *Corynebacterium sp* (Fedio et al., 1990; Cordeiro et al. 1991; Dohoo, 1991; Fox & Gay, 1993; Baudet & Chieze, 1994).

Os agentes infecciosos mais frequentemente isolados por Du Preez (1985) dos canais dos tetos de vacas foram *Staphylococcus coagulase negativa* (45%), *Staphylococcus aureus* (18%) e *Corynebacterium bovis* (16%). Harmon et al. (1986) identificaram 46% de quartos infectados por *C. bovis*. Timms & Schultz (1987) relataram que alta incidência, longa duração, mudanças na composição do leite e queda na produção, causadas pela infecção por *Staphylococcus coagulase negativa*, justificam a atenção a estes microrganismos como causadores da mastite bovina

2.9.2.1 Patógenos Contagiosos

A mastite contagiosa é causada por microrganismos que sobrevivem e se multiplicam no tecido epitelial dos tetos, nas lesões dos tetos e no interior da glândula mamária. A principal fonte desses microrganismos são as vacas infectadas do rebanho. A transmissão dos agentes causadores da mastite contagiosa se dá principalmente durante a realização da ordenha via mãos dos ordenhadores e teteiras contaminadas. No entanto, é possível ocorrer transmissão desses agentes durante o período entre as ordenhas, e as possíveis

fontes de infecção podem ser a cama contaminada, o contato dos tetos com os membros posteriores, a vassoura da cauda e as moscas Philpot (1979).

Segundo Harmon (1994) os patógenos contagiosos causadores da mastite são o *Staphilococcus aureus* e o *Streptococcus agalactiae*. O principal reservatório para esses agentes é a glândula mamária infectada, e as infecções se disseminam entre as vacas ou entre os quartos durante o momento da ordenha. As infecções tendem a serem crônicas, isto é, de longa duração, e subclínicas com períodos de manifestações clínicas. Dessa forma, a mastite contagiosa resulta em decréscimo na produção de leite e aumento na contagem de células somáticas do tanque, apesar de haver pouca manifestação de sintomas visíveis, caracterizando-se, de certa forma, como um tipo invisível de mastite. Os rebanhos com altas contagens de células somáticas tendem a ter altos níveis de infecção por patógenos contagiosos.

2.9.2.2 Patógenos ambientais

A mastite ambiental é causada por microrganismos que habitam e se multiplicam em locais a como cama dos animais, dejetos e solo. Essas bactérias não se estabelecem na superfície dos tetos; portanto, a alta prevalência da mastite ambiental reflete uma condição de contaminação do ambiente. Os patógenos ambientais são transmitidos principalmente no período entre ordenhas; no entanto, eles podem ser transmitidos durante a ordenha, particularmente nos casos em que o úbere está excessivamente úmido quando da colocação do equipamento de ordenha (Philpot 1979).

A complexidade da mastite ambiental é maior do que a da contagiosa e o seu controle é mais difícil. Os coliformes mais comuns associados à mastite ambiental são *Escherichia coli*, *Klebsiela spp* e *Enterobacter aerogenes*; os Estreptococci ambientais *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Streptococcus bovis*. O *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis* são os

enterococci mais comuns. Em contraste com a mastite contagiosa, os patógenos ambientais sobrevivem e se multiplicam prontamente no ambiente da vaca, especialmente em locais como a cama e dejetos; dessa forma os animais ficam expostos a esse microorganismos no período entre as ordenhas (Harmon, 1994).

2.9.3 Métodos de diagnóstico

Como métodos de diagnóstico de mastite podemos citar o Tamis ou teste da caneca de fundo preto, Californian Mastitis Test (CMT), teste de condutividade elétrica e Contagem de células somáticas (CCS), dentre outros.

O teste da caneca telada, caneca de fundo preto ou Tamis é utilizado ao pé do animal antes de se iniciar a ordenha, facilitando a observação de grumos, pus, filamentos e soro, utilizando os primeiros jatos de leite e, portanto, tem como objetivo detectar a mastite clínica, ou seja, o estado mais avançado da doença (Radostis, 1994).

No CMT, Califórnia Mastitis Test, o DNA do núcleo de células somáticas é o princípio ativo presente no leite; as células rompidas pelo reagente liberam o DNA, que forma um gel. Após a mistura do leite com o reagente num recipiente branco, o resultado é interpretado como reações negativas, traços, 1, 2, 3, dependendo da quantidade de formação de gel na amostra. O CMT é bastante usado no laboratório e no campo, tendo a vantagem de poder ser usado no leite total de uma vaca, de galões individuais e de leite de tanque de um rebanho, bem como de quartos individuais (Schalm, 1971).

Teste de condutividade elétrica pode ser definido como a medida da resistência de um material em particular a uma corrente elétrica. A resistência elétrica de uma solução eletrolítica é definida como sendo a resistência da solução presente em um cubo de 1 centímetro cúbico em volume. A condutividade é recíproca à resistência (Nielen et al., 1992). A condutividade elétrica no leite é determinada pela concentração de ânions e cátions. Os íons

mais importantes do leite são Na^+ , K^+ e Cl^- (Kitchen, 1981; Sherbon, 1988). As células secretórias na glândula mamária possuem sistemas de transporte ativo para bombear o Na^+ para o fluido extracelular e o K^+ para dentro da célula. O Na^+ e o K^+ são transportados passivamente das células secretórias para o leite. A proporção $\text{Na}:\text{K}$ é de 30:1 no líquido extracelular e no sangue e 1:3 no líquido intracelular e no leite. A concentração de Cl^- no sangue e no líquido extracelular é maior do que no leite (Kitchen, 1981). Os ductos mamários parecem ser impermeáveis aos íons e à lactose (Linzell & Peaker, 1971). Com a mastite sabe-se que as concentrações de lactose e K^+ estão diminuídas e as concentrações de Na^+ e Cl^- estão aumentadas no leite oriundo de quartos afetados. Este fato decorre do aumento da permeabilidade capilar do sangue, da destruição das junções celulares e da destruição do sistema de bombeamento ativo de íons (Kitchen et al., 1980). Após o dano celular, Na^+ e Cl^- , que têm altas concentrações no líquido extracelular, extravasam para o lúmen do alvéolo. Em compensação, para manter a pressão osmótica, as concentrações de K^+ e lactose no leite diminuem (Oshima, 1977).

A contagem de células somáticas (CCS) é outro método para detecção da mastite e corresponde ao aumento do número de leucócitos presentes no leite, sendo a maioria correspondente a neutrófilos polimorfonucleares, provocados pela invasão da glândula mamária por microrganismos. Essas células fazem parte do mecanismo natural de defesa do animal, migrando da corrente circulatória para glândula mamária e, conseqüentemente, para o leite. A CCS no leite, quando comparada com outras provas, identifica com maior acurácia os quartos portadores de infecção intramamária. A sua determinação é um método convencional e amplamente utilizado para o diagnóstico da mastite subclínica, principalmente naquelas regiões em que existe uma atividade leiteira mais desenvolvida, sendo uma ferramenta valiosa para ajudar os produtores de leite

na avaliação da presença de mastite em seus rebanhos (Timms e Schultz, 1987; Heeschen e Reichmuth, 1995).

As infecções que acometem a glândula mamária provocam aumento na contagem de células somáticas (CCS) de leite. Estas células estão presentes normalmente no leite e são constituídas, em sua grande maioria, por leucócitos, sobretudo neutrófilos, e células de descamação do epitélio secretor da glândula. Durante a evolução da mastite há um influxo maior dessas células para a glândula mamária, conduzindo à elevação do seu número (Nickerson, 1994).

Segundo Abreu (1999), os seguintes fatores são responsáveis pelo aumento da CCS: estágio de lactação avançado, idade avançada do animal, stress do animal, estação do ano (altas temperaturas e umidade aumentam o número de agentes patogênicos), injúrias na glândula mamária e causas indiretas (ordenha conduzida de forma inadequada).

O aumento na CCS está associado a diversas conseqüências negativas sobre o leite fluido e derivados, com destaque para as perdas no rendimento industrial de fabricação de produtos lácteos e para diminuição do seu respectivo “tempo de prateleira” (Fonseca, 2000).

A CCS é uma tendência em países economicamente desenvolvidos que exigem pagamento do leite por qualidade por se mostrar mais precisa que o CMT. Este método pode ser feito de duas maneiras: em grande escala, por um aparelho chamado de Contador Eletrônico de Células Somáticas; ou em laboratório, através de visualização em lâminas marcadas (Araújo e Andreoli 1996, Cruz et al 1997).

Os valores de CCS estão diretamente relacionados ao aumento na contagem de bactérias psicrófilas no leite. Esta associação advém do fato de que a principal fonte destes microrganismos é a superfície externa dos tetos (Fonseca, 2000). Assim, quanto melhor a desinfecção tetos, mais baixa a CCS e menor a concentração de bactérias psicrófilas no leite produzido. Deve-se

ressaltar que os critérios de higiene da glândula mamária tomam-se ainda mais importantes à medida que se intensificam as ações para o resfriamento do leite na propriedade rural, imediatamente após a ordenha, a exemplo do que vem ocorrendo atualmente no país (Fonseca, 2000).

2.9.4 Custo do problema

Mastite é ainda a terceira principal causa para o descarte de vacas, perdendo para a baixa produção de leite e para os problema reprodutivos. Mastite é responsável por praticamente 10% dos animais descartados (Monardes, 1990). Desta forma, o custo de uma reposição precoce deve ser considerado. Em 1975, foi estimado que a mastite estava causando perdas de 38 milhões de toneladas de leite por ano em todo o mundo (Weitz, 1975) devido a casos observáveis de mastite. Perdas podem representar mais de 200 milhões de dólares no Canadá. Em nível de rebanho, o custo anual da mastite deve variar entre \$140 a \$300 dólares por vaca.

No Brasil, presume-se que 47% do rebanho leiteiro apresentem mastite subclínica, enquanto 3% apresentam mastite clínica, e que 50% das vacas leiteiras possuem quartos infectados. O monitoramento da CCS permite a avaliação do nível e duração da mastite e da efetividade dos procedimentos de controle.

O Quadro 2 apresenta resultados das perdas de produção de leite em função de CCS.

QUADRO 2- Relação entre CMT, CCS e perdas na produção de leite.

Reação do CMT	Correspondência em CCS (Células/mL)	Perdas na produção de leite
0	140.000 a 195.000	5%
Traços	225.000 a 380.000	8%
1	420.000 a 1.200.000	9% a 18%
2	1.280.000 a 2.280.000	19% a 25%

Fonte: Adaptado de Philpot e Nickerson (1991)

2.9.5 Composição do leite de vacas sadias e vacas com mastite subclínica

Diferenças na composição do leite de vacas sadias e vacas com mastite subclínica estão apresentadas no Quadro 3.

QUADRO 3- Composição do leite de vacas sadias e com mastite subclínica

Componente	Normal %	Leite de vacas com mastite subclínica %
Gordura	3,5	3,2
Lactose	4,9	4,4
Proteína total	3,61	3,56
Caseína	2,8	2,3
Proteínas do soro	0,8	1,3
Albumina sérica	0,02	0,07
Lactoferrina	0,02	0,1
Imunoglobulinas	0,1	0,6
Sódio	0,057	0,105
Cloreto	0,091	0,147
Potássio	0,173	0,157
Cálcio	0,12	0,04

Fonte: NATIONAL MASTITIS COUNCIL (1996).

2.9.6 Influência do leite de vacas mastíticas na fabricação de produtos lácteos

No leite com alta contagem de células somáticas devido à mastite há um aumento da atividade enzimática, promovendo maior ativação do plasminogênio em plasmina (Sharma & Randolph, 1974), a qual promove proteólise principalmente na caseína e, mais especificamente, na k-caseína e na β -caseína, alterando a composição protéica do leite e diminuindo o rendimento na fabricação de queijos como o prato e ricota. A plasmina, além de agir como um inibidor do ataque de microrganismo invasores que causam a mastite, inibe também o desenvolvimento dos microrganismos do fermento láctico, aumentando o tempo de fabricação do queijo e prejudicando o desenvolvimento do fermento láctico, o que altera a maturação do queijo e a fabricação do iogurte.

Na elaboração de queijos semiduros, a diminuição no rendimento industrial é particularmente drástica, podendo alcançar valores de até 4%. Isto significa uma perda final de 400kg de queijo para cada 100.000 litros de leite processado, se for considerado o rendimento médio de 1 Kg de queijo para cada 10 litros de leite utilizado. Há referências que atestam, também, o aumento do prazo necessário à coagulação do queijo, a perda de proteína no soro e o aumento na probabilidade de ocorrência de sabor rançoso no queijo e na manteiga (Barbano et al., 1991; Kitchen, 1981; Politis & Ngkwai-Hang, 1988).

Em queijos macios como Minas Frescal, o rendimento do leite em queijo foi altamente influenciado pela contagem de células somáticas do leite. Leites com contagens de células somáticas acima de 1.250.000 tiveram seu rendimento em queijos diminuídos em até 9,81% (Matioli 2000).

As alterações no “tempo de prateleira” ocorrem no leite fluido e em produtos derivados. Este fenômeno deve-se, principalmente, à ação de enzimas proteolíticas, as quais, em grande parte, são termoestáveis, permanecendo ativas mesmo após os processos usuais de pasteurização do leite. Os principais efeitos

destas enzimas manifestam-se na forma de alterações no sabor dos produtos lácteos. As enzimas proteolíticas geram um sabor amargo no leite armazenado e seus derivados, enquanto as enzimas lipolíticas predis põem à ocorrência de sabor rançoso, em função da quebra dos ácidos graxos de cadeia curta (Murphy, 1989; Reneau, 1991).

2.9.7 Parâmetros a serem seguidos em contagem de células somáticas de acordo com a instrução normativa nº 51.

A contagem de células somáticas, é o índice mais usado para estimar o nível de infecção da glândula mamária de vacas individualmente e de rebanhos, utilizados mundialmente.

A legislação brasileira (Brasil, 2002), estabeleceu recentemente padrões de contagens de células somáticas para o leite, com limites para o leite A e B de 600.000 células por mililitro e de até 1.000.000 para o leite tipo C e a nova modalidade denominada de “leite cru refrigerado”. Para Região Sul, Sudeste e Centro Oeste, a partir de 2005 e nas regiões Norte e Nordeste, a partir de 2008 os limites para o leite cru refrigerado serão reduzidos para 750.000 em 2008 e 2010 e para 400.000 em 2011, respectivamente nas mesmas regiões. Dessa forma em aproximadamente dez anos, o leite produzido no Brasil atenderia às exigências normativas atualmente em uso na União Européia e países como Austrália, Japão e Nova Zelândia (Cbql, 2003).

No quadro 4 verificamos, a instrução normativa nº 51.

**QUADRO 4 - Parâmetros a serem seguidos em contagem de células somáticas
acordo com a instrução normativa nº 51**

Índice medido (por propriedade rural ou por tanque comunitário)	Até 01/07/2005 regiões: S, SE, CO. Até 01/07/2007 regiões: N e NE	De 01/07/2005 a 01/07/2008 regiões: S, SE e CO. De 01/07/2007 a 01/07/2010 regiões: N e NE	A partir de 01/07/2008 a 01/07/2011 Regiões S, SE e CO. A partir de 01/07/2010 a 01/07/2012 Regiões: N e NE	A partir de 01/07/2011 Regiões S, SE e CO. A partir de 01/07/2012 Regiões: N e NE
Contagem de Células somáticas expressas por mL	Máximo de $1,0 \times 10^6$	Máximo de $1,0 \times 10^6$	Máximo de $7,5 \times 10^5$	Máximo de $4,0 \times 10^5$

Fonte: Brasil, (2002).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no laboratório de laticínios do Departamento de Ciência dos Alimentos, no laboratório de bacteriologia do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG, e no laboratório de qualidade do leite da EMBRAPA Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. O leite utilizado no experimento foi obtido de uma fazenda na região de Lavras, escolhida devido a ser tecnificada, com lotes para ordenha divididos em produção, estadio de lactação e idade dos animais .

3.1 Seleção dos animais

3.1.1 CMT e Contagem de células somáticas

A pré-seleção dos animais foi feita do lote de maior produção de acordo com CMT e a seleção com os resultados das análises de células somáticas do leite, analisados por contador eletrônico de células somáticas na EMBRAPA Gado de Leite – Juiz de Fora.

A formação dos lotes foi feita com contagens de células somáticas de: acima de 600.000 cel/mL, de 200.000 a 600.000 cel/mL e até 200.000 cel/mL .

3.1.2 Análises microbiológicas do leite

Foram feitas contagens totais de mesófilos, psicrotróficos e identificação dos agentes etiológicos da mastite ou contaminantes do leite de cada lote, nos Departamentos de Ciência dos Alimentos e Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras MG.

As amostras de leite foram coletadas do conjunto de animais (tanque de fabricação de queijo).

Na contagem total de mesófilos foi utilizado 0,1 ml das diluições do leite, semeado em meio plate count agar (PCA). Após a inoculação, as placas foram incubadas a 35° C por 48 horas e foi feita a leitura (Brasil, 2003a).

Para as contagens de psicrotróficos foi utilizado 0,1 ml das diluições do leite, semeado em placas contendo PCA. Após a inoculação as placas foram incubadas a 7°C por 10 dias e foi feita a leitura (Silva et al, 1995).

As análises para identificação de possíveis agentes etiológicos da mastite ou contaminantes do leite foram realizadas segundo metodologia descrita por Brito (1999), semeando um volume de 10µl de cada amostra de leite, com alça calibrada e descartável, em cada quadrante de uma placa de ágar-sangue preparada com 5% de sangue desfibrinado de carneiro. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas, quando foi feita a primeira leitura, seguindo-se nova incubação por mais um período de 48 horas e segunda leitura. As colônias isoladas no ágar-sangue foram observadas quanto a morfologia, tamanho, pigmentação e presença de hemólise. Os microrganismos foram observados ao microscópio por meio de esfregaços corados pelo método de Gram. As provas bioquímicas usadas para identificação dos agentes etiológicos causadores da mastite ou contaminantes do leite estão nos Quadros 5, 6 e 7.

QUADRO 5 Testes usados para identificação de estafilococos coagulase positivos

Testes	<i>S. aureus</i>	<i>S. hyicus</i>	<i>S. intermedius</i>
Coagulase	+	d1	+
Hemólise	+	-	d
Acetoina	+	-	-
D-manitol	+	-	(d)
Pigmento	+ (90%)	-	-
Beta-glucuronidase	-	+	-

1: d: 10 a 89% dão reação positiva; parênteses significam reação retardada

Fonte: Brito (1999)

QUADRO 6 Testes usados para identificação de algumas espécies de microrganismos do gênero *Streptococcus* e *Enterococcus*.

Espécies	CAMP	Esculina	Hipurato de sódio	Cres. Em 6,5% de NaCl	Cresc. a 45°C	Cresc. Em meio de bile-esculina
<i>S. agalactiae</i>	+	-	+	d	-	-
<i>S. dysgalactiae</i>	-	d	-	-	-	-
<i>S. uberis</i>	d1	+	+	-	-	-
<i>S. bovis</i>	-	+	-	-	+	+
<i>Enterococcus</i> sp.	-	+	d	+	+	+

1 d: reação variável: 10 a 89% de amostras

Fonte: Brito (1999)

QUADRO 7 Testes utilizados para caracterização de gêneros das bactérias Gram-negativas

Caract.	<i>Escherichia</i>	<i>Klebsiela</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>Proteus</i>	<i>Pseudomonas</i>
Catalase	+	+	+	+	+	+
Oxidase	-	-	-	-	-	+
O/F	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/-
Mobilidade	V1	-	+	+	+	+
Prod. Indol	+	V	-	V	+	-
VM	+	-	-	+	+	-
VP	-	+	+	-	-	-
Utiliz. Citrato	-	+	+	+	V	-
Prod. Uréase	-	-	-	-	+	-
Ornitina desc.	V	-	+	V	-	-
Lisina desc.	V	+	+	-	-	-

V: reação variável

Fonte: Brito (1999)

3.2 Leite

O leite dos animais de cada lote foi misturado e coletado no tanque de fabricação de queijo e as amostras, em frascos próprios para contagem de células somáticas e análises físico-químicas.

3.3 Tratamentos

Foram feitos três tratamentos com cinco fabricações de queijo Minas Padrão por tratamento, sendo cada fabricação uma repetição.

Tratamento 1: contagem de células somáticas de > que 600.000.

Tratamento 2: contagem de células somáticas de 200.000 a 600.000.

Tratamento 3: contagem de células somáticas de < que 200.000.

3.4 Análises físico-químicas

Foram realizadas análises físico-químicas do leite, soro e queijo.

3.5 Análises físico-químicas do Leite

3.5.1 Acidez titulável

Foi utilizado o método de titulação com hidróxido de sódio N/9 (solução Domic), com a utilização do indicador fenolftaleína, segundo Brasil (1985).

3.5.2 Gordura

As porcentagens de gordura dos leites foram determinadas pelo método butirométrico de Gerber , segundo Brasil (1985).

3.5.3 Densidade

Foi utilizada a leitura direta em termolactodensímetro segundo Quevene, previamente calibrado, corrigindo-se o efeito da temperatura, segundo Brasil (1985).

3.5.4 Extrato seco total

Para determinação dos sólidos totais, foi adotado o método de secagem em estufa a 105°C, modelo 315-SE, FANEM, conforme metodologia descrita na (A.O.A.C., 1995).

3.5.5 Determinação dos teores de nitrogênio total (NT) e Proteína Total (PT)

O Método utilizado foi o Kjeidahl, segundo metodologia descrita por Gripon *et al.* (1975). As amostras foram digeridas em bloco aquecedor da marca SARGE, modelo 40-25, e destiladas em equipamento TECNAL, modelo TE 036/1. O fator utilizado para conversão dos teores de nitrogênio para proteína bruta foi de 6,38 (Kosikowski, 1977).

3.5.6 Determinação de nitrogênio solúvel (NS)

Determinado pelo método Micro-Keidahl, segundo técnica descrita pela A.O.A.C. (1995).

3.5.7 Determinação de Nitrogênio Não Protéico – TCA 12% (NNP)

As amostras foram precipitadas com ácido tricloroacético (TCA) a 24%, obtendo-se concentração final de 12% filtradas em papel WHATMAN 42. O nitrogênio contido nesta solução foi denominado nitrogênio não protéico (NNP), que foi então determinado pelo método Kjeidahl como descrito por Gripon *et al.*(1975). Esse nitrogênio também é denominado de nitrogênio solúvel em TCA 12%.

3.5.8 Cloreto de sódio

A porcentagem de cloreto de sódio foi determinada por titulação com tiocianato de potássio a 0,1 N, como descrito pela A.O.A.C.(1995).

3.6 Análises físico-químicas do Soro

As amostras do soro foram retiradas no momento do corte e do ponto em todas as repetições. As análises foram realizadas em triplicata seguindo metodologia já descrita em 3.3, para os itens acidez, gordura, densidade,

nitrogênio total (NT), nitrogênio não protéico TCA 12% (NNP) e nitrogênio solúvel (NS).

3.7 Análises físico-químicas do Queijo

Após as análises, o leite passou por padronização, tratamento térmico (pasteurização) e fabricação do queijo, utilizando 10 litros de leite em cada fabricação, segundo técnica descrita por Furtado e Lourenço-Neto (1994). O fluxograma está apresentado na Figura 2.

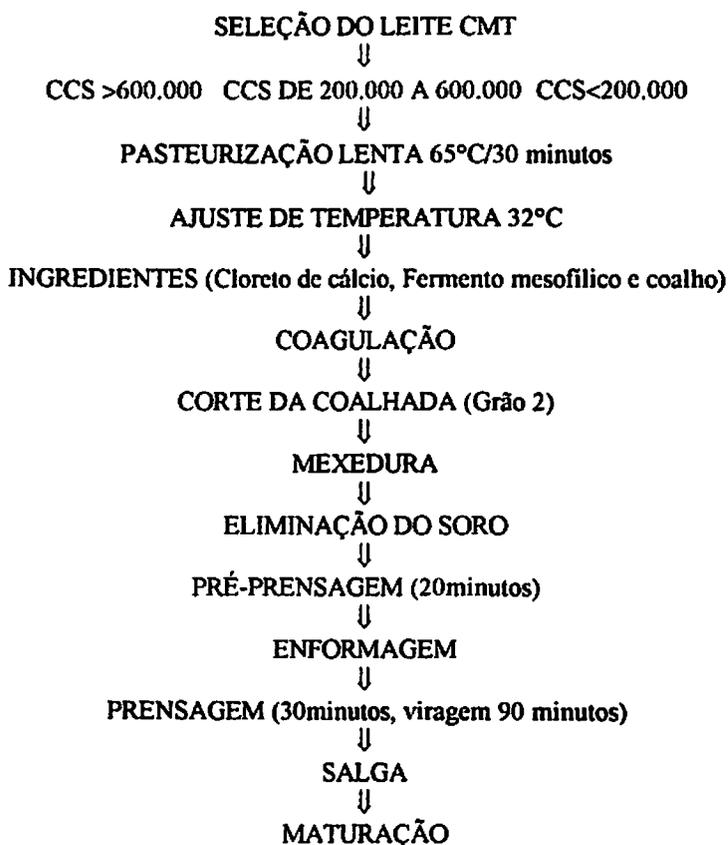


FIGURA 2 Fluxograma utilizado na fabricação do queijo Minas Padrão

3.7.1 Umidade

A umidade foi determinada pelo método gravimétrico por meio de estufa de secagem, segundo técnica descrita por A.O.A.C. (1995).

3.7.2 Gordura

As determinações foram realizadas pelo método butirométrico de Gerber (A.O.A.C.,1995). A centrifuga e os butitômetros utilizados foram da marca original Gerber.

3.7.3 Sólidos totais

A metodologia utilizada foi conforme metodologia descrita pela A.O.A.C. (1995). Para as determinações foram utilizadas estufas de secagem (modelo 315-SE FANEM) a 105°C.

3.7.4 Gordura no extrato seco (GES)

Foram utilizadas as massas médias de gordura correspondente a 100 g de queijo por 100g de sólidos totais. O valor resultante foi dividido pela massa média de sólidos totais referentes a 100g de queijo e o resultado, expresso como porcentagem (%) de gordura no extrato seco (Folegatti,1994).

3.7.5 Nitrogênio total (NT), Caseína, Nitrogênio não protéico (NNP) e Nitrogênio solúvel (NS)

As amostras de queijo foram solubilizadas em citrato de sódio e analisadas seguindo metodologia já descrita em 3.3.

3.7.6 Rendimento

O rendimento dos leites em queijos foram calculados dividindo-se o volume de leite usado, que foi fixo (10 litros), pelo peso do queijo após 24 horas

de fabricação, correlacionando esse resultado com o teor de umidade de cada queijo.

3.7.7 pH

As medidas do pH dos queijos, em cada tratamento, foram realizadas com o medidor de pH HANNA (modelo HI 8314) previamente calibrado, efetuando-se quatro leituras por amostras.

3.7.8 Avaliação dos índices de maturação

Os queijos foram analisados nos dias D; D+7; D+14; D+21 e D+28 dias, considerando D o dia da fabricação (após a salga). Nestes dias foram avaliados:

$NS/NT \times 100$ e $NNP/NT \times 100$.

Essas informações indicam a intensidade de maturação dos queijos, a qual, por sua vez, depende principalmente do coalho e do desenvolvimento do fermento.

3.7.9 Análise estatística

O delineamento experimental empregado para leite e soro foi o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), com 3 tratamentos e 5 repetições. Os resultados foram submetidos a análise de variância e teste de Tukey; e para o queijo, Delineamento em Bloco Casualizado (DBC), com 3 tratamentos, 5 repetições e 5 períodos de maturação (0, 7, 14, 21 e 28 dias). Os resultados foram submetidos a análise de variância.

As análises foram realizadas utilizando-se o programa estatístico SISVAR.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após seleção do leite de quartos com diferentes resultados ao CMT foram formados grupos de leites com resultados ao CMT semelhantes, e cada grupo de leite foi colocado em um tanque de fabricação de queijo, de onde foram coletadas amostras nas quais foram feitas análises microbiológicas (identificação de patógenos, mesófilos e psicrotóxicos), contagem de células somáticas e análises físico-químicas do leite no tanque, cujos resultados se encontram nas Tabelas 1 e 2.

Dos três grupos formados, dois (L2= 370.000 e L3=195.000) apresentaram CCS abaixo dos valores médios encontrados na prática nos rebanhos brasileiros. Esses dois grupos satisfazem perfeitamente o artigo da instrução Normativa 51, o qual estabeleceu um limite máximo de 1.000.000 de células por ml em 2005 e em 2008, reduzido para 750.000 células por ml e 400.000 células por ml para 2011, para a região sudeste.

O tratamento L1 (L1=975.000) enquadra-se também na legislação atualmente vigente, entretanto sua CCS estaria, a partir de julho de 2007, fora dos padrões legais.

Deve-se considerar o fato de que esses leites são de quartos individuais e não de rebanho. Todavia, o rebanho fornecedor do leite analisado apresenta, por observações práticas, resultados de CCS abaixo da grande maioria dos rebanhos da região.

4.1 Contagem de células somáticas dos tanques

A contagem de células somáticas diferiram significativamente entre os tratamentos, como objetivo do experimento, pois os lotes dos animais foram selecionados de acordo com os resultados de CMT e CCS como exposto na tabela 1.

TABELA 1 Contagem de células somáticas dos leites nos tanques

Leite	L1	L2	L3	CV
CCS	975.000 a	370.000b	195.000c	24,84

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Valores médios obtidos de 5 coletas.
CV= coeficiente de variação

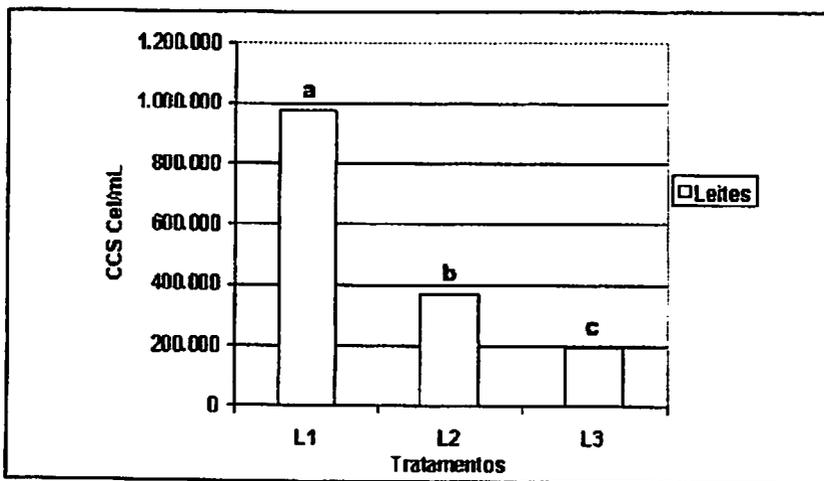


FIGURA 3 Contagem de células somáticas no leite (Tanque) ; L1 975.000 cel/mL, L2 370.000 cel/mL, L3 195.000 cel/mL

4.2 Resultados de análises microbiológicas do leite e agentes etiológicos

Pela contagem total de mesófilos e psicotróficos, representados na Tabela 2, constatou-se que não houve diferenças significativas nos tratamentos.

TABELA 2 Contagem total de mesófilos, psicotróficos e possíveis agentes etiológicos da mastite ou contaminantes encontrados no leite (Tanque).

Leite	Mesófilos	Psicotróficos	Agente
L1	405.000	270.000	<i>Staphylococcus sp</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Streptococcus sp</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Alcaligenes sp</i> , <i>Aeromonas caviae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiela pneumoniae</i> , <i>Bacillus sp</i> e <i>enterococcus faecium</i>
L2	440.000	250.000	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Bacillus sp</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Proteus sp</i> , <i>Levedura</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus sp</i> , <i>Streptococcus sp</i> e <i>Corynebacterium bovis</i>
L3	400.000	250.000	<i>Bacillus sp</i> , <i>Streptococcus sp</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus sp</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus uberis</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Bacillus sp</i> e <i>Levedura</i>

Na identificação dos agentes etiológicos causadores da mastite ou possíveis contaminantes do leite houve diferenças quantitativas nos microrganismos encontrados. Mesmo sendo estes tratamentos com diferentes contagens de células somáticas; estas análises foram realizadas em conjunto, pois altas contagens de microrganismos psicrotróficos causam, juntamente com altas contagens de células somáticas, diminuição no rendimento e uma maior proteólise em queijos.

Na identificação dos agentes contaminantes do leite (tanque) dentro de cada tratamento, encontraram-se microrganismos que podem ser classificados em agentes contagiosos, ambientais causadores de mastite ou contaminantes ambientais do leite, encontrados maior número desses microrganismos nos tratamentos de maior contagem, enquadrando-se neste caso também os psicrotróficos. Este fato deve-se à análise de um mesmo rebanho, com o mesmo manejo e condições de higiene no ambiente e ordenha. Os diferentes grupos, com diferentes contagens de células somáticas, se deve ao grau de infecção dos animais dentro de cada tratamento.

4.3 Resultados de análises físico-químicas do leite

Os resultados das análises físico-químicas conduzidas nos leites experimentais (L1, L2 e L3) encontram-se na Tabela 3.

A composição físico-química dos leites encontra-se dentro dos padrões relatados pela literatura (Auld et al. 1995, Rogers et al. 1989b, Brito & Charles 1995) , com apenas duas exceções, acidez e sólidos desengordurados no tratamento L1.

TABELA 3 Análises físico-químicas do leite

Leite	L1	L2	L3	CV
Sólidos totais	11,50 c	12,40 b	12,68 a	0,93
Sólidos desengordurados	8,30 b	9,20 a	9,28 a	1,36
Gordura	3,20 b	3,25 b	3,40 a	2,47
Proteína total	3,31 c	3,65 a	3,56 b	2,98
Caseína	2,22 b	2,81 a	2,76 a	2,73
Proteína solúvel	0,55 a	0,54 a	0,51 a	6,97
Nitrogênio não protéico	0,20 a	0,18 a	0,21 a	11,79
Lactose	4,26 b	4,57 a	4,62 a	1,34
Cloreto	0,17 a	0,13 b	0,10 c	10,53
Acidez	12,0 b	15,5 a	16,0 a	4,55

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Valores médios obtidos de 5 fabricações.

CV= Coeficiente de variação

L1 975.000 cel/mL L2 370.000 cel/mL L3 195.000 cel/mL

4.3.1 Sólidos totais

O conhecimento da riqueza do leite em sólidos totais (íntegro) é de grande importância devido, principalmente, a dois fatores: por indicar o valor nutricional desse leite e seu rendimento industrial.

Na Figura 4 encontram-se os resultados de sólidos totais, diferindo estatisticamente entre si e crescentes na proporção inversa da CCS de acordo com os resultados de Rogers et al. (1989a).

O termo "sólidos totais" do leite pode ser definido como sendo todos os componentes do leite menos a água. Dessa forma, engloba todos os outros

compostos e qualquer alteração na composição de um ou mais desses compostos terá como consequência alteração nos sólidos totais.

Leites com maiores CCS apresentaram menores concentrações de proteínas totais e lactose (Tabela 3). Como esses componentes contribuem significativamente para formação do extrato seco total, suas diminuições acarretaram, conseqüentemente, no decréscimo da concentração de sólidos totais

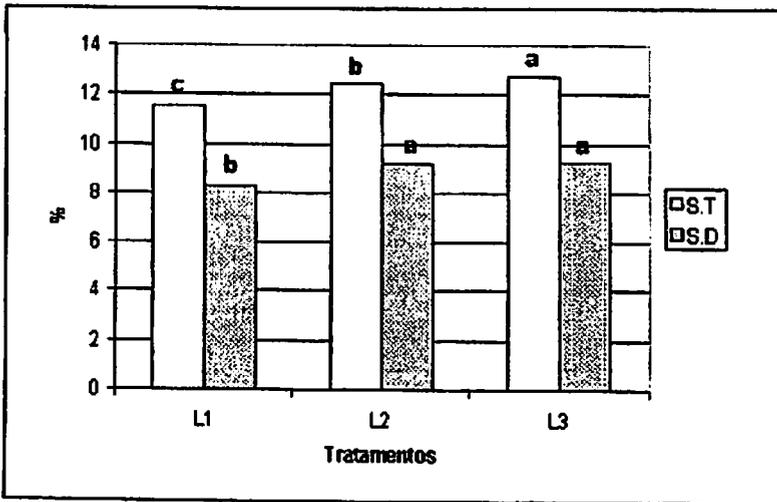


FIGURA 4 Sólidos totais e desengordurados no leite (Tanque), L1 975.000 cel/mL, L2 370.000 cel/mL e L3 195.000 cel/mL

4.3.2 Teor de gordura

É de conhecimento geral que a gordura é o componente que mais varia em concentração, sendo sua síntese e a formação de glóbulos de gordura pelas células secretoras um evento que exige grandes quantidades de energia (9,0 Cal/gramas de gordura). Dessa forma, qualquer tipo de infecção que a vaca venha a ter exigirá da mesma uma certa quantidade de energia para combater esta infecção. Assim, uma infecção na glândula mamária acarretará diminuição

na produção de gordura, cuja concentração é compensada pela diminuição na produção de leite.

Na Tabela 3 e Figura 5 estão apresentados os resultados dos teores de gordura.

Os tratamentos L1 e L2 não apresentaram diferenças significativas entre si e foram diferentes do tratamento L3.

Os resultados indicam que altas contagens de células somáticas acarretam diminuição na concentração de gordura no leite, o que, por sua vez, implica em perdas econômicas, pois a gordura do leite foi o primeiro componente do leite a estabelecer referências de pagamento do leite por qualidade.

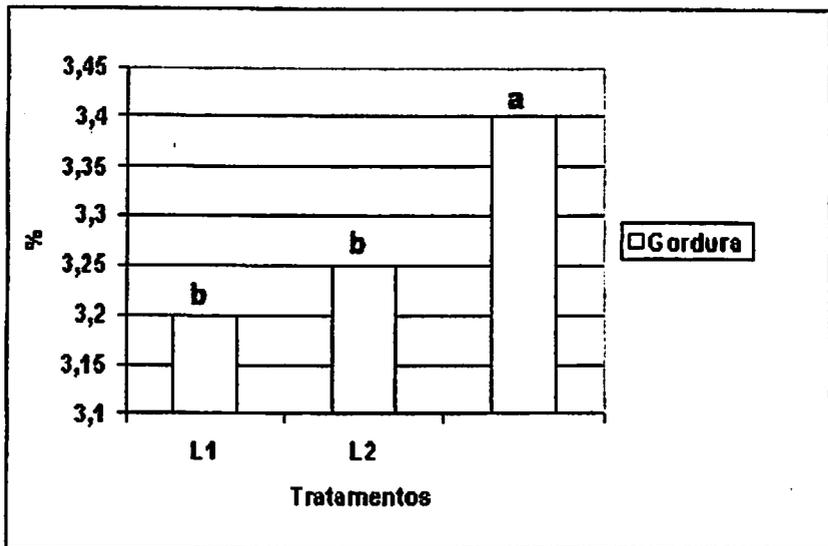


FIGURA 5 Teor de gordura do leite, L1 975.000 cel/mL, L2 370.000 cel/mL e L3 195.000 cel/mL

4.3.3 Proteínas totais, caseína, proteínas solúveis e nitrogênio não protéico

Na Tabela 3 e Figura (6) estão apresentados os valores com diferenças significativas ao nível de 5% em proteínas totais e caseínas para todos os tratamentos, não havendo diferenças em proteínas solúveis e nitrogênio não protéico nos tratamentos; resultados semelhantes foram encontrados por Vianini e Nader Filho (1990). Já Ashworth et. al (1967) verificaram valores maiores para o teor de proteínas totais do leite de animais com mastite comparados ao leite de animais que não possuíam mastite.

A diminuição dos valores de caseína nos leites com alta contagem de células somáticas e a não diferença significativa das proteínas solúveis e nitrogênio não protéico se devem, neste caso, a inflamações ou infecções representadas pela mastite que acentuam as características proteolíticas intrínsecas do próprio leite pelo aumento da liberação de plasmina ou seu precursor plasminogênio.

Na tabela 3 e figura 7, verifica-se o aumento em proteínas solúveis nos tratamentos de maior contagem de células somáticas, devido principalmente a ação de enzimas.

O plasminogênio precursor da plasmina, principal enzima proteolítica presente no leite, é uma enzima do sangue que passa para o leite. Sua atividade resulta na produção de gama-caseína, proteoses e peptonas derivadas da β -caseína, as quais se transformam em proteínas solúveis. As proteínas mais sensíveis ao ataque da plasmina são as caseínas β e α -S2, seguidas pela α S1, porém a κ -caseína e as proteínas do soro (β -lactoglobulina e α -lactoalbumina) são mais resistentes a esse ataque (Furlanetti 2002).

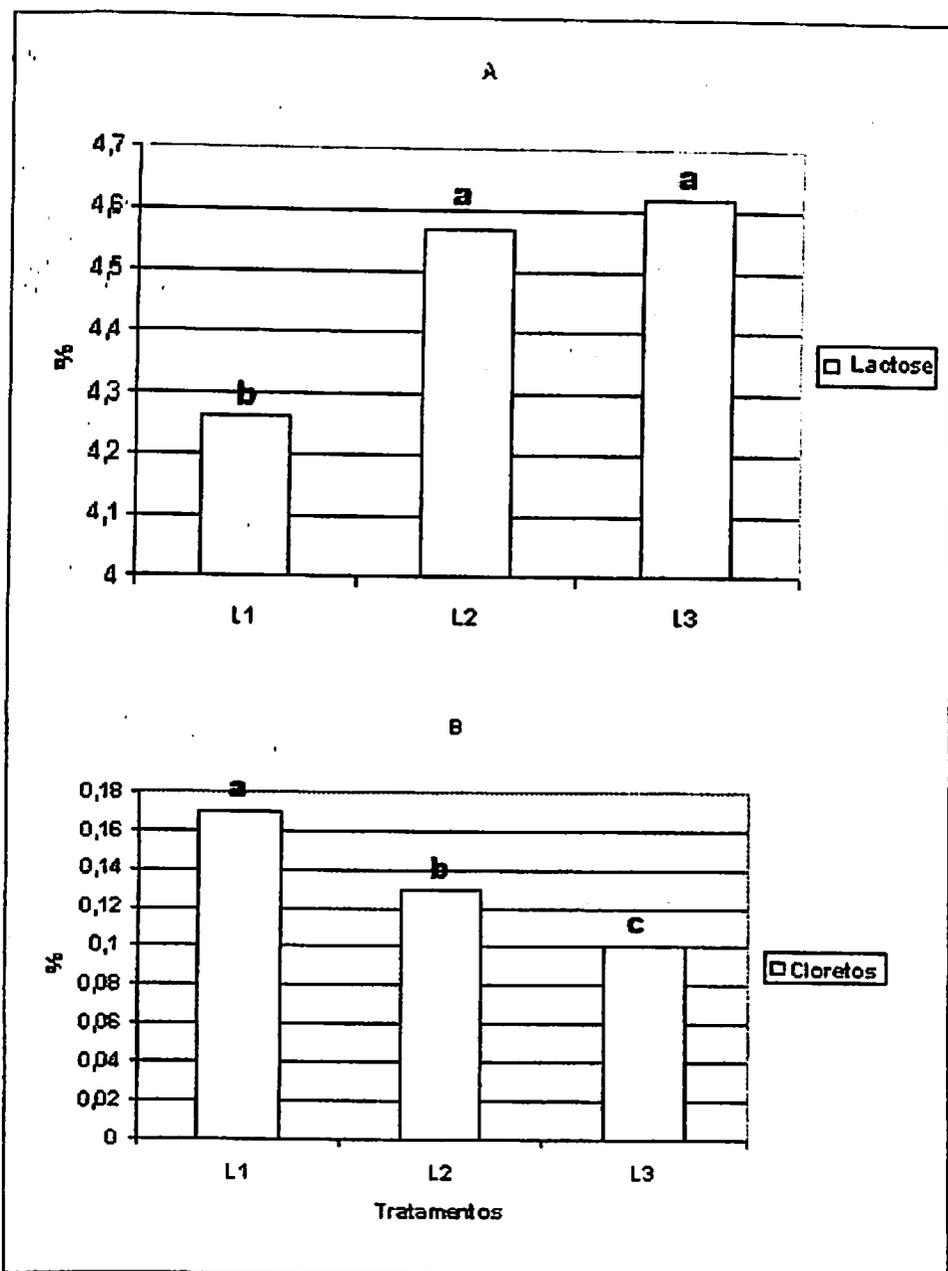


FIGURA 8 A -Teor de Lactose e B - Cloretos no leite, L1 975.000 cel/mL,
L2 370.000 cel/mL e L3 195.000 cel/mL

4.3.3 Proteínas totais, caseína, proteínas solúveis e nitrogênio não protéico

Na Tabela 3 e Figura (6) estão apresentados os valores com diferenças significativas ao nível de 5% em proteínas totais e caseínas para todos os tratamentos, não havendo diferenças em proteínas solúveis e nitrogênio não protéico nos tratamentos; resultados semelhantes foram encontrados por Vianini e Nader Filho (1990). Já Ashworth et. al (1967) verificaram valores maiores para o teor de proteínas totais do leite de animais com mastite comparados ao leite de animais que não possuíam mastite.

A diminuição dos valores de caseína nos leites com alta contagem de células somáticas e a não diferença significativa das proteínas solúveis e nitrogênio não protéico se devem, neste caso, a inflamações ou infecções representadas pela mastite que acentuam as características proteolíticas intrínsecas do próprio leite pelo aumento da liberação de plasmina ou seu precursor plasminogênio.

Na tabela 3 e figura 7, verifica-se o aumento em proteínas solúveis nos tratamentos de maior contagem de células somáticas, devido principalmente a ação de enzimas.

O plasminogênio precursor da plasmina, principal enzima proteolítica presente no leite, é uma enzima do sangue que passa para o leite. Sua atividade resulta na produção de gama-caseína, proteoses e peptonas derivadas da β -caseína, as quais se transformam em proteínas solúveis. As proteínas mais sensíveis ao ataque da plasmina são as caseínas β e α -S2, seguidas pela α S1, porém a κ -caseína e as proteínas do soro (β -lactoglobulina e α -lactoalbumina são mais resistentes a esse ataque (Furlanetti 2002).

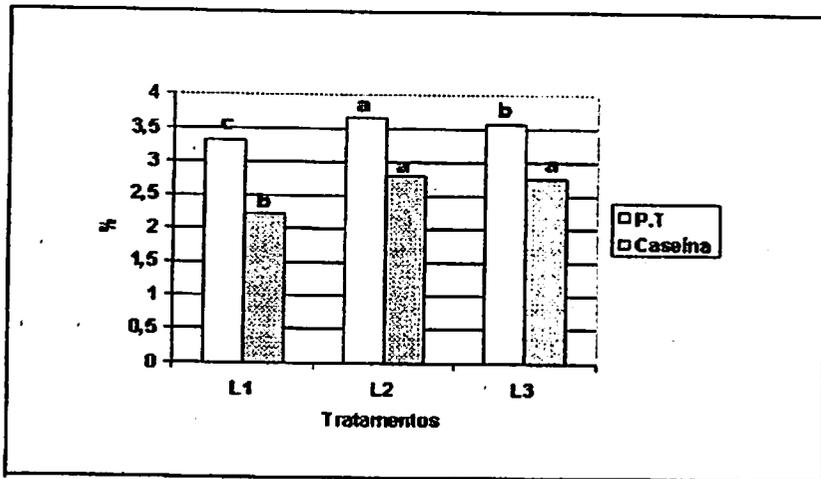


FIGURA 6 Proteínas totais e caseínas do leite, L1 975.000 cel/mL, L2 370.000 cel/mL e L3 195.000

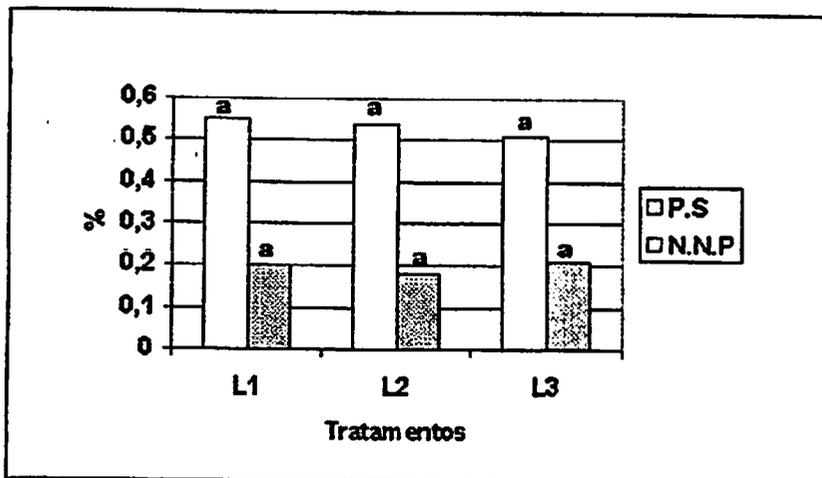


FIGURA 7 Proteínas solúveis e nitrogênio não protéico do leite. L1 975.000 cel/mL, L2 370.000 cel/mL e L3 195.000 cel/mL

4.3.4 Teores de lactose e cloretos

A lactose, principal açúcar do leite, substrato de fermentação microbiana na indústria de laticínios, tem sua concentração diminuída em função do

aumento de células somáticas. Na Tabela 3 e Figura 8 verifica-se que os valores de lactose menores nas maiores contagens $L3 > L2 > L1$ encontram-se próximos dos valores encontrados por Audist et. al (1995).

A diminuição da lactose no leite com alta contagem de células somáticas se deve não à sua diminuição na síntese, como anteriormente pensado, mas a um refluxo do leite para o sangue devido ao aumento da permeabilidade nos alvéolos. Esse fato é evidenciado pela elevação da concentração de lactose no sangue e na urina em vacas com mastite (Sissoko et. al 1984 e Shuster et. al 1991).

Os principais agentes reguladores osmóticos do volume de leite são a lactose e cloretos. Inversamente proporcionais à lactose encontram-se valores de cloretos maiores nos tratamentos com maiores contagens de células somáticas. Brito e Charles (1995) encontraram concentrações de cloretos no leite variando de 0,091% em leite sadios a 0,147% em leites com altas contagens de células somáticas.

A vasodilatação e o aumento da permeabilidade vascular com extravasamento plasmático que ocorre durante o processo inflamatório da glândula mamária acarretam alterações na composição iônica do leite, devido à passagem do íon cloreto do sangue para o lúmen, facilitada pelo aumento da permeabilidade do alvéolo.

A correlação inversa entre cloretos e lactose se deve ao fato de que, com o aumento do teor de cloretos do leite com alta contagem de células somáticas, há um aumento no potencial osmótico. Com isso, parte da lactose migra do leite para o sangue e daí para o sistema renal, para que o balanço osmótico entre sangue e leite fique em equilíbrio.

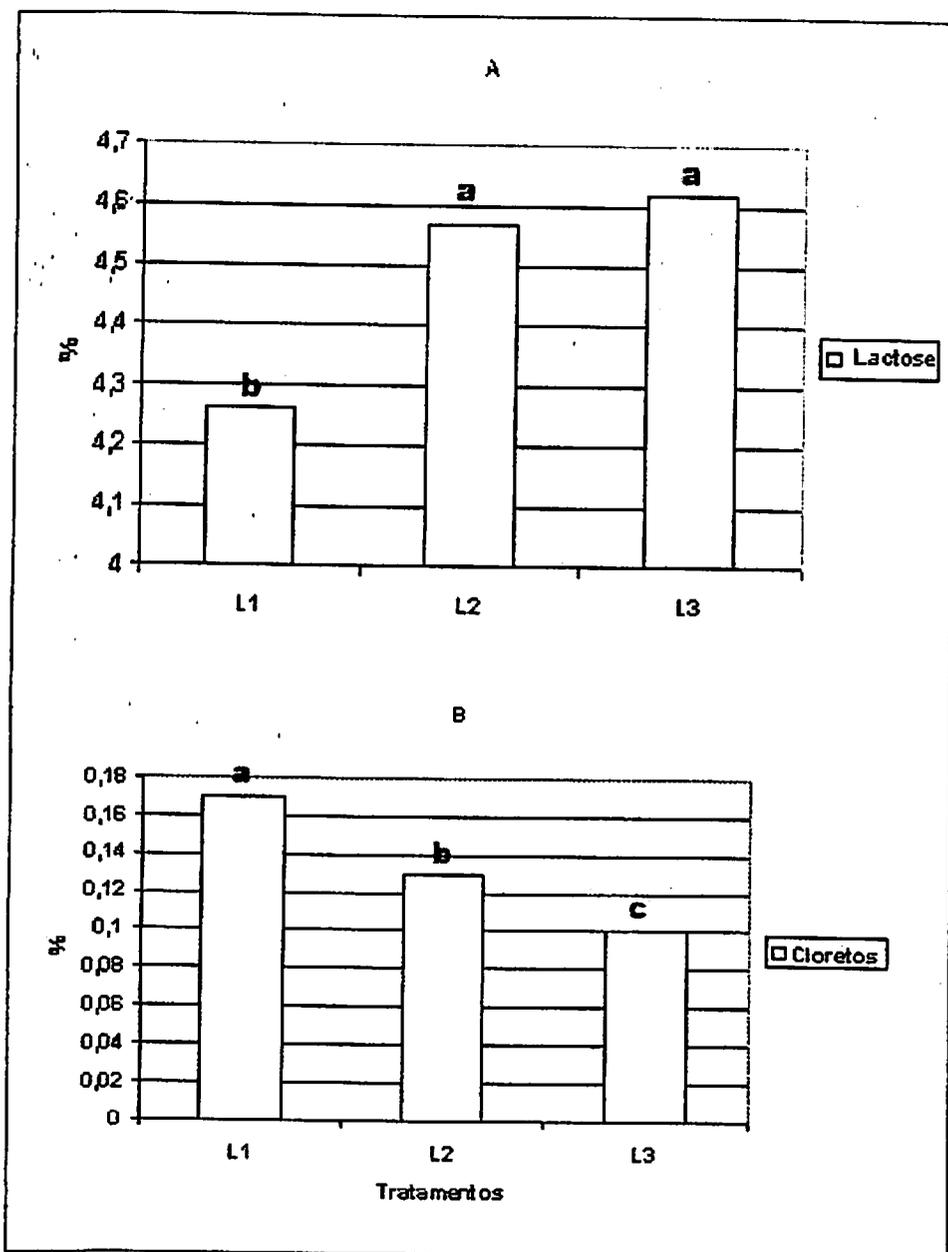


FIGURA 8 A -Teor de Lactose e B - Cloretos no leite, L1 975.000 cel/mL, L2 370.000 cel/mL e L3 195.000 cel/mL

4.3.5 Acidez

Na Tabela 3 e Figura 9 constatou-se uma diminuição de acidez em graus Dornic no tratamento L1 (maior contagem de células somáticas) com 12°D, o que caracteriza uma anormalidade no parâmetro acidez do leite.

A infecção gera um aumento da permeabilidade, fazendo com que componentes alcalinos e tamponantes do sangue diminuam a acidez do leite. Dessa forma, o leite proveniente desses quartos seria rejeitados pela análise de alizarol feita nas plataformas dos laticínios ou na própria fazenda, com a análise feita antes da coleta a granel pelos caminhões tanques.

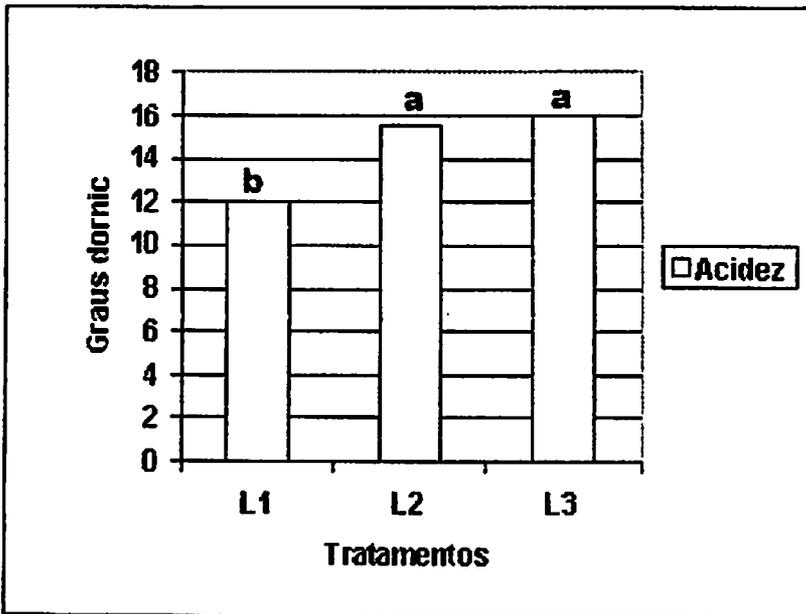


FIGURA 9 Acidez do leite (Tanque), L1 975.000 cel/mL, L2 370.000 cel/mL e L3 195.000 cel/mL

4.4 Parâmetros de fabricação do queijo em tempo de coagulação e tempo de mexedura

Os resultados das análises dos parâmetros de fabricação do queijo Minas Padrão envolvendo os três diferentes tratamentos encontram-se na Tabela 4.

TABELA 4 Parâmetros de fabricação do queijo

Parâmetros de fabricação	L1	L2	L3	CV
Tempo de coagulação(minutos)	72,5 a	52,5 b	47,5 c	10,28
Tempo de mexedura(minutos)	67,5 a	57,5 b	50,0 c	9,65

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Valores médios obtidos de 5 fabricações.

L1 975.000 cel/mL L2 370.000 cel/mL L3 195.000 cel/mL

O tempo de coagulação do leite e mexedura na fabricação do queijo depende da composição do leite e dos ingredientes usados. Como é sabido e verificado no experimento, a composição do leite com alta contagem de células somáticas sofre alterações que contribuem para que o tempo de coagulação e o tempo de mexedura da massa sejam aumentados, como representados na Tabela 4 e Figura 10. Com o aumento da contagem de células somáticas a ação enzimática da plasmina faz com que haja inibição do desenvolvimento do fermento usado na fabricação do queijo, o que diminui a formação de acidez do leite e, posteriormente, dos grãos, prolongando, conseqüentemente, o tempo de coagulação e o tempo para atingir o ponto. No primeiro caso, isso acontece devido ao caráter das proteases aspárticas do coalho, as quais atuam preferencialmente em meio mais ácido, e no segundo, pela menor contração dos grãos, o que gera uma diminuição da sinérese. Outro fator seria a maior concentração de proteínas solúveis em leites com alta CCS (Figura 7), pois essas

atuam como um impedimento espacial entre o substrato e a enzima, substrato esse que é a posição 105-106 (PHE e MET) e os 7 aminoácidos laterais a essa posição, necessários ao acoplamento da enzima.

Mijacevit et al (1993) e Munro et al (1984) constataram, em seus experimentos, aumento nos tempos de coagulação e mexedura em até 6% na fabricação de queijos. Além do prolongamento do tempo de coagulação e mexedura, obteve-se um coágulo sem consistência, dilacerando ao corte com as liras e garfos.

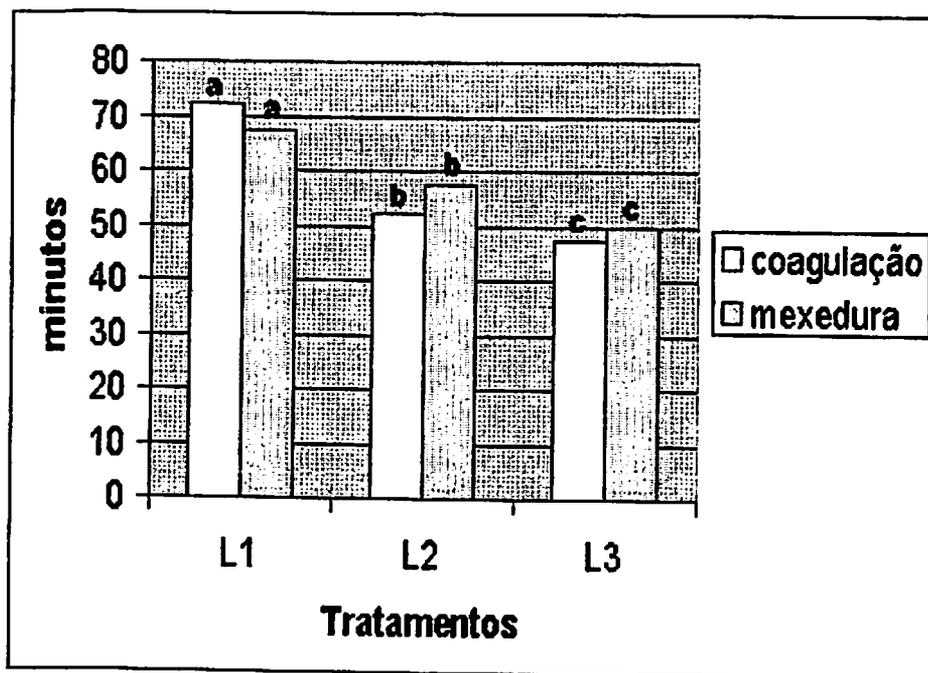


FIGURA 10 Tempo de coagulação e mexedura , L1 975.000 cel/mL, L2 370.000 cel/mL e L3 195.000 cel/mL

4.5 Composição do soro em proteínas totais, caseína, proteínas solúveis e nitrogênio não protéico.

As proteínas totais, solúveis e nitrogênio não protéico foram maiores nos tratamentos L1>L2>L3 e inversamente proporcionais ao teor de caseína do soro, conforme Tabela 5 e Figuras 11 e 12, nas quais estão apresentados os dados referentes às frações nitrogenadas do soro

TABELA 5 Composição do soro

Soro	L1	L2	L3	CV
Proteínas totais (soro) %	0,86 a	0,82 a	0,81 a	2,68
Caseína (soro) %	0,46 b	0,51 a	0,52 a	1,98
Proteínas solúveis (soro) %	0,40 a	0,31 b	0,29 b	8,45
N.N.P (soro) %	0,18 a	0,16 b	0,15 b	11,17

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Valores médios obtidos de 5 fabricações.

L1 975.000 cel/mL L2 370.000 cel/mL L3 195.000 cel/mL

Nos tratamentos com contagens maiores, obteve-se uma coalhada mais frágil, mais porosa, facilitando a passagem dessas frações nitrogenadas para o soro, que possui grande solubilidade na água. Os teores de caseína no soro foram maiores nos tratamentos L1>L2>L3, mostrando-se coerentes, pois os teores de caseína do leite encontravam-se também nesta ordem.

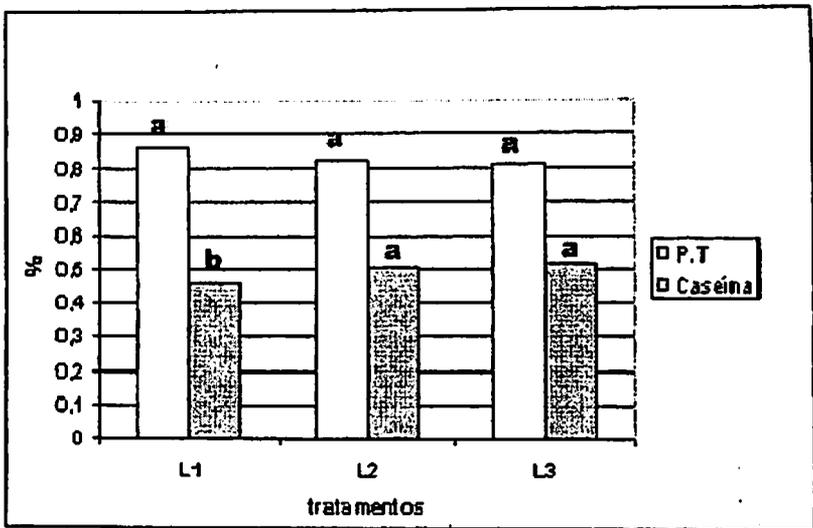


FIGURA 11 Proteínas totais e caseína do soro, L1 975.000 cel/mL,
L2 370.000 cel/mL e L3 195.000 cel/mL

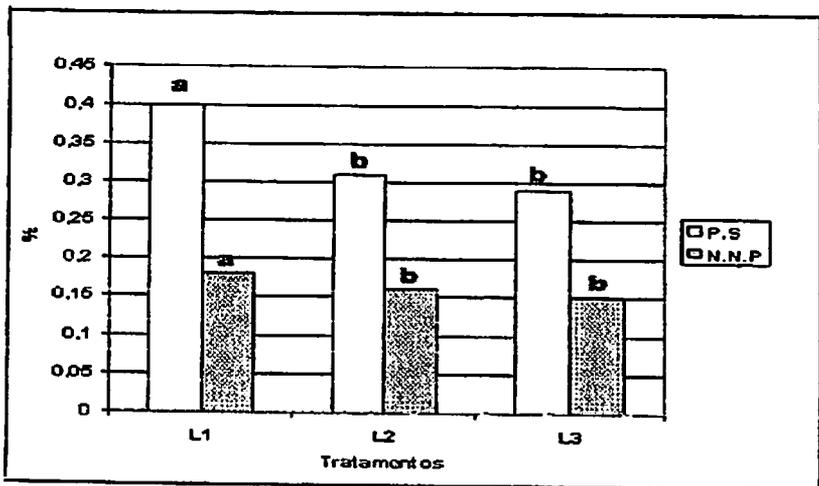


FIGURA 12 Proteínas solúveis e nitrogênio não-proteico do soro, L1 975.000
cel/mL, L2 370.000 cel/mL e L3 195.000 cel/mL

4.6 Rendimento do queijo em cifras de transição (sólidos totais do leite para o queijo, gordura do leite para o soro) e litros de leite por quilograma de queijo

As cifras de transição são parâmetros que devem ser analisados juntamente com o rendimento do queijo.

Na Tabela 6 e Figura 13 estão representados os dados que mostram que a transferência de sólidos totais do leite para o queijo teve esta disposição, $L1 > L2 > L3$, ou seja, menores contagens de células somáticas e maiores sólidos totais, e para transferência de gordura do leite para o soro, $L3 > L2 > L1$, com maiores teores de gordura para o soro dos tratamentos com maiores contagens de células somáticas.

TABELA 6 Rendimento do queijo

Rendimento	L1	L2	L3	CV
Cifras de transição (S.T) %	57,9 c	62,08 b	63,22 a	0,16
Cifras de transição (Gord.)%	13,64 a	10,77 b	10,31 c	0,32
Rendimento (queijo) L/kg	8,25 b	8,35 b	8,25 b	0,55

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Valores médios obtidos de 5 fabricações.

L1 975.000 cel/mL L2 370.000 cel/mL L3 195.000 cel/mL

Os sólidos totais em leites com alta contagem de células somáticas são diminuídos, conseqüentemente seus valores transferidos para o queijo também são diminuídos. O teor de gordura do leite transferido para o soro é devido a coágulo menos firme, mais poroso, que é dilacerado na quebra da massa; com isto há uma perda excessiva de gordura do leite para o soro. A maior passagem

de sólidos e gordura para o soro em leites com altas contagens de células somáticas foi encontrada também por Munro et al (1984).

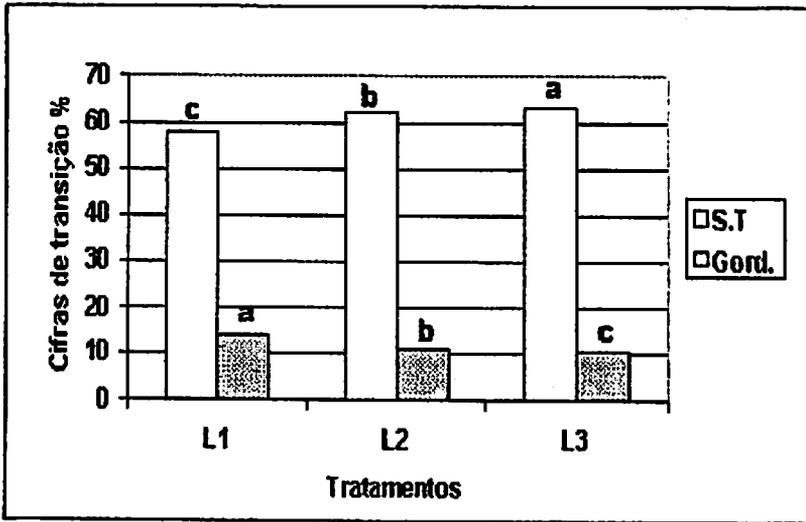


FIGURA 13 Cifras de transição de sólidos totais (ST) do leite para o queijo e gordura do leite para o soro, L1 975.000 cel/mL, L2 370.000 cel/mL e L3 195.000 cel/mL

4.7 Composição do queijo em teor de gordura, gordura no extrato seco, umidade e sal na umidade

O teor de gordura do queijo foi maior nos tratamentos $L3 > L2 > L1$ e gordura no extrato seco $L3 > L1 > L2$, conforme Tabela 7 e Figura 14.

Esses resultados se devem à ação enzimática sofrida pelo leite com altas contagens, à perda de gordura no soro e ao aumento no teor de umidade do queijo, fazendo com que houvesse uma concentração menor de gordura no

extrato do seco dos queijos elaborados com leites com altas contagens de células somáticas.

TABELA 7 Composição do queijo Minas Padrão

Composição	L1	L2	L3	CV
Gordura (queijo) %	20,5 c	22,5 b	24,6 a	11,43
G.E.S (queijo) %	43,86 b	43,48 b	47,08 a	12,23
Umidade (queijo) %	52,15 a	48,25 b	47,75 b	1,28
Sal na umidade	3,06 a	2,93 b	2,82 c	2,14

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Valores médios obtidos de 5 fabricações.

L1 975.000 cel/mL L2 370.000 cel/mL L3 195.000 cel/mL

O aumento de umidade do queijo e o conseqüente decréscimo no teor de gordura e gordura no extrato seco de queijos fabricados com leites com altas contagens, além de comprometer a qualidade e composição do produto, o mesmo terá uma menor vida de prateleira, por estar sujeito a uma maior ação enzimática.

Resultados similares em umidade , teor de gordura e gordura no extrato seco do queijo fabricado com leites de altas contagens de células somáticas foram encontrados por Barbano et. al (1991).

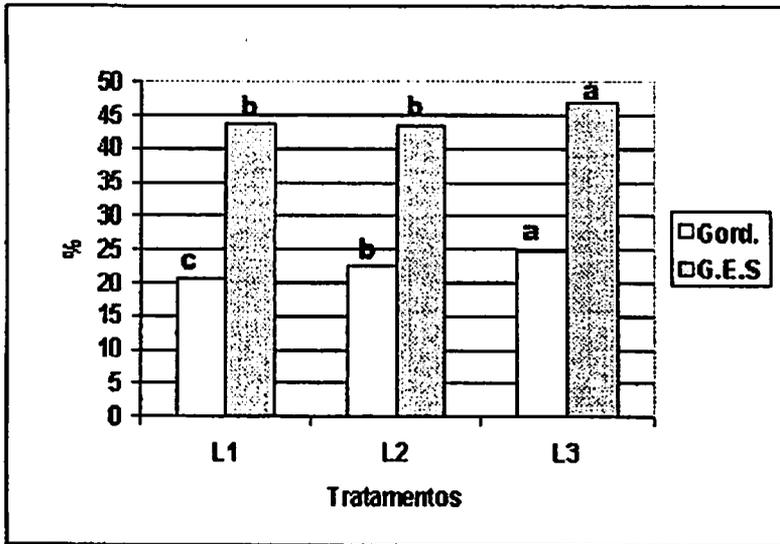


FIGURA 14 Teor de gordura e gordura no extrato seco do queijo,
L1 975.000 cel/mL, L2 370.000 cel/mL e L3 195.000 cel/mL

4.8 Rendimento e umidade do queijo

As Tabelas 6 e 7 e Figura 15 e 16 mostram que o rendimento do queijo no tratamento L1 e L3 foi o mesmo em litros de leite por kg de queijo, fato este que não pode ser interpretado sem os parâmetros umidade e cifras de transição. No tratamento L1 seu rendimento se deve a uma maior umidade.

Leites com altas contagens de células somáticas fazem com que haja uma inibição no desenvolvimento do fermento usado na fabricação do queijo, fazendo com que a acidez da massa e do grão fique menor e, conseqüentemente, ocorra uma menor sinérese, retendo, assim, maior umidade na massa e, posteriormente, no queijo. Um aumento de até 8% na umidade do queijo fabricado com leites com alta contagem de células somáticas foi encontrado por Audist et al (1996a) e Roger and Mitchel (1994), superior a 2%. No tratamento

L1 o aumento da umidade chegou a 8,44% em relação a L3, não se enquadrando dentro dos padrões do queijo Minas Padrão.

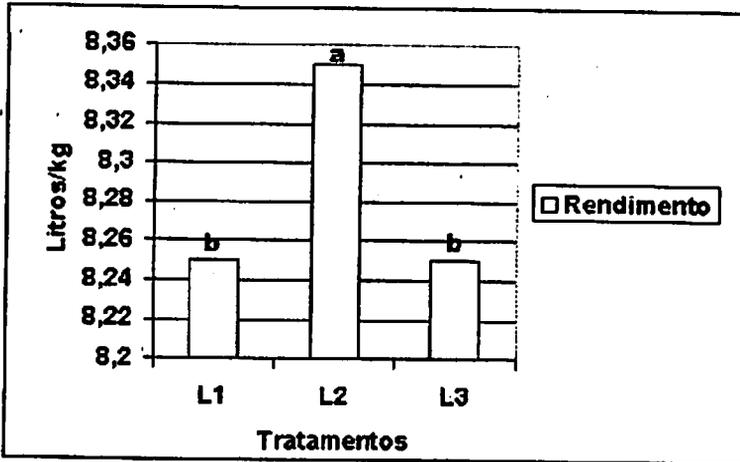


FIGURA 15 Rendimento em litros de leite/kg de queijo, L1 975.000 cel/mL, L2 370.000 cel/mL e L3 195.000 cel/mL

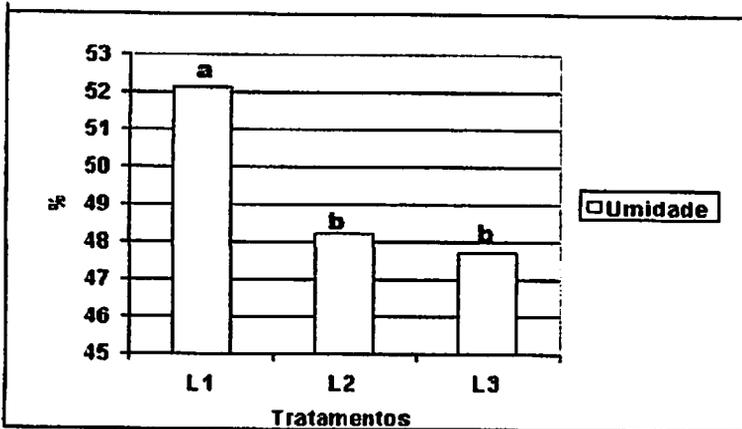


FIGURA 16 Umidade do queijo, L1 975.000 cel/mL, L2 370.000 cel/mL e L3 195.000 cel/mL

4.9 pH do queijo na maturação

Na Tabela 8 e Figura 17 verifica-se que não houve diferenças significativas entre os tratamentos L2 e L3 devido a uma menor diferença de contagens entre os dois tratamentos; seus comportamentos foram estatisticamente iguais, diferentes do tratamento L1 que teve uma contagem bem mais elevada, que os demais tratamentos. O tratamento L1 de maior contagem de células somáticas, iniciou e terminou a maturação com um pH mais alto que os outros tratamentos; isto se explica pela menor acidez no leite e pelo menor teor de lactose, que seria substrato para o desenvolvimento do fermento láctico (Furtado, 1994).

TABELA 8 pH do queijo na maturação

Dias	pH do queijo					
	L1	L2	L3	CV 1(%)	CV 2 (%)	CV 3 (%)
0 (D)	5,32	4,92	4,90	1,44	2,04	2,36
7 (D)	5,30	4,90	4,90	1,44	2,04	2,36
14 (D)	5,30	4,90	4,90	1,44	2,04	2,36
21 (D)	5,30	4,85	4,80	1,44	2,04	2,36
28 (D)	5,30	4,85	4,80	1,44	2,04	2,36

L1 975.000 cel/mL L2 370.000 cel/mL L3 195.000 cel/mL

CV= Coeficiente de variação

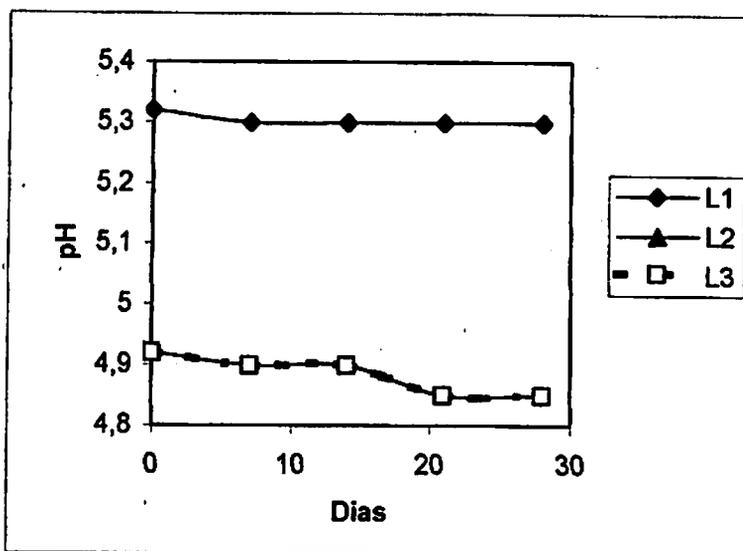


FIGURA 17 pH do queijo na maturação, L1 975.000 cel/mL, L2 370.000 cel/mL e L3 195.000 cel/mL

4.10 Índices de extensão e profundidade de maturação do queijo

A proteólise do queijo avaliado como índices de extensão e profundidade de maturação fornece subsídios para verificar a atividade proteolítica no queijo originada pelo coalho, fermento e enzimas como a plasmina, essa última gerada pela ativação do plasminogênio, por agentes produzidos pelas células somáticas.

4.10.1 Extensão de maturação do queijo

Na Tabela 9 e Figura 18 constatou-se um aumento linear na extensão de maturação nos tratamentos L1 (9,60 a 20,64) e L3 (7,64 a 10,05) e um comportamento não linear no tratamento L2.

TABELA 9 Extensão de maturação do queijo

Extensão de maturação						
Dias	L1	L2	L3	CV 1 (%)	CV 2 (%)	CV 3 (%)
0 (D)	9,60	13,91	7,64	0,55	0,60	0,74
7 (D)	13,05	8,85	8,05	0,55	0,60	0,74
14 (D)	14,71	11,62	9,39	0,55	0,60	0,74
21 (D)	18,26	12,77	9,98	0,55	0,60	0,74
28 (D)	20,64	13,95	10,05	0,55	0,60	0,74

L1 975.000 cel/mL L2 370.000 cel/mL L3 195.000 cel/mL

CV= Coeficiente de maturação

Um aumento mais acentuado ocorrido no tratamento L1(CCS 970.000) deve-se a maior umidade do queijo (Tabela 6) e ação enzimática; pequenas alterações na umidade do queijo podem resultar em alterações na atividade proteolítica do queijo (Lawrence et. al 1987).

Maior umidade (maior retenção de coalho, maior atividade enzimática, maior atividade da plasmina) contribui para maior extensão da maturação do queijo. Ao contrário, no leite com menor contagem, o tratamento L3 produziu um queijo cuja curva de extensão de maturação apresentou menor pendência, devido às características opostas do tratamento L1. O tratamento L2 apresentou um comportamento intermediário.

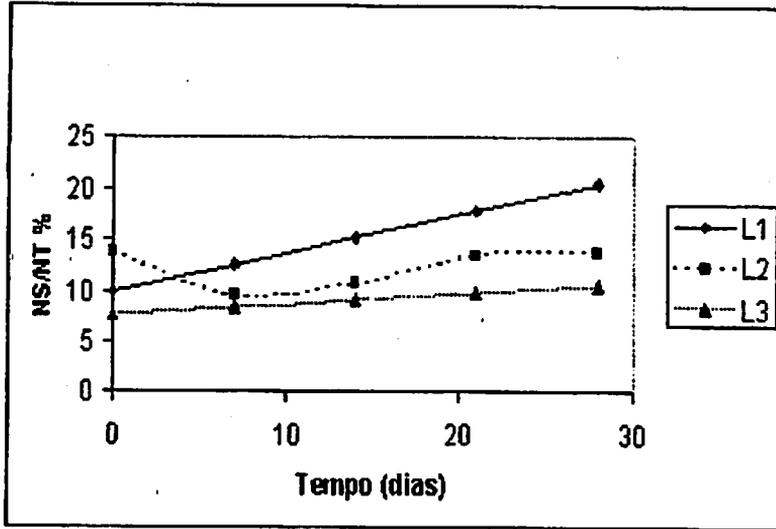


FIGURA 18 Extensão de maturação do queijo, L1 975.000 cel/mL, L2 370.000 cel/mL e L3 195.000 cel/mL

4.10.2 Profundidade de maturação do queijo

Enquanto a extensão de maturação é dependente das enzimas do coalho e plasmina, a profundidade de maturação do queijo está relacionada com a atividade peptidolítica das enzimas da cultura starter e outras bactérias incidentais presentes na massa do queijo.

Os valores da profundidade da maturação estão representados na Tabela 10 e Figura 19. Em função da maturação a profundidade aumentou linearmente nos tratamentos L1, variando de 8,77 a 10,90, e L2, de 4,81 a 9,81, e houve uma não linearidade no tratamento L3.

TABELA 10 Profundidade de maturação

Profundidade de maturação						
Dias	L1	L2	L3	CV 1 (%)	CV 2 (%)	CV 3 (%)
0 (D)	8,77	4,81	5,23	0,21	0,58	0,32
7 (D)	9,55	4,67	7,07	0,21	0,58	0,32
14 (D)	10,57	7,27	7,21	0,21	0,58	0,32
21 (D)	10,03	7,69	6,85	0,21	0,58	0,32
28 (D)	10,90	9,81	6,51	0,21	0,58	0,32

L1 975.000 cel/mL L2 370.000 cel/mL L3 195.000 cel/mL

CV= Coeficiente de variação

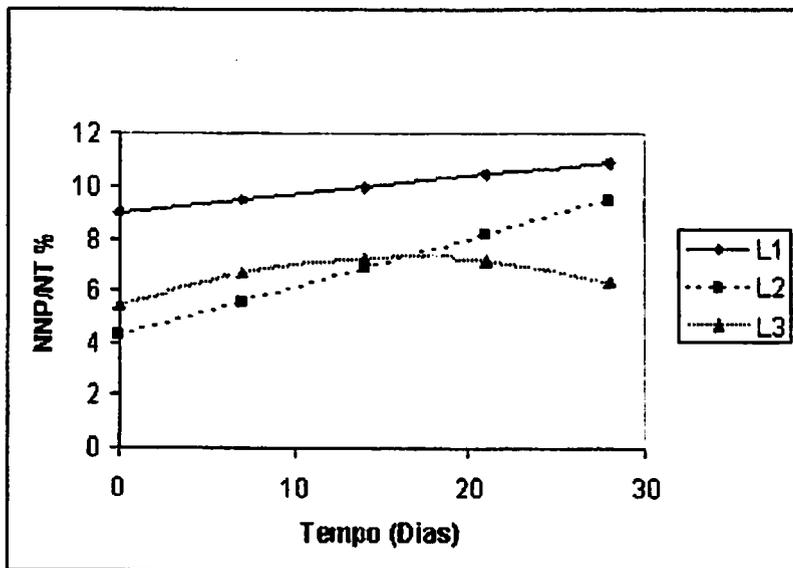


FIGURA 19 Profundidade de maturação do queijo, L1 975.000 cel/mL, L2 370.000 cel/mL e L3 195.000 cel/mL



O queijo fabricado com leite de maior contagem de células somáticas apresentou uma relação de NNP/NT muito elevada comparada com os outros tratamentos, pois segundo Rogers et al. (1989a), leite com alta contagem de células somáticas tem maior teor de nitrogênio não protéico. Entretanto, no decorrer da maturação o incremento deste índice foi pequeno (8,77 a 10,90). Este fato provavelmente aconteceu em função de um processo inibitório sob as bactérias lácteas, já que a umidade e sal na umidade (Tabela 11) estavam favorecidos nesse tratamento. Esses resultados corroboram aqueles encontrados por Rogers and Mitchell (1994).

Opostamente, o tratamento L2 iniciou-se com os mais baixos índices de profundidade de maturação, apresentando ao longo da maturação o maior incremento para este índice, partindo de 4,81 a 9,81, e provavelmente se igualaria ao tratamento L1 se o tempo de maturação fosse estendido.

O tratamento L2 (370.000 células somáticas/ mL de leite) não pode ser considerado prejudicial ao desenvolvimento das bactérias do fermento lácteo, e como este queijo apresentou teores mais elevados de umidade (Tabela 6) e menores concentrações de sal na umidade, houve condições favoráveis para o desenvolvimento do fermento e atividade de suas peptidases.

5 CONCLUSÕES

A composição físico-química do leite de maior contagem de células somáticas diferiu significativamente da maior intensidade dos demais tratamentos em acidez em graus Domic e sólidos totais, dificultando a aplicação do tratamento térmico ao leite e diminuindo o rendimento em queijo.

As cifras de transição, em sólidos totais do leite para o queijo, foram menores no tratamento de maior contagem de células somáticas e inversamente proporcionais para a transição de gordura do leite para o soro, causando queda no rendimento e maior perda de gordura no soro.

Os teores de gordura do queijo foram menores no tratamento com maior contagem de células somáticas e, conseqüentemente, também em teor de gordura no extrato seco, o queijo fabricado nestas condições ficou fora dos padrões de composição exigido pela legislação.

Os teores de umidade dos queijos elaborados com maior contagem de células somáticas foram maiores em até 8,44% e estatisticamente significativos quanto aos demais tratamentos; conseqüentemente, houve aumento o rendimento, porém o queijo ficou fora de seus padrões físico-químicos e de qualidade.

As análises microbiológicas e a identificação dos patógenos nos tratamentos não mostraram diferenças que pudessem ser correlacionadas com os resultados obtidos.

Na maturação do queijo em sua extensão, obteve-se um aumento linear nos tratamentos de maior e menor contagem de células somáticas, mas com maior intensidade no tratamento de maior contagem, influenciada pela maior umidade. Na profundidade houve um aumento linear nos tratamentos de maior contagem, influenciada pela maior ação enzimática. Esses fatores levam a uma

aceleração na maturação, ocasionando perda na qualidade e menor tempo de vida de prateleira do queijo.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ABREU, L. R. Considerações sobre a qualidade do leite. In: ENCONTRO DE PECUÁRIA LEITEIRA DO SUL DE MINAS, 3., 1999, Lavras. Anais... Lavras: UFLA-DAC, 1999.

ALLISON, J. R. D. Antibiotics residues in milk. *British Veterinary Journal*, London, v. 141, n. 1, p. 9-16, 1995.

ARAUJO, M. L. C.; ANDRIOLI, J. L. *Staphylococcus aureus*. Resistance patterns to Antimicrobial and Penicilinase among Strains isolated from apparently Healthy Lactating Cows. *Revista de Microbiologia*, São Paulo, v. 1, n. 27, p. 60-63, jan./mar. 1996.

ASHWORTH, U. S.; FOSTER, T. L.; LUEDECKE, L. O. Relationship between califomia mastites test reactions. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 50, n. 7, p. 1078, July 1967

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official methods of analysis*. 12. ed. Washington, 1995. 1094 p.

AULDIST, J. M.; COATS, S.; ROGERS, G. L.; McDOWELL, G. H. Changes in the composition of milk from normal and mastitic dairy cows during the lactation cycle. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, Melbourne, v. 35, n. 4, p. 427-436, 1995.

AUDIST, J. M.; COATS, S.; SUTHERLAND, B. J.; MAYES, J. J.; McDOWELL, G. H. Effects of somatic cell count and stage of lactation on raw milk composition and the yield and quality of cheddar cheese. *Journal of Dairy Research*, Champaign, v. 63, n. 2, p. 269-280, May 1996.

AUDIST, J. M.; HUBBLE, I. B. Effects of mastitis on raw milk and dairy products. *The Australian Journal of Dairy Technology*, Highett, v. 53, n. 1, p. 28-36, Apr. 1998.

BARBANO, D. M.; RASMUSSEN, R. R.; LYNCH, J. M. Influence of milk somatic cell count and milk age on cheese yield. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 74, n. 2, p. 369-388, Feb. 1991.

BAUDET, H. M.; CHIEZE, C. Investigation into the nature and frequency of bacterial species isolated from cases of subclinical mastitis at drying-off.

Bulletin Mensuel Societé Veterinarie Pratique, Paris, v. 78, n. 3, p. 129-136, 1994.

BRAMLEY, A. J. et al. Current concepts on bovine mastitis. 4. ed. Arlington, VA: National Mastitis Council USA, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº51. Brasília, DF. 2002. 48 p.

BRASIL. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes II. Métodos físico-químicos. Brasília-DF, 1985.

BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; RIBEIRO M. T.; VEIGA, V. M. O Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v. 51, n. 2, p. 129-135, abr. 1999.

BRITO, M. A. V. P.; CHARLES, T. P. Os males do leite com resíduos In: BRITO, J. R. F.; DIAS, J. C. Sanidade do gado leiteiro. Coronel Pacheco: Embrapa-CNPGL, 1995. p. 63-70.

CHOISY, C. et. al. Les phenomenes microbiologiques ei enzymatiques et la Biochimie de Taffinage. In: ECK, A. Le Fromage, Paris: Tec ei. Documentation (Lavoisier), 1984. p. 62-100.

CORDEIRO, L. et al. Prevalence of mastitis in 30 dairy herds on the central plains of Costa Rica. Ciencias Veterinárias, Heredia, v. 13, n. 1, p. 9-13, 1991.

CORREIA, W. M.; CORREIA, C. N. M. Enfermidades enfeciosas dos mamíferos domésticos. São Paulo: J. M. Varela Livros, 1989. 823 p.

CRUZ, A. S. Comparative "in vitro" study on the susceptibility and emergence of mutants resistant to dano floxacina among Staphylococcus aureus isolated from bovine mastitis. Revista de Microbiologia, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 61-64, Jan./Mar. 1997.

DOHOO, I. R. Update on Nocardia sp mastitis. Canadian Veterinary Journal, Ottawa, v. 32, n. 2, p. 116, 1991.

DOMINGUEZ LONDOÑO, M. M. Determinação das características de fabricação, dos padrões físico-químicos e sensoriais de comercialização do queijo minas meia-cura e comparação com os queijos minas padrão e prato. 1998. 109 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

DU PREEZ, J. H. Teat canal infection. *Kiel. Milchwirtsch. Forschungsber*, Munchen, v. 37, n. 3, p. 267-273, 1985.

EMMONS, D. B. et. al. Predictive fórmulas for yield of cheese for composition of milk: a review. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.73, n.6, p. 1365-1394, June/1990.

FARKYE, N. Y.; FOX, P. F. objective index of cheese ripening. *Trends in Food Science e Technology*, London, v. 2, n. 3, p. 37-40, Mar. 1990.

FEDIO, W. M.; SHOONDERWOLD, M.; SHUTE, R. H.; JACKSON, A. A case of bovine mastitis caused by *Listeria monocytogenes*. *Canadian Veterinary Journal*, Ottawa, v. 31, n. 11, p. 773-775, Nov. 1990.

FOLEGATTI, M. I. S. Avaliação do uso de quimosina produzida por *Aspergillus niger var. awarmori* na fabricação de queijo tipo prato. 1994. 65 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade de Campinas, Campinas.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. Qualidade do leite e controle da mastite. São Paulo: Lemos editorial, 2000.

FOX, L. K.; GAY, J. M. Contagious mastitis. *Veterinary Clinics North American; Food Animal Practice*, Philadelphia, v. 9, n. 3, p. 475-87, 1993.

FOX, P. F. Proteolysis during cheese manufacturing and ripening: review. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, Duluth, v. 10, n. 3, p. 522-535, July 1988.

FOX, P. F. Proteolysis during cheese manufacturing and ripening. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 72, n. 6, p. 1379-1400, 1989.

FOX, P. F.; LAW, J. Enzimology of cheese ripening. *Food Biotechnology*, Chicago, v. 5 n. 3, p. 239-262, 1991.

FURTADO, M. M. A fabricação de queijos no Brasil. *Informativo do Laticinista*, São Paulo, n. 38, p. 24-41, abr. 1992.

FURTADO, M. M. Principais problemas dos queijos causas e prevenção. São Paulo, 1999. 176 p.

FURTADO, M. M. Tecnologia de fabricação de queijos. 3. ed. Juiz de Fora: EPAMIG/ILTC, 1983. 215 p.

FURTADO, M. M.; LOURENÇO NETO, J. P. M. Tecnologia de queijos: manual técnico para produção industrial de queijos. São Paulo: Dipemar, 1994. 118 p.

FURTADO, M. R. A Viabilidade do uso de concentrados protéicos do soro na elaboração de queijo Prato com teor reduzido de gordura. 2002. 82 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Higiene do leite: aspectos gerais das mastites. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 9, n. 36, p. 12-16, maio/jun. 1995.

GRAPPIN, R.; RANK, T. C.; OLSON, N. F. Primary proteolysis of cheese proteins during ripening: a review. *Journal of Dairy Science*, Champaign v. 45, n. 68, p. 531-540, 1985.

GRIPON, J. C. et. al. Étude du rôle des microorganismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. Influence de la pression commerciale. *Le Lait*, Paris, v. 55, n. 548, p. 502- 515, 1975.

HARMON, R. J. Symposium: mastitis and genetic evaluation for somatic cell count. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 77, n. 7, p. 2103-2112, July 1994.

HARMON, R. J.; CRIST, W. L.; HEMKEN, R. W.; LANGLOIS, B. E. Prevalence of minor udder pathogens after intramammary dry treatment. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 69, n. 3, p. 843-849, Mar. 1986.

HEESCHEN, W.; REICHMUTH, J. Mastitis: influence on qualitative and hygienic properties of milk. In: INTERNATIONAL MASTITIS SEMINAR, 1995, Tel Aviv. Proceedings.... Tel Aviv, 1995. p. 3. 3-3. 13.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Bovine mastitis: definition and guidelines for diagnosis. 1987. 24 p. (IDF Bulletin ; 211).

KAMMERLLHNER, J. Rennet cheese yield. *Deutsche-Milchwirtschaft*, Munchen, v. 45, n. 3, p. 118-121, Mar. 1994.

KITCHEN, B. J. Review of progress of dairy science; bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. *Journal of Dairy Research*, Cambridge, v. 48, n. 1, p. 167-188, Feb. 1981.

KITCHEN, B. J.; MIDDLETON, G.; DURWARD, I. G.; ANDREWS, R. J.; SALMON, M. C. Mastitis diagnostic tests to estimate mammary gland epithelial cell damage. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 63, n. 6, p. 978-983, June 1980.

KOSIKOWSKI, F. Cheese and fermented milk foods. 2. ed. Edwards: Ann Arbor, 1977. 711 p.

LAW, B. A. The formation of aroma and flavour compound in fermented dairy products. *Dairy Science Abstracts*, Fort Collins, v. 43, n. 3, p. 143-154, Mar. 1981.

LAWRENCE, R. C.; CREAMER, L. K.; GILLES, J. Symposium: Cheese Ripening Technology. Texture Development during Cheese Ripening. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 70, n. 8, p. 1750-1760, Aug. 1987.

LINZELL, J. L.; PEAKER, M. The permeability of mammary ducts. *Journal of Physiology*, London, v. 216, n. 3, p. 701-716, 1971.

MATIOLI, G. P. Influência do leite proveniente de vacas mastíticas no rendimento de queijo minas frescal. 2000. 50 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MIJACEVIC, Z. et al. Changes of quality of semihard cheese depending on the somatic cell concentration. *Acta Veterinaria Beogradensis*, Beograd, v. 43, p. 323-328, 1993.

MILKNET. O rendimento da fabricação de queijo: métodos para avaliação e comparação. Disponível em: <<http://www.milknet.com.br/artigo>>. Acesso em: 16 ago. 2003

MINUSSI, R. C. Avaliação de métodos para aceleração da maturação do queijo Prato. 1994. 84 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

MONARDES, H. G.; CUE, R. I.; HAYES, J. F. Parameters of culling in Quebec Holsteins cows. In: INTERNATIONAL DAIRY CONGRESS, 23., 1990, Montreal.

MUNRO, G. L.; GRIEVE, P. A.; KITCHEN, B. J. Effects of mastitis on milk yield, milk composition, processing properties and yield quality of milk products. Australian Journal of Dairy Technology, Victoria, v. 39, n. 1, p. 7-16, 1984.

MURPHY, S. C. Influence of bovine mastitis on lipolysis and proteolysis in milk. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 72, n. 3, p. 620-626, Mar. 1989.

NASCIF JÚNIOR, I. Doenças infecciosas dos animais domésticos. Medicina Veterinária. UNIFRAN, 2000. 13 p
NATIONAL MASTITIS COUNCIL. Current concepts of bovine mastitis. 4. ed. Madison, 1996. 64 p.

NICKERSON, S. C. Bovine Mamary Gland: Structure and Function; Relationship to Milk Production and Immunity to Mastitis. AGRI-PRACTICE, Santa Barbara, v. 15, n. 16, p. 8-18, 1994.

NICKERSON, S. C. Development of mastitis: dairy research report. Louisiana: Louisiana Agricultural Experiment Station, 1986. p. 175-782.

NIELEN, M.; DELUYKER, H.; SCHUKKER, Y. H.; BRAND, A. Electrical conductivity of milk: Measurement, modifiers, and meta análise of mastitis detection performance. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 75, n. 2, p. 606-614, Feb. 1992.

OLIVEIRA, P. R. S. Rendimento e proteólise do queijo prato elaborado com leite pasteurizado pelo sistema a placas e injeção direta a vapor. 2001. 67 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

OSHIMA, M. Detection of abnormal quarter milk by the quarter difference of the electrical conductivity and its theoretical basis. Journal Agricultural Research Quarterly, Tsukuba Ibaraki, v. 11, n. 4, p. 239, 1977.

PHILPOT, W. N. Role of therapy in mastitis control. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 62, n. 1, p. 168-178, Jan. 1979.

PHILPOT, W. N.; NICKERSON, S. C. *Mastitis: counterattack. a strategy to combat mastitis.* Naperville: Babson Brothers, 1991. 150 p.

PHILPOT, W. N.; NICKERSON, S. C. *Vencendo a luta contra a mastite.* Westfalia Landtechnik do Brasil, 2003.

POLITIS, I.; NG-KWAI-HANG, K. F. Effect of somatic cell count and milk composition on cheese composition and cheesemaking efficiency. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 71, n. 7, p. 1711-1719, July 1988.

REBHUN, W. C.; GUARD, C.; RICHARDS, C. M. *Diseases of dairy cattle.* USA: Williams & wilkins, 1995. 530 p.

RENEAU, J. K.; PACKARD, V. S. Monitoring mastitis, milk quality and economic losses in dairy fields. *Daire, Food and Environmental Sanitation*, v. 11, p. 4-11, 1991

RIBEIRO, J. A. A indústria leiteira no Brasil. *Boletim do Leite*, Rio de Janeiro, n. 89, p. 11-13, 1954.

ROGERS, S. A.; MITCHELL, G. E. The relationship between somatic cell count, composition and manufacturing properties of bulk milk. 6. Cheddar cheese and skim milk yoghurt. *Australian Journal of Dairy Technology*, Victoria, v. 49, n. 2, p. 70-74, Nov. 1994

ROGERS, S. A.; MITCHELL, G. E.; BATLEY, J. P. The relationship between somatic cell count, composition and manufacturing properties of bulk milk. 4. Non-protein constitue. *Australian Journal of Dairy Technology*, Victoria, v. 44, n. 4, p. 53-56, Nov. 1989a.

ROGERS, S. A.; SLATTERY, S. L.; MITCHELL, G. E.; HIRST, P. A.; GRIEVE, P. A. The relationship between somatic cell count, composition and manufacturing properties of bulk milk. 4. Non-protein constitue. *Australian Journal of Dairy Technology*, Victoria, v. 44, n. 4, p. 49-52, Nov. 1989b.

SCHALM, O. W.; CARROL, E. J.; JAIN, N. C. *Bovine mastitis.* Philadelphia: Lea & Febiger, 1971. 360 p.

SHARMA, K. K.; RANDOLPH, H. J. *Enzymes in bovine milk: a review.*

Journal of Dairy Science, Champaign, v. 56, n. 5, p. 531-543, May 1974.

SHERBON, J. W. Physical properties of milk. In: WONG, N. P. (Ed.) **Fundamentals of dairy Chemistry**. 3. ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1988. p. 437-486.

SHUSTER, D. E.; HARMON, R. J.; JACKSON, J. A.; HEMKEN, R. W. Suppression of milk production during endotoxin-induced mastitis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 11, p. 3763-3774, Nov. 1991.

SILVA, J. O. Efeito do calor sobre o leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 30, n. 177, p. 61-67, 1975

SILVA, P. H. F. **Desenvolvimento de Metodologia Analítica para Determinação do teor de Caseína em Leite e para Avaliação de Proteólise em Queijos**. 1985. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

SILVA, P. H. F. da; TORRES, K. F. Acidez, pH e efeito tampão no leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 50, n. 296, p. 33-41, nov./dez. 1995.

SISSOKO, S.; WISNER, H. M.; NOGAI, K.; SCHUTZ. Lactose content of urine and milk from cows with subclinical B-streptococcus mastitis. **Deutsche Tierärztliche wochenschrift**, Alfeld, v. 91, p. 151-154, 1984

SOUZA, E. A. **Tecnologia de fabricação de queijos**. Juiz de Fora, MG: Editora Lar Católico, 1960. 116 p. (Edição da Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes).

TIMMS, L. L.; SCHULTZ, L. H. Dynamics and significance of coagulase-negative *staphylococcal* intramammary infections. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 70, n. 12, p. 2648-2657, Dec. 1987.

TOLLE, A. Mastitis. The disease in relation to control methods. IDF Proceedings of a Seminar on Mastitis Control, Reading, England. 1975. p. 3-15.

WALSTRA, P. On the stability of casein micelles. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 73, n. 8, p. 1965-1979, Aug. 1990.

WALSTRA, P.; NOOMEN, A.; GEURTS, T. J. Dutch-type varieties. In: FOX, P. F. **Cheese: chemistry, physics and microbiology**. New York: Elsevier, 1987. 320 p.

WATTS, L. L. Etiologic agents of bovine mastitis. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 16, n. 1, p. 41-46, 1988.

WEITZ, B. G. F. FIL/IDF. **Proceedings of seminar on mastitis control**. 1975. Document 85.

WOLFSCHOON-POMBO, A. F. P. Índices de proteólise em alguns queijos brasileiros. **Boletim do leite**, Rio de Janeiro, n. 661, p. 1-8, nov. 1983.

WOLFSCHOON-POMBO, A. F. P.; LIMA, A. Extensão e profundidade de proteólise em queijo Minas Frescal. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 44, n. 261, p. 50-54, jul./ago. 1989.

ANEXOS

	Página
TABELA 1A Resumo da análise de variância e teste de Tukey para contagem de células somáticas.....	82
TABELA 2A Resumo da análise de variância e teste de Tukey nos tratamentos com contagem de células somáticas L1 975.000, L2 370.000 e L3 195.000 para acidez do leite.....	83
TABELA 3A Resumo da análise de variância e teste de Tukey nos tratamentos com contagem de células somáticas L1 975.000, L2 370.000 e L3 195.000 para teor de gordura do leite.....	84
TABELA 4 A Resumo da análise de variância e teste de Tukey nos tratamentos com contagem de células somáticas L1 975.000, L2 370.000 e L3 195.000 para sólidos totais do leite.....	85
TABELA 5A Resumo da análise de variância e teste de Tukey nos tratamentos com contagem de células somáticas L1 975.000, L2 370.000 e L3 195.000 para sólidos desengordurados do leite.....	86
TABELA 6A Resumo da análise de variância e teste de Tukey nos tratamentos com contagem de células somáticas L1 975.000, L2 370.000 e L3 195.000 para nitrogênio total do leite.....	87
TABELA 7A Resumo da análise de variância e teste de Tukey nos tratamentos com contagem de células somáticas L1 975.000, L2 370.000 e L3 195.000 para nitrogênio solúvel do leite.....	88

TABELA 8A Resumo da análise de variância e teste de Tukey nos tratamentos com contagem de células somáticas L1 975.000, L2 370.000 e L3 195.000 para nitrogênio não protéico do leite.....	89
TABELA 9A Resumo da análise de variância e teste de Tukey nos tratamentos com contagem de células somáticas L1 975.000, L2 370.000 e L3 195.000 para lactose do leite.....	90
TABELA 10A Resumo da análise de variância e teste de Tukey nos tratamentos com contagem de células somáticas L1 975.000, L2 370.000 e L3 195.000 para cloretos do leite.....	91
TABELA 11A Resumo da análise de variância e teste de Tukey nos tratamentos com contagem de células somáticas L1 975.000, L2 370.000 e L3 195.000 para nitrogênio total do soro.....	92
TABELA 12A Resumo da análise de variância e teste de Tukey nos tratamentos com contagem de células somáticas L1 975.000, L2 370.000 e L3 195.000 para nitrogênio solúvel do soro.....	93
TABELA 13A Resumo da análise de variância e teste de Tukey nos tratamentos com contagem de células somáticas L1 975.000, L2 370.000 e L3 195.000 para nitrogênio não protéico do soro.....	94
TABELA 14A Resumo da análise de variância e teste de Tukey nos tratamentos com contagem de células somáticas L1 975.000, L2 370.000 e L3 195.000 para cifras de transição (sólidos totais do leite para o queijo)	95
TABELA 15A Resumo da análise de variância e teste de Tukey nos tratamentos com contagem de células somáticas L1 975.000, L2 370.000 e L3 195.000 para cifras de transição (gordura do leite para o soro).....	96

TABELA 16A Resumo da análise de variância e teste de Tukey nos tratamentos com contagem de células somáticas L1 975.000, L2 370.000 e L3 195.000 para rendimento do queijo..... 96

TABELA 17A Resumo da análise de variância e teste de Tukey nos tratamentos com contagem de células somáticas L1 975.000, L2 370.000 e L3 195.000 para umidade do queijo..... 97

TABELA 18A Resumo da análise de variância e teste de Tukey nos tratamentos com contagem de células somáticas L1 975.000, L2 370.000 e L3 195.000 para extensão de maturação do queijo..... 98

TABELA 19A Resumo da análise de variância e teste de Tukey nos tratamentos com contagem de células somáticas L1 975.000, L2 370.000 e L3 195.000 para a profundidade de maturação do queijo..... 99

RESUMO DA ANÁLISE DE VARIANCIA E TESTE DE TUKEY

TABELA 1A Resumo da análise de variância e teste de Tukey para os valores de CCS do leite

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamentos	2	1675083.3333	837541.6666	51.501	0.0000
erro	12	195150.0000	16262.5000		
Total corrigido	14	1870233.333333			
CV (%) =	24.84				
Média geral:	513.3333333		Número de observações:	15	

Teste Tukey para a FV tratamentos

DMS: 215,280126554867 NMS: 0,05

Média harmônica do número de repetições (r): 5
Erro padrão: 57,0306934904355

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
L3	195.000000	a1
L2	370.000000	a1
L1	975.000000	a2

TABELA 2A Resumo da análise de variância e teste de Tukey para os valores de acidez do leite

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamentos	2	46.533333	23.266667	53.692	0.0000
erro	12	5.200000	0.433333		
Total corrigido	14	51.733333			
CV (%) =	4.55				
Média geral:	14.4666667		Número de observações:	15	

Teste Tukey para a FV tratamentos

DMS: 1,11127446213049 NMS: 0,05

Média harmônica do número de repetições (r): 5

Erro padrão: 0,294392028877595

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
L1	12.000000	a1
L2	15.400000	a2
L3	16.000000	a2

TABELA 3A Resumo da análise de variância e teste de Tukey para os valores de teor de gordura leite

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc Pr>Fc
tratamentos	2	0.100000	0.050000	7.500 0.0077
erro	12	0.080000	0.006667	
Total corrigido	14	0.180000		
CV (%) =	2.47			
Média geral:	3.300000	Número de observações:	15	

Teste Tukey para a FV tratamentos

DMS: 0,137836632966121 NMS: 0,05

Média harmônica do número de repetições (r): 5

Erro padrão: 0,0365148371670111

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
L1	3.200000	a1
L2	3.300000	a1 a2
L3	3.400000	a2

TABELA 4A Resumo da análise de variância e teste de Tukey para os valores de teores de sólidos totais do leite

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc Pr>Fc
tratamentos	2	3.761333	1.880667	144.667 0.0000
erro	12	0.156000	0.013000	
Total corrigido	14	3.917333		
CV (%) =	0.93			
Média geral:	12.2066667	Número de observações:		15

Teste Tukey para a FV tratamentos

DMS: 0,192478382956379 NMS: 0,05

Média harmônica do número de repetições (r): 5
 Erro padrão: 0,0509901951359277

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
L1	11.520000	a1
L2	12.400000	a2
L3	12.700000	a3

TABELA 5A Resumo da análise de variância e teste de Tukey para os valores de teores de sólidos desengordurados do leite

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamentos	2	2.921333	1.460667	99.591	0.0000
erro	12	0.176000	0.014667		
Total corrigido	14	3.097333			
CV (%) =	1.36				
Média geral:	8.8933333	Número de observações:	15		

Teste Tukey para a FV tratamentos

DMS: 0,204444765773942 NMS: 0,05

Média harmônica do número de repetições (r): 5

Erro padrão: 0,0541602560309066

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
L1	8.280000	a1
L2	9.100000	a2
L3	9.300000	a2

TABELA 6A Resumo da análise de variância e teste de Tukey para os valores de teores de nitrogênio solúvel do leite

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamentos	2	0.005160	0.002580	1.865	0.1971
erro	12	0.016600	0.001383		
Total corrigido	14	0.021760			
CV (%) =	6.97				
Média geral:	0.5340000	Número de observações:		15	

Teste Tukey para a FV tratamentos

DMS: 0,062787574470537 NMS: 0,05

Média harmônica do número de repetições (r): 5

Erro padrão: 0,0166332999331662

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
L3	0.508000	a1
L2	0.544000	a1
L1	0.550000	a1

TABELA 7A Resumo da análise de variância e teste de Tukey para os valores de teores de nitrogênio não protéico do leite

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamentos	2	0.002413	0.001207	2.277	0.1451
erro	12	0.006360	0.000530		
Total corrigido	14	0.008773			
CV (%) =	11.79				
Média geral:	0.1953333	Número de observações:		15	

Teste Tukey para a FV tratamentos

DMS: 0,0388640646652053 NMS: 0,05

Média harmônica do número de repetições (r): 5

Erro padrão: 0,010295630140987

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
L2	0.178000	a1
L1	0.200000	a1
L3	0.208000	a1

TABELA 8A Resumo da análise de variância e teste de Tukey para os valores de teores lactose do leite

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamentos	2	0.368093	0.184047	51.314	0.0000
erro	12	0.043040	0.003587		
Total corrigido	14	0.411133			
CV (%) =	1.34				
Média geral:	4.4833333	Número de observações:		15	

Teste Tukey para a FV tratamentos

DMS: 0,10110107968979 NMS: 0,05

Média harmônica do número de repetições (r): 5

Erro padrão: 0,0267830792354676

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
L1	4.264000	a1
L2	4.566000	a2
L3	4.620000	a2

TABELA 9A Resumo da análise de variância e teste de Tukey para os valores de teores de cloreto do leite

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc Pr>Fc
tratamentos	2	0.012520	0.006260	32.379 0.0000
erro	12	0.002320	0.000193	
Total corrigido	14	0.014840		
CV (%) =	10.53			
Média geral:	0.1320000	Número de observações:	15	

Teste Tukey para a FV tratamentos

DMS: 0,0234727327815847 NMS: 0,05

Média harmônica do número de repetições (r): 5

Erro padrão: 0,00621825270205921

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
L3	0.100000	a1
L2	0.126000	a2
L1	0.170000	a3

TABELA 10A Resumo da análise de variância e teste de Tukey para os valores de teores de nitrogênio total do soro

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamentos	2	0.007000	0.003500	3.231	0.0754
erro	12	0.013000	0.001083		
Total corrigido	14	0.020000			
CV (%) =	2.68				
Média geral:	1.230000		Número de observações:	15	

Teste Tukey para a FV tratamentos

DMS: 0,0555637231065248 NMS: 0,05

Média harmônica do número de repetições (r): 5

Erro padrão: 0,0147196014438798

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
L3	1.210000	a1
L2	1.220000	a1
L1	1.260000	a1

TABELA 11 Resumo da análise de variância e teste de Tukey para os valores de teores de nitrogênio solúvel do soro

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamentos	2	0.022333	0.011167	6.091	0.0149
erro	12	0.022000	0.001833		
Total corrigido	14	0.044333			
CV (%) =	8.45				
Média geral:	0.5066667	Número de observações:		15	

Teste Tukey para a FV tratamentos

DMS: 0,0722821401284248 NMS: 0,05

Média harmônica do número de repetições (r): 5

Erro padrão: 0,0191485421551268

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
L3	0.470000	a1
L2	0.490000	a1 a2
L1	0.560000	a2

TABELA 12 Resumo da análise de variância e teste de Tukey para os valores de teores de nitrogênio não protéico do soro

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc Pr>Fc
tratamento	2	0.004413	0.002207	3.360 0.0694
erro	12	0.007880	0.000657	
Total corrigido	14	0.012293		
CV (%) =	11.17			
Média geral:	0.2293333	Número de observações:	15	

Teste Tukey para a FV tratamento

DMS: 0,0432596270518201 NMS: 0,05

Média harmônica do número de repetições (r): 5
 Erro padrão: 0,0114600756251141

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
L3	0.208000	a1
L2	0.230000	a1
L1	0.250000	a1

TABELA 13 Resumo da análise de variância e teste de Tukey para os valores de cifras de transição (sólidos totais do leite para o queijo)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamento	2	78.457333	39.228667	3871.250	0.0000
erro	12	0.121600	0.010133		
Total corrigido	14	78.578933			
CV (%) =	0.16				
Média geral:	61.0666667	Número de observações:		15	

Teste Tukey para a FV tratamento

DMS: 0,169936414075694 NMS: 0,05

Média harmônica do número de repetições (r): 5
 Erro padrão: 0,0450185147096918

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
L1	57.900000	a1
L2	62.080000	a2
L3	63.220000	a3

TABELA 14 Resumo da análise de variância e teste de Tukey para os valores de cifras de transição (teor de gordura do leite para o soro)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamentos	2	32.562333	16.281167	12060.123	0.0000
erro	12	0.016200	0.001350		
Total corrigido	14	32.578533			
CV (%) =	0.32				
Média geral:	11.5733333		Número de observações:	15	

Teste Tukey para a FV tratamentos

DMS: 0,0620264848347544 NMS: 0,05

Média harmônica do número de repetições (r): 5

Erro padrão: 0,0164316767251549

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
L3	10.310000	a1
L2	10.770000	a2
L1	13.640000	a3

TABELA 15 Resumo da análise de variância e teste de Tukey para os valores de rendimento do queijo

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamentos	2	0.033333	0.016667	8.000	0.0062
erro	12	0.025000	0.002083		
Total corrigido	14	0.058333			
CV (%) =	0.55				
Média geral:	8.2833333	Número de observações:	15		

Teste Tukey para a FV tratamentos

DMS: 0,0770530202754843 NMS: 0,05

Média harmônica do número de repetições (r): 5
 Erro padrão: 0,0204124145231933

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
L3	8.250000	a1
L1	8.250000	a1
L2	8.350000	a2

TABELA 16 Resumo da análise de variância e teste de Tukey para os valores de umidade do queijo

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamentos	2	58.033333	29.016667	72.845	0.0000
erro	12	4.780000	0.398333		
Total corrigido	14	62.813333			
CV (%) =	1.28				
Média geral:	49.383333		Número de observações:	15	

Teste Tukey para a FV tratamentos

DMS: 1,0654513170011 NMS: 0,05

Média harmônica do número de repetições (r): 5

Erro padrão: 0,282252841733554

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
L3	47.750000	a1
L2	48.250000	a1
L1	52.150000	a2

TABELA 17 Resumo da análise de variância e teste de Tukey para os valores de umidade do queijo

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamentos	2	58.033333	29.016667	72.845	0.0000
erro	12	4.780000	0.398333		
Total corrigido	14	62.813333			
CV (%) =	1.28				
Média geral:	49.3833333	Número de observações:	15		

Teste Tukey para a FV tratamentos

DMS: 1,0654513170011 NMS: 0,05

Média harmônica do número de repetições (r): 5

Erro padrão: 0,282252841733554

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
L3	47.750000	a1
L2	48.250000	a1
L1	52.150000	a2

TABELA 18 Resumo da análise de variância e teste de Tukey para os valores de extensão da maturação do queijo

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
leite	2	469.918083	234.959041	53142.123	0.0000
tempo	4	256.768808	64.192202	14518.743	0.0000
bloco	4	0.063301	0.015825	3.579	0.0589
erro 1	8	0.035371	0.004421		
erro 2	16	0.084925	0.005308		
leite*tempo	8	213.349664	26.668708	3322.134	0.0000
erro 3	32	0.256883	0.008028		
Total corrigido	74	940.477035			
CV 1 (%) =		0.55			
CV 2 (%) =		0.60			
CV 3 (%) =		0.74			
Média geral:	12.1457333		Número de observações:	75	

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
leite /1	2	102.727693	51.363847	10011.405	0.0000
leite /2	2	72.088053	36.044027	7025.396	0.0000
leite /3	2	71.428413	35.714207	6961.110	0.0000
leite /4	2	177.379213	88.689607	17286.625	0.0000
leite /5	2	259.644373	129.822187	25303.838	0.0000
Resíduo	21	0.107741	0.005131		

Codificação usada para o desdobramento

cod. tempo

1 = 0

2 = 7

3 = 14

4 = 21

5 = 28

TABELA 19 Resumo da análise de variância e teste de Tukey para os valores de profundidade da maturação do queijo

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
leite	2	177.140523	88.570261	334648.343	0.0000
bloco	4	0.004019	0.001005	3.796	0.0513
tempo	4	73.782725	18.445681	69694.010	0.0000
erro 1	8	0.002117	0.000265		
erro 2	16	0.032355	0.002022		
leite*tempo	8	46.157371	5.769671	9329.747	0.0000
erro 3	32	0.019789	0.000618		
Total corrigido	74	297.138899			
CV 1 (%) =		0.21			
CV 2 (%) =		0.58			
CV 3 (%) =		0.32			
Média geral:	7.7965333		Número de observações:	75	

Análise do desdobramento de leite dentro de cada nível de: tempo

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
leite /1	2	47.295213	23.647607	14154.593	0.0000
leite /2	2	59.443253	29.721627	17790.279	0.0000
leite /3	2	36.996093	18.498047	11072.255	0.0000
leite /4	2	27.166013	13.583007	8130.291	0.0000
leite /5	2	52.397320	26.198660	15681.560	0.0000
Resíduo	17	0.028401	0.001671		

**Codificação usada para o desdobramento
cód. tempo**

1 = 0

2 = 7

3 = 14

4 = 21

5 = 28

Obs. Identifique a codificação conforme valores apresentados anteriormente