

**INFLUÊNCIA DA CONTAGEM DE CÉLULAS
SOMÁTICAS E MICRORGANISMOS
PSICROTÓFICOS NA GELIFICAÇÃO E
SEDIMENTAÇÃO DO LEITE UAT**

AYRTON SOARES MELO JUNIOR

2005

AYRTON SOARES MELO JUNIOR

**INFLUÊNCIA DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E
MICRORGANISMOS PSICOTRÓFICOS NA GELIFICAÇÃO E
SEDIMENTAÇÃO DO LEITE UAT**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador
Prof. Dr. Luiz Ronaldo de Abreu

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2005

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

Melo Junior, Ayrton Soares

Influência da contagem de células somáticas e microrganismos psicrotróficos na gelificação e sedimentação do leite UHT / Ayrton Soares
Melo Junior. -- Lavras : UFLA, 2005.

63 p. : il.

Orientador: Luiz Ronaldo de Abreu.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Leite UHT. 2. Leite UAT. 3. Sedimentação. 4. Gelificação.
5. Estabilidade ao etanol. 6. Microrganismos psicrotróficos. 7. Contagem
de células somáticas. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD - 576.163

- 637.1

- 664.07

AYRTON SOARES MELO JUNIOR

**INFLUÊNCIA DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E
MICRORGANISMOS PSICROTÓFICOS NA GELIFICAÇÃO E
SEDIMENTAÇÃO DO LEITE UHT**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 10 de agosto de 2005

Prof. Dr. Nélio José de Andrade – UFV

Prof. Dr. Marcos Aurélio Lopes – UFLA

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

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL**

“É melhor tentar e falhar, que preocupar-se e ver a vida passar.
É melhor tentar, ainda em vão, que sentar-se fazendo nada até o final.
Eu prefiro na chuva caminhar, que em dias tristes em casa me esconder.
Prefiro ser feliz, embora louco, que em conformidade viver...”

Martin Luther King

DEDICO

À minha família, especialmente aos meus pais, Airton e Lea,

À minha esposa, Clédis e aos meus filhos, Pedro, Ayrton Neto e Thiago.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e pela possibilidade da realização de um sonho.

Ao Prof. Dr. Luiz Ronaldo Abreu, pela oportunidade que me foi dada, a competente orientação e à amizade incondicional, que foi essencial para a realização deste trabalho.

À Cooperativa Central Mineira de Laticínios (Cemil), na pessoa do Sr. João Bosco Ferreira e do Sr. Cilas Pacheco, pela oportunidade de realização do mestrado, demonstrando grande visão estratégica do setor laticinista.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Ciência dos Alimentos, pela oportunidade de aperfeiçoamento profissional.

À minha esposa, Clédis Mari de Sousa Melo e aos meus filhos, Pedro S. Melo, Ayrton Neto e Thiago S. Melo, pelo apoio e compreensão durante esta caminhada.

Aos meus pais, Ayrton S. Melo e Léa Dalva Costa Melo, pelos ensinamentos de vida e apoio constante.

Aos professores Nélio José de Andrade (UFV) e Roberta R. Piccoli (UFLA), pela orientação.

Aos meus irmãos Rita C. Melo, Reinaldo C. Melo, Virginia C. Melo, Lauro Neto, pela amizade e ajuda durante meus estudos.

À Tetra Pak, pelo apoio ao projeto, na pessoa do Sr. Túlio Romano e da Sra. Heloísa Rios.

Aos amigos Valdomiro Jardim de Oliveira e Flávia de Floriani Pozza Rebelo, pela inestimável ajuda durante todo curso.

À amiga Celeide Pereira, pela amizade e apoio.

Aos professores e funcionários do DCA/UFLA, pelo convívio e apreço.

Aos amigos da Cemil, pelo auxílio durante todo o trabalho.

À Profa. Dra Walkiria Hanada Viotto (Unicamp), pela atenção dispensada ao trabalho.

Aos amigos Lourivaldo Lemos e Paulo C. Gonçalves da Coopatos, pela ajuda na seleção do leite destinado aos processamentos.

Muito obrigado.

BIOGRAFIA

Ayrton Soares Melo Junior nasceu em 24 de fevereiro de 1969, em Perdões, MG, filho de Airton Soares Melo e Léa Dalva Costa Melo.

Graduou-se em Tecnólogo em Laticínios pela Universidade Federal de Viçosa, em agosto de 1993. Na mesma época, iniciou sua carreira na indústria de laticínios, trabalhando nos Laticínios Tirol (SC), Cooperativa Central Produtores Rurais de Minas Gerais – Itambé (DF), Cooperativa Central Laticínios do Estado de São Paulo – Paulista (GO) e Cooperativa Central Mineira de Laticínios – Cemil (MG), onde atualmente exerce o cargo de gerente de área industrial.

Em julho de 2002, concluiu o curso de Especialização em Processamento e Controle de Qualidade em Carne, Leite, Ovos e Pescado, pela Universidade Federal de Lavras.

Em fevereiro de 2003, iniciou o mestrado em Ciência dos Alimentos na Universidade Federal de Lavras, tendo defendido a Dissertação em 10 de agosto de 2005.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	4
2.1 O leite UHT	4
2.2 O processamento do leite por UAT	4
2.3 Aspectos mercadológicos do leite UAT	6
2.4 Mastite	7
2.4.1 Contagem de células somáticas	8
2.5 Microrganismos psicotróficos	9
2.6 Atividade enzimática no leite	11
2.6.1 Proteases naturais do leite	12
2.6.2 Proteases de origem microbiana	14
2.7 Alterações em leite UAT	15
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Amostragem	19
3.1.1 Níveis de contagem de células somáticas	19
3.1.2 Níveis de contagem de microrganismos psicotróficos	20
3.1.3 Coleta de amostras	21
3.2 O processamento UAT	21
3.3 Análises do leite cru	23
3.3.1 Análises físicas, químicas, físico-químicas e microbiológicas	23
3.4 Análises do leite UAT	24
3.4.1 Análises física, química e físico-química no leite UAT	24
3.4.2 Determinação da massa de sedimentos	24
3.4.3 Determinação da viscosidade do leite UAT	25
3.5 Análise estatística	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1 Composição do leite cru com diferentes níveis de contagem de células somáticas	27
4.2 Média das contagens de células somáticas	28
4.3 Composição do leite cru com diferentes níveis de microrganismos psicotróficos	29

4.4 Média das contagens de microrganismos psicrotróficos.....	30
4.5 Massa de sedimentos	31
4.5.1 Influência das células somáticas na massa de sedimentos	32
4.5.2 Influência dos microrganismos psicrotróficos na massa de sedimentos....	35
4.6 Viscosidade.....	38
4.6.1 Influência das células somáticas na viscosidade.....	38
4.6.2 Influência dos microrganismos psicrotróficos na viscosidade.....	40
4.7 Teor de proteínas	43
4.7.1 Influência das células somáticas no teor de proteínas.....	43
4.7.2 Influência dos microrganismos psicrotróficos no teor de proteínas.....	45
4.8 Estabilidade ao etanol	46
4.8.1 Influência das células somáticas na estabilidade ao etanol.....	47
4.8.2 Influência dos microrganismos psicrotróficos na estabilidade ao etanol...	48
4.9 pH	49
4.9.1 Influência das células somáticas no pH	49
4.9.2 Influência dos microrganismos psicrotróficos no pH	50
4.10 Contagem de microrganismos mesófilos aeróbios.....	51
4.10.1 Células somáticas.....	53
4.10.2 Microrganismos psicrotróficos	53
5 CONCLUSÕES.....	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56

RESUMO

MELO JUNIOR, Ayrton Soares. **Influência da contagem de células somáticas e microrganismos psicrotróficos na gelificação e sedimentação do leite UHT.** 2005. 63 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.¹

O objetivo deste trabalho foi verificar a influência que a contagem de células somáticas e a contagem de microrganismos psicrotróficos exercem sobre a gelificação e a sedimentação do leite UHT integral. As amostras avaliadas eram provenientes de seis processamentos de leite UHT integral. Em três processamentos, foram selecionados três níveis de células somáticas presentes no leite cru: alta (maior que 700.000 células/mL), média (entre 400.000 e 700.000 células/mL) e baixa (menor que 400.000 células/mL). Nos outros três processamentos foram selecionados três níveis de microrganismos psicrotróficos presentes no leite cru: alta (maior que 3×10^6), média (entre 1×10^6 e 3×10^6) e baixa (menor que 1×10^6). Foram analisadas amostras de leite cru e de leite UHT com 30, 60, 90 e 120 dias de fabricação, a 25°C–30°C. As análises físico-químicas do leite cru com diferentes níveis de células somáticas e microrganismos psicrotróficos não revelaram diferenças significativas ($P > 0,05$). Observou-se um aumento da massa de sedimentos ao longo da vida de prateleira do leite UHT. A contagem de células somáticas levou a uma maior formação de sedimentação. Os teores de proteínas diminuíram com o aumento da sedimentação. O pH do leite UHT decresceu ao longo da vida de prateleira. A estabilidade do leite UHT ao etanol apresentou aumento inicial, seguido de um decréscimo progressivo, resultando em menor estabilidade alcoólica no final da vida de prateleira. A viscosidade do leite UHT aumentou ao longo da vida de prateleira, revelando uma tendência à gelificação. Sendo assim, de acordo com os resultados obtidos, conclui-se que a contagem de células somáticas no leite cru foi determinante para uma maior formação de sedimentação no leite UHT. Conclui-se, ainda, que altas contagens de células somáticas e as contagens de microrganismos psicrotróficos no leite cru influenciam no aumento da gelificação no leite UHT.

¹ Comitê Orientador: Luiz Ronaldo de Abreu - UFLA (Orientador), Nélio José de Andrade – UFV, Marcos Aurélio Lopes – UFLA.

ABSTRACT

MELO JUNIOR, Ayrton Soares. **The influence of the count of somatic cells and psychrotrophic microorganisms in the gelling and sedimentation of UHT milk** 2005. 63 p. Dissertation (Master in Food Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.¹

The objective of this work was to verify the influence that the count of somatic cells and psychrotrophic microorganisms have in the gelling and sedimentation of whole UHT milk. The samples assessed came from six processings of UHT whole milk. In the three processings, three levels of somatic cells present in the unprocessed milk were selected: high (higher than 700,000 cells/ mL), medium (between 400,000 and 700,000 cells/mL) and low (lower than 400,000 cells/mL). In the three other processings, three levels of psychrotrophic microorganisms present in the unprocessed milk were selected: high (higher than 3×10^6), medium (between 1×10^6 and 3×10^6) and low (lower than 1×10^6). Samples of unprocessed milk and UHT milk with 30, 60, 90 and 120 days of shelflife between 25 – 30 degrees centigrade. The physical-chemical analyzes of unprocessed milk with different levels of somatic cells and psychrotrophic microorganisms did not reveal significant differences ($P > 0.05$). A increase of mass of sediments was found during the time that the UHT milk was on the shelf. The somatic cell count led to a greater sedimentation. The proportions of proteins decreased with the increase of sedimentation. The pH of the UHT milk in ethanol presented an initial increase followed by a progressive decrease, resulting in a lower alcoholic stability at the end of the ‘shelf time’. The viscosity of UHT milk increased during the ‘shelf time’, revealing a tendency to gelling. Thus, according to the results obtained, it was concluded that the count of somatic cells in the unprocessed milk was determinant to a higher of sediment in UHT milk. It was also concluded that the high counts of somatic cells and the psychrotrophic microorganisms in the unprocessed milk influenced the increase of the UHT milk gelling.

¹ Guidance committee: Luiz Ronaldo de Abreu - UFLA (Adviser), Nélio José de Andrade – UFV, Marcos Aurélio Lopes – UFLA.

1 INTRODUÇÃO

O leite bovino se tornou, ao longo dos tempos, um alimento básico na dieta humana, devido ao seu alto valor nutritivo e seu indiscutível valor biológico. Entretanto, por ser um alimento de fácil deterioração, tornou-se necessário o uso meio para sua conservação, dentre eles, o tratamento térmico, a fim de destruir parcial ou totalmente sua flora patogênica e deteriorante, e por conseqüência, alongar seu tempo de conservação e garantir sua segurança para o consumo.

Sob essa ótica, o sistema UAT (Ultra Alta Temperatura) é um dos processamentos tecnológicos mais difundidos e juntamente com um envase asséptico, permite a conservação e o prolongamento da durabilidade em temperaturas ambientes por períodos que podem ultrapassar a quatro meses, se utilizado leite cru de boa qualidade.

No Brasil, o leite UAT, também conhecido como longa vida, foi lançado em 1972, porém, sua produção e comercialização tiveram um expressivo crescimento nos últimos 13 anos, passando de 184 milhões de litros em 1990 para 4,227 bilhões em 2003 (ABLV, 2004).

Este rápido crescimento se deu em razão de alguns fatores, dentre os quais destacam-se transporte sem necessidade de refrigeração, maior prazo de validade e conveniência na periodicidade da compra. Entretanto, a qualidade microbiológica do leite cru, pré-requisito imprescindível para o sucesso desse produto, vem sendo negligenciada, visto que inicialmente, predominou o conceito de que o processo UAT seria capaz de corrigir todos os problemas existentes na matéria-prima, o que, na prática, não tem sido observado.

Por razões diversas, no Brasil, o leite cru utilizado na produção do UAT tem sido o tipo C, que não possui um padrão microbiológico quantitativo,

importante indicador para a seleção da qualidade da matéria-prima. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) em 2002, por meio da Instrução Normativa nº 51, instituiu padrões microbiológicos mínimos para o leite cru tipo C, que passou a ser denominado leite cru refrigerado. Entretanto, o atendimento ao padrão legal tornou obrigatório a partir de 1/7/2005, nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, o que está gerando boas perspectivas para a melhoria da qualidade do leite UAT.

A não qualidade microbiológica do leite cru destinado ao processamento UAT prejudica a obtenção de um produto com qualidade, diminuindo sua vida de prateleira e causando defeitos, como sedimentação e, principalmente, gelificação em leites processados por esse sistema.

O leite esterilizado por esse processo pode sofrer alterações importantes durante o armazenamento, limitando seu período de conservação. Essas alterações são atribuídas à ação de proteases e lipases produzidas por bactérias psicrófilas e pela plasmina, uma protease natural do leite que é capaz de promover proteólise e gelificação no leite UHT (Cheng, 1995). Pela importância econômica e social que o leite UHT representa na cadeia de lácteos, trabalhos devem ser conduzidos no sentido de garantir ao consumidor um produto de melhor qualidade.

Este trabalho teve como objetivo geral estudar a influência que a contagem de células somáticas e microrganismos psicrófilos exerce sobre a gelificação e sedimentação no leite UAT integral durante a sua vida de prateleira. Os objetivos específicos foram:

avaliar a qualidade microbiológica do leite cru com diferentes níveis de células somáticas e microrganismos psicrófilos

estudar a influência que diferentes contagens de células somáticas e dos microrganismos psicotróficos exercem sobre a qualidade físico-química do leite cru;

verificar a influência que diferentes níveis de contagens de células somáticas e microrganismos psicotróficos exercem sobre a gelificação e sedimentação no leite UAT integral durante sua vida de prateleira.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O leite UHT

Define-se leite UHT ou UAT (“UHT, do inglês *ultra high temperature*” ou ultra-alta temperatura) como um produto homogeneizado que foi submetido, durante 2 a 4 segundos, a uma temperatura entre 130°C e 150°C, mediante um processo térmico de fluxo contínuo, imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 32°C e envasado, sob condições assépticas, em embalagens esterilizadas e hermeticamente fechadas (Brasil, 1997).

2.2 O processamento do leite por UAT

Alguns aspectos da conservação de alimentos devem ser considerados. Até cerca de 150 a 200 anos atrás, não existiam conhecimentos suficientes que permitissem elaborar alimentos duradouros mediante a aplicação de calor. Devido aos avanços no campo da microbiologia, aos conhecimentos sobre as regras de destruição térmica e aos desenvolvimentos técnicos das indústrias alimentares, conseguiu-se a elaboração de conservas alimentares duradouras (Schulz, 1990).

Os termos UAT e longa vida têm sido comumente usados, na maior parte do mundo, para designar produtos lácteos que são submetidos ao tratamento ultra alta temperatura (UAT). Essa denominação foi aprovada pela *Food and Drug Administration* (FDA) (Suarez et. al., 1985).

Segundo Tetra Pak (1996), UAT é uma técnica para a preservação de alimentos líquidos por meio da sua exposição ao calor intenso por um rápido período de tempo, destruindo os microrganismos do produto.

A aplicação do tratamento UAT é relativamente recente para o tratamento térmico de matérias-primas *in natura*, visando à sua conservação. Essa tecnologia só pode ser difundida após o desenvolvimento de um novo sistema de embalagem previamente esterilizada, de fechamento hermético e impermeável à luz e ao oxigênio; ela promove a preservação de vários alimentos de origem animal ou vegetal sem a necessidade de refrigeração, resultando, então, na mais recente revolução na indústria de alimentos e na facilidade para o consumidor que pode armazenar, em temperatura ambiente, diversos produtos por longo período (Prata, 1997).

O tratamento UAT pode ser classificado como direto ou indireto, de acordo com o equipamento utilizado no processo. No sistema direto, o produto entra em contato direto com o meio de aquecimento, seguido de um resfriamento instantâneo em câmara de vácuo e, eventualmente, o resfriamento adicional indireto até atingir a temperatura de envase. O sistema direto é dividido em dois sistemas: de injeção de vapor (vapor injetado no produto) e de infusão de vapor (o produto é introduzido numa câmara de vapor). O sistema de aquecimento direto apresenta uma maior agilidade no processo de aquecimento e resfriamento, o que, sem dúvida, reduz a possibilidade de mudanças físicas e químicas que poderiam ocorrer durante o tratamento “UAT” convencional (Indireto). Neste tipo de processamento direto, a qualidade do vapor utilizado se torna muito importante (Tetra Pak, 1996).

No sistema indireto, o calor é transferido de um meio de aquecimento para o produto por meio de uma parede divisória. O sistema indireto pode ser baseado em trocadores de calor a placas, tubulares ou com superfície raspada. Além disso, é possível combinar os trocadores de calor no processo indireto, de acordo com as exigências do produto e do processo (Tetra Pak, 1996).

2.3 Aspectos mercadológicos do leite UAT

No segmento lácteo, o leite UAT tornou-se um produto de destaque e de grande comercialização e consumo, fatores esses atribuídos à sua tecnologia (Bastos, 1999).

Segundo Prata et al. (1997), para o setor industrial, proporcionou a economia de frio e seus equipamentos, a simplificação do sistema de distribuição e a comercialização de seus produtos a longas distâncias, o que era impossibilitado antes em nosso país, onde o clima tropical e a extensão territorial sempre foram aspectos que dificultaram a comercialização de alimentos perecíveis.

Os fatores relevantes para esse aumento da demanda de consumo do leite UAT são: preferência do consumidor, cuja vantagem seria a facilidade de compra em grandes intervalos e facilidade de estocagem, grande concorrência entre os laticínios, instalação de novas indústrias no país, envolvidas com a sua produção e o crescimento de “*marketing*” das indústrias de equipamentos sobre as de laticínios e dessas sobre o mercado consumidor (Santos et al., 1999).

Os dados da Tabela 1 demonstram o consumo de leite fluido e a participação do leite UAT no mercado brasileiro, de 1990 a 2003.

TABELA 1. Mercado total de leite fluido e comportamento das vendas internas de leite longa vida, Brasil, 1990/2003 (em 1.000.000 de litros).

Ano	Total leite fluido	Leite longa Vida	Market share %
1990	4.241	187	4,4%
1991	3.951	204	5,2%
1992	3.693	355	9,6%
1993	3.162	456	14,4%
1994	3.615	730	20,2%
1995	4.200	1.050	25,0%
1996	4.535	1.700	37,5%
1997	4.720	2.450	51,9%
1998	5.080	3.100	61,0%
1999	5.125	3.425	66,8%
2000	5.230	3.600	68,8%
2001	5.390	3.950	73,3%
2002	5.700	4.220	74,0%
2003	5.767	4.227	73,3%
2004	5.993	4.403	73,50%

Fonte: Associação Brasileira de Leite Longa Vida. (2004)

2.4 Mastite

A inflamação da glândula mamária dos bovinos é designada mastite (Branley, 1991). A inflamação caracteriza-se por aumento do volume, calor, vermelhidão, dor e distúrbio funcional, resultando em diminuição da produção de leite e variação de sua composição (Reneau, 1991).

Segundo Bizari (2002), 90% das mastites são ocasionadas por bactérias, principalmente *Staphylococcus aureus* e bactérias do gênero *Streptococcus*.

Além desses patógenos, também podem ocorrer mastites causadas por fungos, leveduras, algas e vírus, porém, a mastite causada por este último patógeno é extremamente rara (Nascif Junior, 2001).

Streptococcus agalactiae e *staphylococcus aureus* são os agentes mais comuns da mastite (Carvalho, 2001).

Segundo Mehrzad (2005), a mastite pode ser classificada em subclínica e clínica. A mastite clínica apresenta anormalidades na secreção láctea, anormalidade no tamanho, consistência e temperatura das glândulas mamárias e, possivelmente, reação sistêmica. A mastite subclínica é aquela na qual existe a inflamação, porém, sem sinais visíveis da doença, sendo necessária a análise dos componentes do leite (como a contagem de células somáticas) e ou a cultura do mesmo para sua detecção (Bizari, 2002).

2.4.1 Contagem de células somáticas

A contagem de células somáticas (CCS) presentes na secreção láctea é um bom indicador geral de saúde da glândula mamária (Reneau, 1991). Normalmente, são células de defesa (leucócitos) do organismo que migram do sangue para o interior da glândula mamária, com o objetivo de combater agentes agressores, mas também podem ser células secretoras descamadas (Machado et al., 1999).

O número destas células é usualmente, menor que 200.000 células/mL de leite (Branley, 1992). Uma glândula mamária saudável apresenta de 50.000 a 200.000 células/mL; já acima de 283.000 células/mL, a glândula é considerada infectada e, nos casos clínicos, a contagem de células somáticas chega a milhões de células por mL (Reneau, 1986).

A legislação brasileira sobre leite cru refrigerado (Brasil, 2002) estabelece o valor máximo de 1.000.000 de células somáticas/mL, o qual se tornou obrigatório apenas a partir de 1/7/2005, nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste.

As contagens de células somáticas podem ser feitas diretamente pela contagem microscópica ou por contadores eletrônicos (Bramley, 1992; Schalm et al., 1971 e Vasconcelos, 1996)

Uma vez que a medida da CCS é fácil e barata quando comparada com testes bacteriológicos para mastite, ela tem sido usada para monitorar a saúde da glândula, indicando animais infectados ou não. O valor de corte para se classificar a glândula como mastítica é 283.000 células por mL de leite, sendo 80% eficiente nesta classificação (Reneau, 1986).

2.5 Microrganismos psicrotróficos

Segundo Collins (1981) e de acordo com as normas da *International Dairy Federation*, os psicrotróficos foram definidos com sendo microrganismos que podem crescer a 7°C ou menos, independente da temperatura ótima de crescimento.

Os gêneros envolvidos na alteração do leite são: *Pseudomonas spp*, *Bacillus spp*, *Flavobacterim*, *Alcaligenes*, *Micrococcus*, *Yersinia* *Staphylococcus e Listeria*, além de algumas espécies de fungos filamentosos e leveduras. *Pseudomonas spp e Bacillus spp* são os principais gêneros envolvidos, sendo o gênero de *Pseudomonas spp* o predominante. Alguns autores destacaram o envolvimento de *Pseudomonas fluorescens* na estimulação do crescimento de *Listeria monocytogenes*, além de alterar os alimentos (Marshall & Schimidt, 1988).

Segundo Mckeller (1989), citado por Rabelo (2003), algumas espécies de *Pseudomonas* secretam dois ou três tipos diferentes de proteases, capazes de coagular as proteínas do leite e apresentar atividade hidrolítica em várias frações da caseína (α , β e κ), mas sem apresentar atividade degradativa nas proteínas do soro.

Além desses gêneros, Laranja & Fonseca (2000) incluem também *Serratia spp*, *Corynebacterium* e *Clostridium spp*, entre outros microrganismos psicotróficos do leite, podendo a *Listeria*, *Yersinia* e os *Bacillus* serem capazes de provocar enfermidades em humanos pela ingestão de leite cru, em condições especiais.

A grande totalidade dos microrganismos psicotróficos é destruída pela pasteurização, com exceção das poucas bactérias termodúricas. Espécies psicotróficas apresentam capacidade de produção de enzimas proteolíticas e lipolíticas, muitas delas com elevada termorresistência, as quais mantêm sua atividade após a pasteurização ou mesmo tratamento UAT (Carvalho, 2001).

Essa contaminação é considerada o fator mais crítico que influencia a manutenção da qualidade do leite refrigerado. Esses microrganismos estão amplamente distribuídos na natureza, podendo ser encontrados na água, solo, plantas e animais. Assim, o contato do leite com essas fontes pode levar à sua contaminação por esses tipos de microrganismos (Santos et al., 1999).

Com relação à quantidade de bactérias psicotróficas necessárias em um determinado produto para que possa haver alterações é citado que os problemas aparecem quando a contagem destes microrganismos atinge 10^7 /UFC/mL (Cromie, 1992).

As principais enzimas envolvidas na deteriorização do produto são as proteases e lipases, glicosidases, fosfatases e esterases, embora nem todas essas sejam produzidas por bactérias. Outros fatores ambientais, como temperatura,

pH e aeração, também podem influenciar a síntese e ação dessas enzimas (Cheng et al., 1995).

Proteases são enzimas que hidrolisam as caseínas, que são as maiores proteínas do leite, sendo a α -lactoalbuminas e β -globulinas consideradas proteínas menores pertencentes à fase de soro de leite. As caseínas são divididas em subclasses, α -s-caseína, β -caseína, K-caseína, sendo que todas as caseínas do leite estão contidas em um agregado de partículas, as micelas. A estabilidade da micela de caseína deve-se, preferencialmente, à β -caseína e, em parte, ao fosfato de cálcio coloidal (Kohlmann et al., 1991). Os efeitos das proteases naturais ou bacterianas, no leite e produtos lácteos, são ações nas subunidades de caseína. As proteases bacterianas atacam principalmente a K e β -caseína, sendo a K-caseína atacada por estar mais exposta à protease, devido ao seu posicionamento na periferia da micela e a β -caseína, porque, na armazenagem refrigerada do leite, essa fração se dissocia e separa-se da micela, mostrando que a própria armazenagem refrigerada do leite pode tornar as frações de caseína mais susceptíveis à proteólise (Santos et al., 1999).

2.6 Atividade enzimática no leite

Alterações na vida de prateleira ocorrem no leite fluido e em produtos derivados. Este fenômeno deve-se à ação de enzimas proteolíticas, as quais, em grande parte, são termoestáveis, permanecendo ativas até mesmo após processos usuais de pasteurização e esterilização do leite (Collins, 1981).

Existem, no leite de vaca, 50 tipos de atividades enzimáticas. Entretanto, as enzimas nativas com atividade relevante são a lipase lipoprotéica, a plasmina e a lactoperoxidase (Muir, 1996).

A fosfatase alcalina e a plasmina podem apresentar um certo grau de reativação posterior ao tratamento térmico (Walstra & Jenness, 1984). Outras enzimas endógenas do leite são mais sensíveis ao calor, a exemplo da alfa-L-fucosidase e da fosfohexoseisomerase, das quais nenhuma atividade foi detectada em 21 amostras de leite UAT (Zehetner et al., 1996).

Existem vários tipos de proteases presentes no leite bovino, sendo algumas originadas do desenvolvimento de microrganismos e outras derivadas do sangue do animal. A concentração destas enzimas é dependente da raça do animal, da alimentação, do estágio de lactação e de doenças, como a mastite (Law, 1979).

2.6.1 Proteases naturais do leite

As principais proteases são plasmina, plasminogênio e ativadores de plasminogênio.

A principal atividade proteolítica endógena no leite é decorrente da ação da plasmina, a enzima que normalmente se encontra associada à fração da caseína (Richardson, 1983). A proteólise de origem da plasmina perfaz aproximadamente 90% da proteólise total (Barry & Donnelly, 1981).

Segundo Bastian & Brown (1996), a ação da plasmina degrada β , α_{s1} e α_{s2} caseína. O plasminogênio, que também está presente no leite, pode ser prontamente ativado por ativadores de plasminogênio (Richardson, 1983).

Segundo Vert & Bardano (1991), qualquer fator que converta plasminogênio em plasmina, resultando em proteólise da caseína, pode ter impacto negativo na funcionalidade da proteína do leite e, visto que constituintes de células somáticas são capazes de realizar esta conversão, conclui-se que a fonte de ativação de plasminogênio no leite são as células somáticas. Isto se

confirma pelo fato de os leucócitos do sangue bovino e as enzimas bacterianas extracelulares não serem capazes de converter o plasminogênio em plasmina.

As concentrações de plasmina, plasminogênio e ativadores de plasminogênio no leite são baixas no início da lactação. No leite normal, pode-se observar uma taxa de ativação de plasminogênio para plasmina (Figura 1), no entanto esta taxa é muito maior quando ocorre em leites com altas contagens de células somáticas (De Rhan & Andrews, 1982).

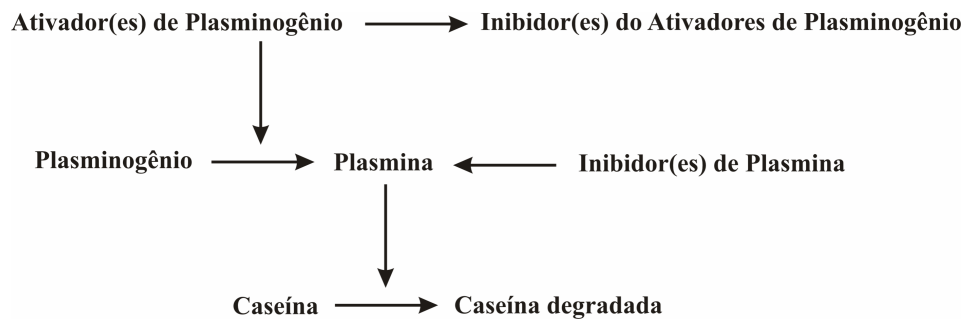


FIGURA 01. Representação esquemática do sistema da enzima plasmina no leite (Bastian & Brown, 1996).

Com relação à estabilidade térmica da plasmina, a pasteurização do leite (72°C por 15 segundos) resulta em um decréscimo de 10% a 17% da atividade da plasmina (Korycka – Dahl et al., 1983).

Parte da atividade proteolítica, entretanto, resiste à pasteurização e se deve, segundo Bastian & Brown (1996), à característica de termorresistência da plasmina, que pode resistir até a tratamentos UAT.

O leite pasteurizado possui maior atividade do ativador de plasminogênio em relação ao leite cru, diferença esta atribuída à desnaturação de um inibidor do ativador de plasminogênio pela pasteurização. Os ativadores de

plaminogênio são estáveis a pH e à temperatura e estão predominantemente associados à fração de caseína (Ioannis, 2004).

2.6.2 Proteases de origem microbiana

Segundo Law et al. (1977), a estocagem de leite cru por prolongados períodos antes do processamento aumenta a probabilidade do crescimento de bactérias psicrotróficas com produção de enzimas termorresistentes capazes de causar deterioração de produtos lácteos. Os autores concluíram que *Pseudomonas fluorescens* AR11 cresce em leite refrigerado e produz uma protease que é resistente ao tratamento UAT e que provoca a gelificação em um período de tempo dependente da extensão do crescimento do microrganismo antes do tratamento térmico. Amostras de leite foram inoculadas com a bactéria e o crescimento foi mantido até contagens de 5×10^7 e 8×10^6 UFC/mL, antes do tratamento UAT e a gelificação ocorreu em 10 a 14 dias e em 8 a 10 semanas, respectivamente, a 20°C. A protease causou extensiva quebra da κ -caseína em para- κ -caseína de uma forma similar àquela associada com a ação da quimosina. A β -caseína foi também quebrada rapidamente, enquanto a α -caseína foi degradada lentamente.

Sorhaug & Stepaniak (1997) também reportaram que a estocagem do leite a frio suprime o desenvolvimento de bactérias produtoras de ácido, mas seleciona microrganismos psicrotróficos produtores de proteases. Estas afetam, predominantemente, a κ -caseína, enquanto a β -caseína e a α -s-caseína são menos susceptíveis (Law, 1979). A pasteurização e outros tratamentos subsequentes destroem ou removem estes microrganismos, mas proteinases e lipases extracelulares termorresistentes produzidas por eles representam um importante fator de deterioração do leite durante a estocagem.

Picard et al. (1996) estudaram a atividade enzimática residual de uma cultura pura de *Pseudomonas fluorescens* sobre a κ -caseína e seu efeito em leite UAT, demonstrando haver uma proteólise de, aproximadamente, 25% daquela proteína, após estocagens de dois dias a 37°C ou 14 dias a 20°C.

2.7 Alterações em leite UAT

No decorrer dos anos, começaram a surgir problemas, principalmente pela interpretação errônea de que o processo UAT corrigia todos os problemas anteriores da matéria-prima, principalmente os de ordem microbiológica, uma vez que promoveria a “esterilização do produto. Mas tem sido comum o aparecimento de defeitos, como a gelificação, sedimentação, coagulação parcial ou total e o estufamento de embalagens, mesmo em produtos dentro do prazo de validade (Prata, 2001).

A principal causa destes defeitos ou alterações tem sido atribuída à qualidade da matéria-prima, pois a mesma está intimamente relacionada com o grau de contaminação inicial e com o tempo e temperatura de armazenagem, desde a ordenha até o processamento. Portanto a qualidade do produto “UAT” depende da qualidade microbiológica da matéria-prima utilizada (Sudinik, 1994).

Segundo Ramos & Silva (2001), a inexistência de especificações de composição e requisitos físico-químicos e microbiológicos para o leite cru destinado ao processo “UAT” tem gerado discussões sobre a qualidade da matéria-prima utilizada pelas indústrias brasileiras.

Uma elevada carga microbiana de mesófilos, psicrotóxicos e ou termodúricos, por meio de seu desenvolvimento no leite, degrada importantes

constituintes ou produzem substâncias capazes de alterar o equilíbrio dos constituintes do leite (Bizari, 2002).

Segundo Sorhaug & Stepaniak (1997), a principal alteração na vida de prateleira do leite UAT deve-se à ação de enzimas proteolíticas e lipolíticas, nativas do leite ou de origem microbiana, as quais, em grande parte, são termoestáveis, permanecendo ativas mesmo após os processos usuais de pasteurização e ou UAT.

Mottar (1981) verificou a influência dessas enzimas nas modificações do leite UAT armazenado. Das amostras analisadas, 97% continham proteases termorresistentes que não foram completamente inativadas depois do tratamento. A qualidade microbiológica do leite cru, mais especificamente a cifra de psicotróficos, determina a natureza e a quantidade dessas enzimas (Cauvin et al., 1999).

Sabe-se que a gelificação, que ocorre com produtos lácteos durante a sua vida de prateleira, pode ter vários mecanismos diferentes. Um deles é a degradação proteolítica da caseína, que torna as micelas sensíveis à agregação. Assemelha-se ao que ocorre na coagulação do leite pela renina porque as proteinases, especialmente as bacterianas, resistem ao tratamento térmico, resultando na desestabilização das micelas e conseqüente coagulação do leite. O armazenamento do leite cru durante alguns dias a temperaturas baixas agrava o problema, pelo crescimento de psicotróficos.

Law et al. (1977) concluíram que a gelificação de leite UAT é um fator que contribui para a limitação da vida de prateleira deste produto.

Silva (2003) concluiu que a contagem de microrganismos psicotróficos e a contagem de células somáticas, ambas no leite cru, foram fatores determinantes para o aumento da gelificação no leite UAT.

Corradini & Pecis (1979) examinaram a atividade proteolítica em leite UAT adicionado de uma proteinase e concluíram que houve influência na formação de gel durante a estocagem do leite UAT.

Kelly & Folley (1997) investigaram a proteólise no produto preparado com leite cru integral com baixa e alta contagem de células somáticas e encontraram que altos níveis de proteólise em leites UAT com alta contagem de células somáticas estão associados à gelificação precoce, possivelmente através da atividade da plasmina associada à célula somática.

Silva (2003) demonstrou que a desnaturação de soroproteínas e a contagem de células somáticas no leite cru foram fatores determinantes para a maior formação de sedimentos no leite UAT.

Enright et al. (1999) demonstraram que o leite cru é instável e apresenta extensiva proteólise durante a estocagem, com evidência de atividade proteolítica derivada de enzimas que não a plasmina. Os autores também sugerem que a atividade da plasmina tem a maior influência na proteólise que ocorre durante a estocagem de leite UAT.

Auld et al. (1996) relacionaram a contagem de células somáticas e o estágio de lactação com a qualidade do leite UAT. Os leites contendo altos níveis de células somáticas (687.000 e 1463000 células/mL para, respectivamente, estágios inicial e avançado de lactação) apresentam menor relação caseína:proteína total, além de maior pH e nível de proteólise quando proveniente de estágio avançado de lactação. Os leites com altas contagens de células somáticas também apresentam tendência de gelificar antes que os de baixas contagens.

Segundo Machado et al. (1999), o leite UAT com altas contagens de células somáticas apresentam aumento da geleificação e conseqüente diminuição do tempo de prateleira.

Um leite com elevada contagem de células somáticas levou a uma diminuição na porcentagem de sólidos totais e desengordurados do leite, com uma ligeira diminuição do teor de proteínas totais, diminuição acentuada do teor de caseína e um aumento significativo das proteínas solúveis (Matioli, 2005).

Em consequência das alterações na composição do leite causadas pela alta contagem de células somáticas, diversos defeitos podem ser observados na produção de derivados lácteos, entre os quais destacam-se: um menor rendimento industrial, redução da vida de prateleira devido à ação de enzimas que contribuem para sabor desagradável em produtos lácteos e, em certos casos, a menor qualidade microbiológica do produto final, resultante do aumento da contagem global de microrganismos (Mehrzaad et al., 2005).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado em duas etapas, sendo o processamento UAT e análises microbiológicas realizados na usina de beneficiamento de leite da Cooperativa Central Mineira de Laticínios, localizada no município de Patos de Minas, MG, e as análises físico químicas e de contagem de células somáticas nos laboratórios do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras/Lavras, MG e Laboratório de Qualidade do Leite da Embrapa Gado de Leite/Juiz de Fora, MG.

3.1 Amostragem

Objetivando avaliar a influência da contagem de células somáticas e da contagem de microrganismos psicotróficos nas características físico-químicas (massa de sedimentos, viscosidade, teor de proteínas, estabilidade ao etanol, pH, extrato seco total e desengordurado) no leite integral, processado pelo sistema UAT, foram realizados procedimentos experimentais, com 4 repetições consecutivas, utilizando leite cru integral com diferentes níveis de células somáticas e de microrganismos psicotróficos (conforme descrito nos itens 3.1.1 e 3.1.2). Foram utilizados 3000 litros de leite cru resfriado para cada processamento de níveis de células somáticas e psicotróficos.

3.1.1 Níveis de contagem de células somáticas

O leite cru foi coletado nos tanques refrigerados (silos), a seleção foi realizada de acordo com a contagem de células somáticas do leite, analisadas por contador eletrônico de células somáticas na EMBRAPA Gado de Leite, Juiz de

Fora. A seleção objetivou dividir o leite em três níveis de células somáticas, conforme Tabela 2. As médias de contagens de microrganismos psicotróficos neste experimento se mantiveram com valores inferiores a $8,0 \times 10^5$ UFC / mL

TABELA 2. Níveis de células somáticas do leite cru utilizado no experimento

Nível	Células somáticas/mL	Média da contagens de células somáticas/mL nos níveis
Alta	>700.000	720.000
Média	> 400.000 < 700.000	450.000
Baixa	< 400.000	380.000

3.1.2 Níveis de contagem de microrganismos psicotróficos

O leite cru foi coletado nos tanques refrigerados(silos) e a seleção foi realizada de acordo com a contagem de microrganismos psicotróficos. A metodologia foi realizada conforme descrito por Marshall (1992). A seleção objetivou encontrar três níveis microrganismos psicotróficos, conforme Tabela 3. As médias de contagens de células somáticas neste experimento se mantiveram com valores inferiores a 400.000 células/mL

TABELA 3. Níveis de microrganismos psicotróficos do leite cru utilizados no experimento

Nível	Microrganismos psicotróficos-UFC/mL	Média da contagem de psicotróficos UFC/mL nos níveis
Alta	> 3×10^6	$8,0 \times 10^6$
Média	> 1×10^6 < 3×10^6	$1,8 \times 10^6$
Baixa	< 1×10^6	$7,5 \times 10^5$

3.1.3 Coleta de amostras

O experimento foi realizado no período de janeiro a julho de 2004, quando foram executados os processamentos e as análises microbiológicas e físico-químicas.

Em cada processamento, foram coletadas uma amostra do silo de leite cru e cinco amostras após envase do leite UAT, com volume de um litro cada amostra.

As amostras de leite cru foram divididas em duas partes, sendo a primeira destinada a análises imediatas no laboratório da fábrica e a segunda transferida para um frasco contendo conservante 2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol (Bronopol). O volume de amostra e o emprego de conservante atenderam às recomendações da International Dairy Federation (1985). As porções amostrais contendo conservante foram mantidas em refrigeração e transportadas para o Laboratório de Qualidade do Leite da Embrapa Gado de Leite, em Juiz de Fora, MG.

As amostras de leite UAT foram acondicionadas em caixa de papelão e transportadas para o Laboratório de Laticínios do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA, onde foram mantidas a uma temperatura aproximada de 26°C +/-1°C até o final da vida de prateleira (120 dias). As análises foram conduzidas nas amostras de leite UAT com zero, 30, 60, 90 e 120 dias de estocagem.

3.2 O processamento UAT

Os processamentos de leite UAT integral, foram realizados conforme descrito na Figura 2.

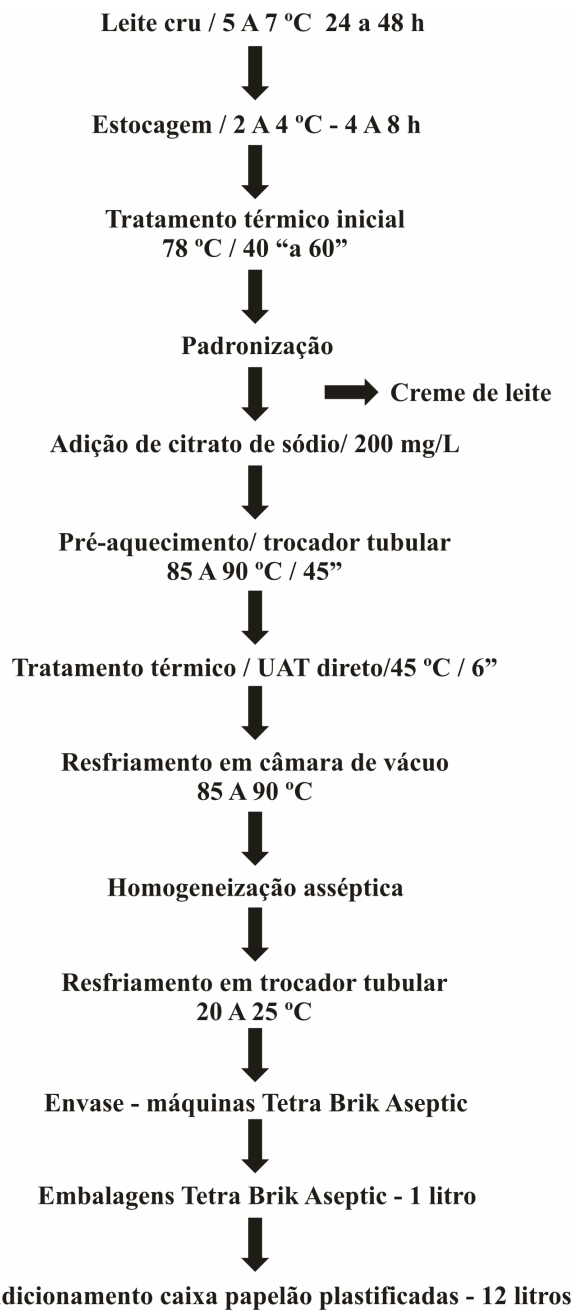


FIGURA 2 Fluxograma para fabricação leite UAT integral.

3.3 Análises do leite cru

Para as análises laboratoriais do leite cru foram utilizadas as metodologias descritas a seguir.

3.3.1 Análises físicas, químicas, físico-químicas e microbiológicas

- Acidez titulável, segundo o método B (Brasil, 2003).
- Ponto de congelamento (Brasil, 2003), empregando crioscópio eletrônico.
- Teor de proteína (International Dairy Federation 141B: 1996), empregando análise automática por espectrofotometria em infravermelho.
- Lactose (International Dairy Federation 141B: 1996), empregando análise automática por espectrofotometria em infravermelho.
- Extrato seco total (International Dairy Federation 141B: 1996), empregando análise automática por espectrofotometria em infravermelho.
- Extrato seco desengordurado, por diferença algébrica entre os teores de extrato seco total e gordura.
- Gordura (Brasil, 2003), pelo método C: butirométrico.
- pH (Brasil, 2003), empregando método potenciométrico.
- Estabilidade ao etanol (Pereira et al., 2000), empregando soluções de etanol de concentração padronizada.
- Contagem de microrganismos aeróbios estritos e facultativos viáveis psicrotróficos. (PCA a 6,5°C +/- 0,5°C por 10 dias) - (Marshall, 1992) *Standard Methods For the Examination of Dairy Products*.
- Contagem de células somáticas (International Dairy Federation 148A: 1995), empregando análise automática pelo método fluoro-optico-eletrônico.

- Contagem de microrganismos aeróbios estritos e facultativos viáveis mesofílicos (Marshall, 1992) *Standard Methods For the Examination of Dairy Products*.

3.4 Análises do leite UAT

Para as análises laboratoriais do leite UAT foram utilizadas as metodologias descritas a seguir.

3.4.1 Análises física, química e físico-química no leite UAT

Foram realizadas as mesmas análises laboratoriais para o leite cru, excetuando-se as de contagem de células somáticas, contagem de mesófilos aeróbios e contagem de microrganismos psicrotóxicos. Foram realizadas ainda as seguintes análises:

- massa de sedimentos (Silva, 2003), empregando método gravimétrico;
- viscosidade (Pereira et al., 2000), empregando viscosímetro rotatório;

3.4.2 Determinação da massa de sedimentos

Para a determinação da massa de sedimentos, utilizou-se a metodologia padronizada por Silva (2003), conforme descrição a seguir, baseada em procedimento de Ramsey & Swartzel (1984);

- abrir completamente a embalagem do leite UAT pela parte superior, com auxílio de tesoura;

- escoar todo o leite, cuidadosamente;
- cortar a embalagem, com auxílio de tesoura, de modo a obter uma altura final de, aproximadamente, 4 cm, a partir da base;
- inverter a embalagem e manter em posição vertical por 10 minutos, a fim de permitir que o leite escoe das paredes internas e do fundo;
- cortar a embalagem pelas arestas e abrir completamente, de forma que a mesma fique plana. Se necessário, lavar a embalagem, cuidadosamente, empregando pequeno volume de água com auxílio de pisseta, removendo algum eventual resíduo de leite nas paredes, sem retirar o sedimento do fundo da embalagem;
- manter a embalagem, com a face interna voltada para cima, a temperatura ambiente por 48 horas;
- pesar a embalagem e anotar o valor;
- remover, cuidadosa e completamente, o sedimento seco, com auxílio de espátula de ponta fina. Se absolutamente necessário, lavar a embalagem, cuidadosamente, empregando pequeno volume de água com auxílio de pisseta;
- escoar a água, caso tenha sido empregada e deixar secar à temperatura ambiente, pelo tempo necessário;
- pesar a embalagem e anotar o valor;
- obter a massa de sedimentos pela diferença entre as duas pesagens.

3.4.3 Determinação da viscosidade do leite UAT

A viscosidade aparente do leite UAT foi realizada utilizando-se um reômetro, marca Brookfield, modelo DV-III. Cerca de 500mL de amostra,

previamente homogeneizada, foram transferidos para um béquer de forma baixa, com capacidade de 600mL e, em seguida, procederam-se às leituras, a cada período de um minuto, totalizando vinte minutos por análise. Os valores de viscosidade aparente foram registrados em centipoise (cP).

3.5 Análise estatística

Para a realização das análises estatísticas, foi utilizado o software SAS (1991). O experimento foi conduzido seguindo-se um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três tratamentos (níveis de células somáticas/microrganismos psicrotróficos) e diferentes números de repetições por tratamento.

Para as análises do leite UAT, o delineamento foi o inteiramente casualizado, em que os tratamentos foram arranjados segundo um esquema de parcela subdividida no tempo (dias de estocagem).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Composição do leite cru com diferentes níveis de contagem de células somáticas

Os resultados das análises químicas, físicas e físico-químicos do leite cru utilizado no processamento UAT estão apresentados na Tabela 4.

TABELA 4. Valores médios (erro-padrão) das análises químicas, físicas, físico-química do leite cru, com três níveis de células somáticas.

Variáveis	Contagem de células Somáticas (leite cru)		
	Baixa (abaixo de 400.000)	Média (entre 400.000 e 700.000)	Alta (acima de 700.000)
Acidez (g ácido láctico/100 mL)	0,15 (0,001)a	0,15 (0,001)a	0,15(0,001)a
pH (a 20°C)	6,71 (0,015)a	6,74 (0,005)a	6,72 (0,025)a
Ponto Congelamento (°H)	-0,537 (0,001)a	-0,536 (0,002)a	-0,542 (0,002)a
Densidade (g/mL)	1,0331 (0,0002)a	1,0327 (0,0001)a	1,0326 (0,0007)a
Resistência ao etanol (% v/v)	79,93 (1,136)a	81,00 (1,270)a	81,00 (1,466)a
Gordura (g/100g)	3,32 (0,467)a	3,42 (0,522)a	3,38 (0,552)a
Teor de proteína (g/100g)	3,11 (0,012)a	3,12 (0,014)a	3,10 (0,012)a
Lactose (g/100g)	4,46 (0,007)a	4,45 (0,005)a	4,42 (0,044)a
Sólidos totais (g/100g)	12,43 (0,398)a	12,57 (0,445)a	12,49 (0,513)a
Sólidos desengordurados (g/100g)	9,11 (0,059)a	9,15 (0,066)a	9,11(0,059)a

Médias seguidas de mesma letra minúscula, na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5% de significância.

No geral, a composição química, física e físico-química encontra-se dentro dos limites especificados pela legislação brasileira (Brasil, 2002). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas ($P > 0,05$) para as variáveis acidez, pH, crioscopia, densidade, resistência ao etanol, lactose, teor de

proteínas, sólidos totais, sólidos desengordurados e teor de gordura, entre os níveis estudados. Os resultados de sólidos totais e sólidos desengordurados deste estudo se encontram dentro da faixa de variação citada por Walstra & Jenness (1884) que apresentam um valor médio de 12,6%(m/m) para sólidos totais, variando de 11,3% a 14,5% (m/m). Para estabilidade do leite ao etanol, o mesmo encontra-se superior ao preconizado por Chavez (2004), que sugeriu que, para fins de produção do leite UAT, o leite cru deve resistir, no mínimo, ao etanol 74% (v/v). Os valores de pH variaram entre 6,71 e 6,74 nos níveis estudados se encontrando-se dentro da faixa de variação descrita por Silva (2003) de 6,60 e 6,77.

4.2 Média das contagens de células somáticas

As médias de contagens de células somáticas encontradas neste trabalho encontram-se dentro dos níveis predeterminados. Não foi observada uma grande diferença entre os níveis. A legislação brasileira sobre leite cru (Brasil, 2002) estabelece o valor máximo de um milhão de células somáticas/mL, o qual será obrigatório a partir de 1/7/2005, nas regiões Sul, Sudeste e Centro Oeste.

Analisando-se a Figura 3, em contraste com a legislação, evidencia-se que as contagens de células somáticas, em todos os níveis, mantiveram-se em valores inferiores. Por outro lado, estes dados, embora satisfatórios, não indicam que o melhor aspecto sanitário já tenha sido alcançado, evidenciando que programas de qualidade das indústrias devem prosseguir no apoio e na orientação ao produtores de leite sobre importância da sanidade animal sobre a qualidade do leite e derivados.

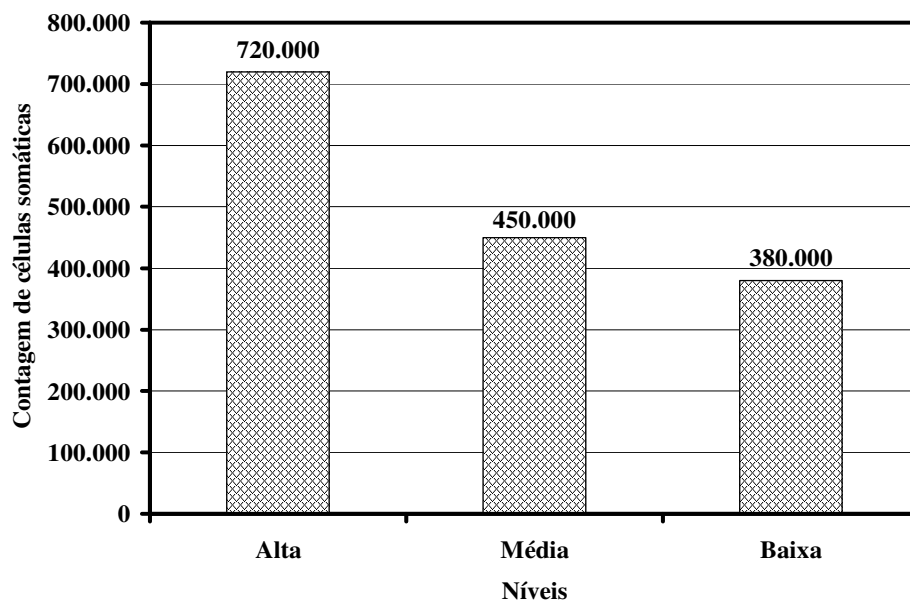


FIGURA 3. Média dos níveis de contagem de células somáticas no leite cru

4.3 Composição do leite cru com diferentes níveis de microrganismos psicrotróficos

Os resultados das análises químicas, físicas e físico-químicas do leite cru utilizado no processamento UAT encontram-se na Tabela 5.

TABELA 5. Valores médios dos resultados das análises químicas, físicas, físico-químicas do leite cru, com três contagens de microrganismos psicrotróficos.

Variáveis	Microrganismos psicrotróficos (leite cru)		
	Baixo (<1x10 ⁶)	Médio (>1x10 ⁶ < 3x10 ⁶)	Alto (>3x10 ⁶)
Acidez (g ácido láctico/100 mL)	15,00 (0,204) a	15,00 (0,204) a	15,00 (0,204) a
PH (a 20°C)	6,72 (0,024) a	6,76 (0,024) a	6,71(0,024) a
Ponto congelamento (°H)	-0,540 (0,002) a	-0,544 (0,002) a	-0,541 (0,002) a
Densidade (g/mL)	1,0326 (0,003) a	1,0328 (0,003) a	1,0326 (0,003) a
Etanol (% v/v)	82,50 (0,509) a	82,33(0,509) a	82,83(0,509) a
Gordura (g/100g)	3,34 (0,055) a	3,44(0,055) a	3,31(0,055) a
Teor de proteína (g/100g)	3,16 (0,027) a	3,15(0,027) a	3,09(0,027) a
Lactose (g/100g)	4,46(0,008) a	4,45(0,008) a	4,42(0,008) a
Sólidos totais (g/100g)	12,37(0,112) a	12,54(0,112) a	12,38(0,112) a
Sólidos desengordurados (g/100g)	9,03(0,097) a	9,10(0,097) a	9,07(0,097) a

Médias seguidas de mesma letra minúscula, na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5% de significância.

No geral, a composição química, física e físico-química encontra-se dentro dos limites especificados pela legislação brasileira (Brasil, 2002). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas para as variáveis analisadas. Observou-se que a matéria-prima destinada à realização deste trabalho se encontra dentro da faixa considerada ideal para o processamento UAT.

4.4 Média das contagens de microrganismos psicrotróficos

As médias de microrganismos psicrotróficos no leite cru nos três níveis estudados encontram-se na Figura 4.

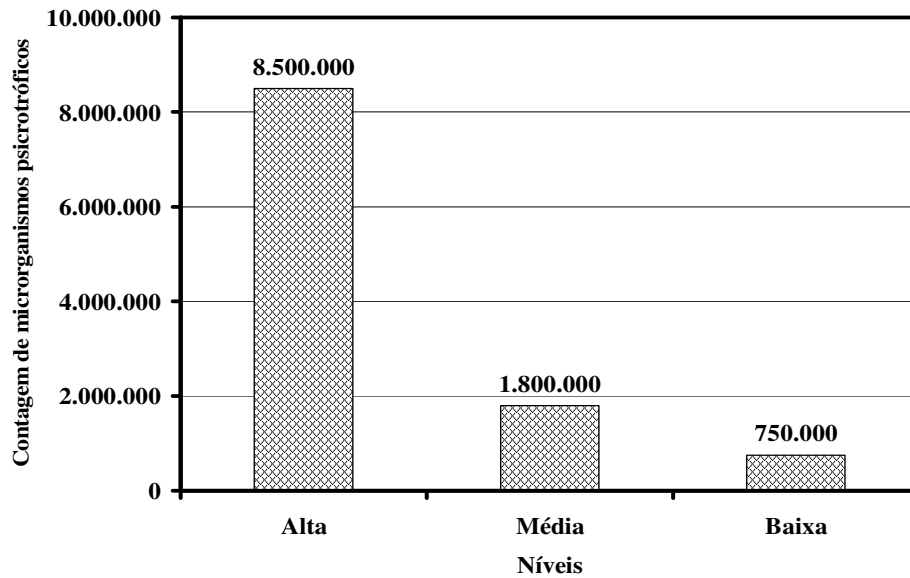


FIGURA 4. Média dos níveis de contagem de microrganismos psicrotróficos no leite cru.

As altas contagens de microrganismos psicrotróficos obtidas particularmente para o nível alto indicam falhas no processo higiênico da cadeia, seja na obtenção, aumentando a contaminação, seja na estocagem refrigerada, coleta e transporte a granel com temperaturas e tempos inadequados.

4.5 Massa de sedimentos

Nas indústrias de laticínios que processam o leite por meio do sistema UAT, a ocorrência de sedimentação tem sido, atualmente, um dos principais problemas. A deposição de complexos protéico-salinos nos esterilizadores, principalmente na região onde ocorre a injeção de vapor (Sistema direto) ou na tubulação de aquecimento (Sistema indireto), ocasiona, com frequência,

interrupções nas linhas de produção, gerando a necessidade de limpezas freqüentes e, por conseqüência, aumento nos custos industriais. Nessa etapa, a sedimentação, embora causando os problemas acima mencionados, ainda não pode ser avaliada visualmente no leite recém-processado. Entretanto, há uma diminuição na vida de prateleira do leite; o depósito formado pela sedimentação no fundo da embalagem leva a uma rejeição do leite UAT pelo consumidor.

4.5.1 Influência das células somáticas na massa de sedimentos

Pelos dados da Tabela 6, observa-se que não houve diferenças estatísticas ($P > 0,05$) para os níveis de contagens de células somáticas e a formação de sedimentos, devido, provavelmente, às baixas diferenças entre contagens encontradas entre os níveis e à grande experiência do produtor e da indústria que vem, ao longo do tempo, promovendo ações no sentido de minimizar este defeito. Poder-se-ia especular que se a contagem de células somáticas ultrapassasse a valores de dois milhões, essa diferença apareceria. Entretanto, com a entrada em vigor da Instrução Normativa 51, que estabelece o máximo de um milhão de contagem de células somáticas para o leite cru refrigerado na fazenda, o problema da sedimentação do leite UAT, possivelmente, não será mais influenciado pela contagem de células somáticas. Todavia, deve-se sempre levar em consideração que a sedimentação do leite não é influenciada por um fator isolado, mas sim por um conjunto de fatores que agem sinergisticamente na formação de sedimentos no leite.

Os valores médios de sedimentação (Tabela 6) deste estudo foram superiores aos obtidos por Neira (1986) e por Silva (2003).

TABELA 6. Teor médio da massa de sedimentos (g/L) do leite UAT fabricado com leite cru, com três níveis de células somáticas.

Nível	Massa de sedimentos do leite UAT (g/L)
Alta	1,5237 (0,154) a
Média	1,3230 (0,133) a
Baixa	1,1199 (0,133) a

Médias seguidas de mesma letra minúscula, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5% de significância.

A sedimentação, como se pode observar pelo gráfico da Figura 5 apresenta um comportamento crescente ao longo do tempo de estocagem. Dessa forma, é razoável supor que a contagem de células somáticas influencia a sedimentação durante o processamento e também durante a vida de prateleira. Dessa forma, torna-se imperioso minimizar os fatores que promovem a sedimentação, tal como elevadas contagens de células somáticas no leite cru, pois, de acordo com Silva (2003), existe uma relação direta entre altas contagens de células somáticas e formação de sedimentos no leite UAT durante a estocagem.

A plasmina protease natural do leite capaz de promover proteólise e gelificação no leite UAT provém de um composto precursor denominado plaminogênio. Mehrzad et al. (2005) aventaram a presença de ativadores de plaminogênio termoestáveis associados às células somáticas em leites provenientes de vacas com mastite.

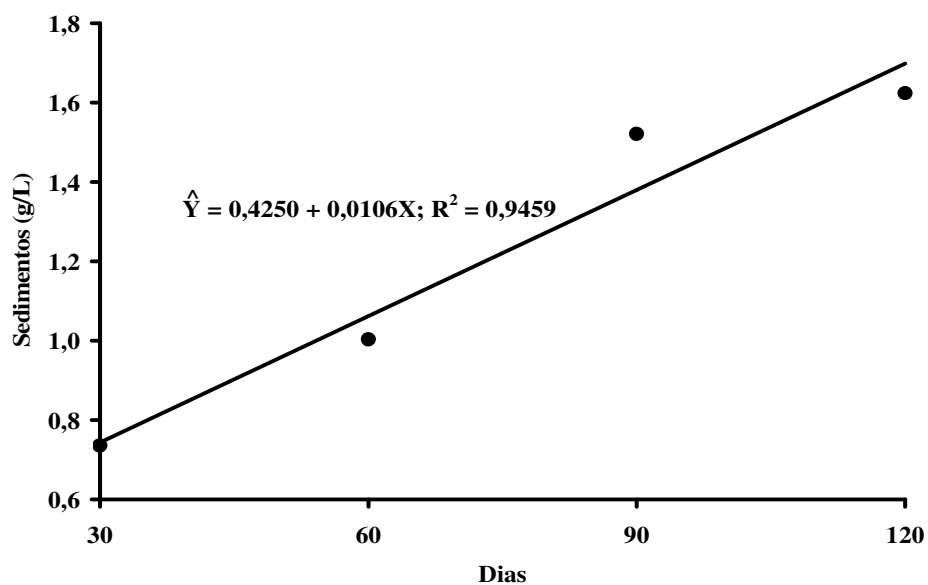


FIGURA 5. Modelo de regressão para a formação de massa de sedimentos em função do tempo, de leite UAT processado com leites com diferentes contagens de células somáticas.

Bonisch et al. (2004) trabalhando com leite de alta e baixa contagem de células somáticas, detectaram atividade residual de plasmina após o processamento UAT direto a 138°C por 2,4 segundos e subsequente estocagem a 20°C.

Neste estudo, o aumento da sedimentação ao longo do tempo de estocagem, provavelmente, foi ocasionado pelo aumento da atividade proteolítica no leite UAT devido ao rompimento das células somáticas durante o processamento UAT (no estágio de homogeneização do leite), liberando roteases das próprias células somáticas, bem como ativadores de plaminogênio.

O aumento da atividade proteolítica pode promover a desestabilização das caseínas, provocando a sedimentação no leite UAT.

4.5.2 Influência dos microrganismos psicrotróficos na massa de sedimentos

Os psicrotróficos são definidos com sendo microrganismos que podem crescer a 7°C ou menos, independente da temperatura ótima de crescimento. Essa contaminação é considerada o fator mais crítico que influencia a manutenção da qualidade do leite refrigerado e, por conseqüência, a qualidade dos produtos lácteos. Esses microrganismos estão amplamente distribuídos na natureza, podendo ser encontrados na água, no solo, nas plantas e nos animais. É necessário um programa de granelização com ações eficazes para evitar a contaminação do leite durante a produção, a estocagem em tanques de expansão, a coleta e o transporte a granel.

Com a entrada em vigor da Instrução Normativa 51, em 1º de julho de 2005 (Brasil, 2002), o tempo entre a coleta e a industrialização do leite nas indústrias não poderá ser superior a 48 horas, este é um fator de grande importância no controle do crescimento dos microrganismos psicrotróficos, visto que o tempo elevado de estocagem refrigerada aumenta a contagem de microrganismos psicrotróficos.

Os valores médios de sedimentação (Tabela 7) constatados neste estudo foram superiores aos obtidos por Neira (1986) e por Silva (2003). A diferença dos resultados obtidos pode estar relacionada com a contagem microbiológica mais elevada do leite cru utilizado neste estudo. Os valores de sedimentos constatados por Neira (1986) a 21°C apresentaram variação entre 0,3001 e 0,5570g/L e a 37°C, entre 0,3001 e 0,724g/L. Além disso, o mesmo autor observou que valores mais elevados de sedimentos foram constatados naquelas amostras coletadas em momentos prévios à limpeza do equipamento, durante o processamento do leite UAT. A análise de variância para os níveis de contagens de microrganismos psicrotróficos mostrou não serem eles significativos para a formação massa de sedimentos no leite UAT.

TABELA 7. Teor médio da massa de sedimentos (g/L) do leite UAT fabricado com leite cru, com três níveis de microrganismos psicrotróficos.

Nível	Massa de sedimentos do leite UAT (g/L)
Alta	1,4245 (0,188) a
Média	1,2335 (0,163) a
Baixa	1,0556 (0,163) a

Médias seguidas de mesma letra minúscula, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5% de significância.

A sedimentação, como pode ser observado no gráfico da Figura 6, possui um comportamento crescente ao longo do tempo de estocagem. Entretanto, não houve diferença estatística para os níveis de microrganismos psicrotróficos e a formação de sedimentos durante o tempo de estocagem. Os resultados demonstram que a qualidade microbiológica do leite cru influencia no aumento da sedimentação durante a estocagem, possivelmente devido à proteólise anterior ao tratamento térmico. Neira (1986) concluiu que a atividade proteolítica no leite após o processamento UAT pode ser atribuída, em 93,17%, pela atividade proteolítica anterior ao tratamento térmico.

Grande capacidade de produção de proteases, lipases e lecitinases do grupo de bactérias gram-negativas não fermentadoras de glicose, que inclui espécies do gênero *Pseudomonas*, na qual apresentaram grande atividade proteolítica residual após tratamento térmico a 100°C, por 30 segundos, foi relatada por Matioli (2005). Estes resultados indicam a importância do controle do crescimento de bactérias psicrotróficas proteolíticas produtoras de proteases termorresistentes antes do processamento do leite.

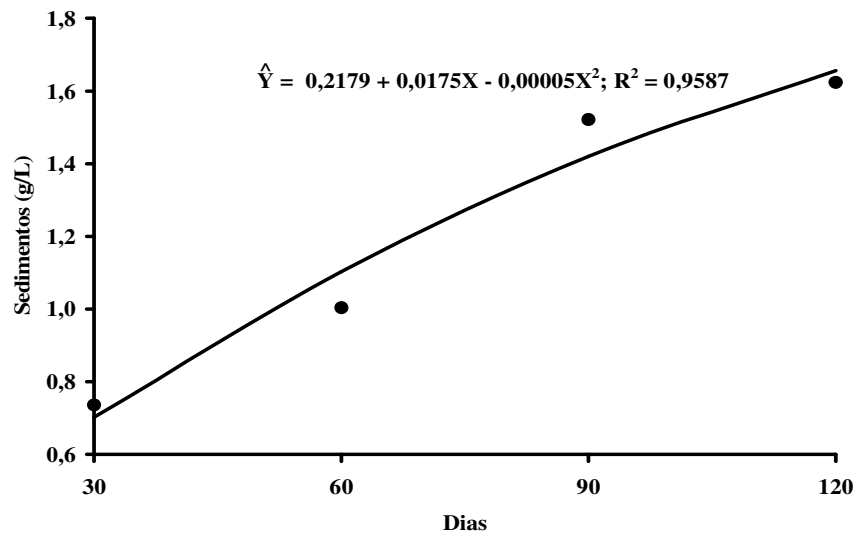


FIGURA 6. Modelo de regressão para a formação de massa de sedimentos em função do tempo, de leite UAT integral processado com leites com diferentes contagens de microrganismos psicrotróficos.

Estudos realizados por Silva (2003) concluíram que a contagem de microrganismos psicrotróficos correlacionou-se positivamente com o aumento de viscosidade do leite UAT, fator este que também foi encontrado neste trabalho.

É possível presumir que houve produção de enzimas proteolíticas termorresistentes pelas bactérias psicrotróficas, ocasionando proteólise durante a estocagem do leite UAT. A elevação da viscosidade observada é uma característica própria do processo de gelificação do leite UAT.

4.6 Viscosidade

Tem sido comum o aparecimento de alterações no leite UAT, como gelificação, sedimentação, coagulação parcial ou total. Estas alterações começaram a surgir principalmente pela interpretação errônea que o processo UAT corrigia todos os problemas anteriores da matéria-prima, principalmente os de ordem microbiológica, uma vez que promoveria a esterilização do produto. O aumento da viscosidade no leite UAT durante o tempo de estocagem é um dos principais indícios da gelificação. A gelificação no leite UAT é antecedida pela alteração da viscosidade e espessamento do produto, culminando na formação de gel, sem separação de soro, na maioria dos casos (Law, 1977).

4.6.1 Influência das células somáticas na viscosidade

Os resultados para viscosidade do leite UAT processado com três níveis de células somáticas estão apresentados no gráfico da Figura 7. Não houve diferenças estatísticas significativas ($P > 0,05$) para os níveis baixo e médio de contagens, entretanto para o nível alto de contagens de células somáticas houve diferença estatística em relação à viscosidade.

Kelly & Folley (1997) investigaram a proteólise no produto preparado com leite cru integral com baixa e alta contagem de células somáticas e encontraram que altos níveis de proteólise em leites UAT com alta contagem de células somáticas estão associados à gelificação precoce, possivelmente por meio da atividade da plasmina associada à célula somática.

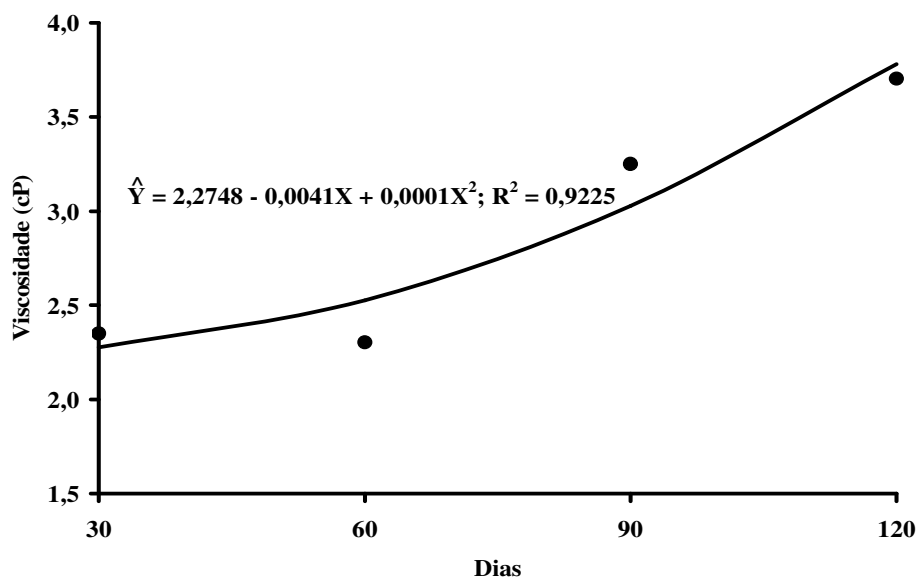


FIGURA 7. Evolução da viscosidade em função do tempo, de leite UAT integral processado com leites com diferentes contagens de células somáticas

Auldíst (1996) relacionou a contagem de células somáticas com a qualidade do leite UAT. Os leites contendo altos níveis de células somáticas (687.000 e 1.463.000 células/mL) também apresentam tendência de gelificar antes que os de baixas contagens.

Encontra-se no leite um zimógeno nomeado de plasminogênio que em condições normais, permanece inativo no leite. Entretanto, quando a contagem de células somáticas é elevada, essas células, com o intuito de destruir microrganismos, produzem uma substância ativadora deste zimógeno, conhecida como ativado de plasminogênio, gerando a plasmina, substância ativa e altamente proteolítica, principalmente sobre a beta caseína. Esta ação gera desestabilização da micela caseínica, levando à associação entre as micelas,

aumentando, por consequência, a viscosidade do leite e, dependendo de sua intensidade, causando o enorme problema o leite UAT, conhecido como gelificação.

Os valores encontrados para viscosidade foram superiores ao encontrados por Silva (2003), possivelmente devido a uma maior contagem de células somáticas encontradas neste estudo. Houve um aumento na viscosidade ao longo da validade do leite UAT, revelando a ocorrência do processo de gelificação e refletindo o fato de que a gelificação não é um processo imediato, pois a desestabilização protéica é um processo que exige, dentre outros fatores, um período de tempo relativamente longo para que ocorra. Esses resultados corroboram com a nova legislação brasileira (Brasil, 2002), que contém a contagem de células somáticas do leite cru como um de seus pontos mais importantes a serem considerados na produção de leite. Essa legislação estabelece, para o leite cru refrigerado na fazenda, para as regiões sul, sudeste e centro-oeste um máximo de um milhão de células somáticas até 2007, quanto esse número passará para setecentos e cinquenta mil de células somáticas. A observância desses números pelos serviços de inspeção trará grande tranquilidade aos processadores de leite UAT concernente ao problema da gelificação causado por células somáticas.

4.6.2 Influência dos microrganismos psicotróficos na viscosidade

A gelificação do leite UAT pode ser influenciada pela atividade de enzimas de origem microbiana, termorresistente, que degradam importantes constituintes (frações alfa, beta e kapa da caseína) ou produzem substâncias capazes de alterar o equilíbrio dos constituintes do leite. Entretanto, o processo UAT não desnatura a totalidade dessas enzimas. Existe o fenômeno denominado de “regeneração enzimática”, que é de extrema importância para o leite UAT.

Pelas suas características, essas indústrias trabalham com leite resfriado, que pode conter um grande número de psicrotróficos e, portanto, há uma grande possibilidade de possuir uma alta concentração de enzimas. Uma certa quantidade passa intacta para o leite. Junte-se a isso o fato de o leite permanecer por um longo período nos postos de venda antes de ser consumidos. Esse longo tempo dá oportunidade para que ocorra o processo de “regeneração enzimática” e as enzimas, agora ativas, atacam o leite (Abreu, 1999).

Houve um aumento da viscosidade durante o período de estocagem do leite UAT, conforme demonstrado no gráfico da Figura 8. Os valores encontrados foram superiores aos encontrados para viscosidade de células somáticas, indicando uma maior proteólise no leite UAT, possivelmente a ação de enzimas termorresistentes produzidas por microrganismos psicrotróficos. Silva (2003) encontrou correlação entre a contagem de microrganismos psicrotróficos e o aumento de viscosidade no leite UAT, levando-o a inferir que o desenvolvimento destes microrganismo levou à liberação de proteases, que deram início ao processo de gelificação.

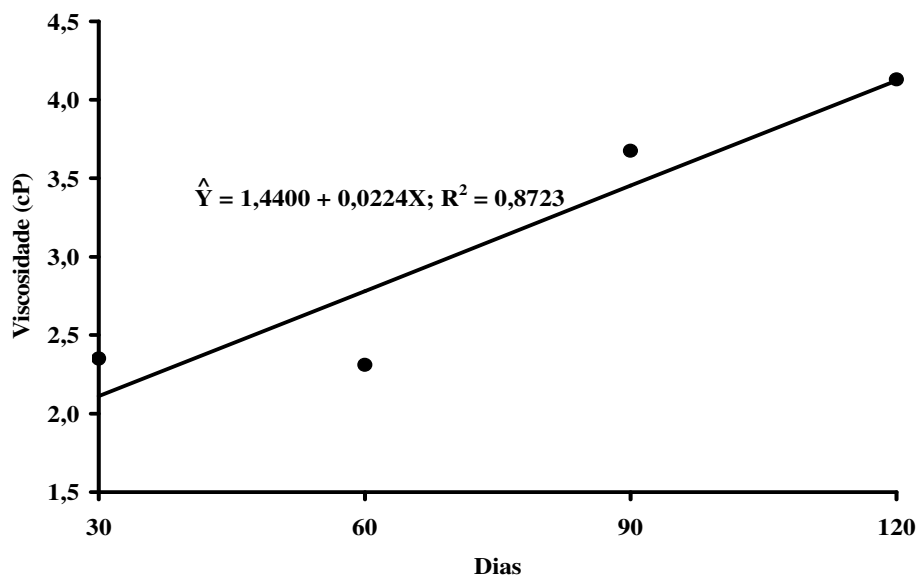


FIGURA 8. Evolução da viscosidade em função do tempo, de leite UAT integral processado com leites com diferentes contagens de microrganismos psicrotróficos

Sabe-se que a gelificação, que ocorre com produtos lácteos durante a sua vida de prateleira, pode ter dois mecanismos diferentes. Um deles é a degradação proteolítica da caseína, que torna as micelas susceptíveis à agregação. Assemelha-se ao que ocorre na coagulação do leite pela quimosina e outros agentes coagulantes, porque as proteinases, especialmente as bacterianas, resistem ao tratamento térmico, resultando na desestabilização das micelas e conseqüente coagulação do leite. O armazenamento do leite cru durante alguns dias a temperaturas baixas agrava o problema, pelo crescimento de psicrotróficos.

Os dados da Tabela 8 demonstram as médias de viscosidade do leite UAT integral, para os níveis estudados.

TABELA 8. Teor médio da viscosidade (g/L) do leite UAT fabricado com leite cru, com três níveis de microrganismos psicrotróficos.

Nível	Viscosidade no leite UAT (cP)
Alta	2,796 (0,138) b
Média	2,407 (0,119) ab
Baixa	2,291 (0,119) a

Médias seguidas de mesma letra minúscula, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5% de significância

A análise das médias, comparadas por meio do teste de Tukey, fornecem os resultados expressos na Tabela 8. A maior viscosidade foi para o leite com maior contagem de microrganismos psicrotróficos, quando comparado com os leites com médias e baixas contagens.

4.7 Teor de proteínas

O leite bovino contém vários compostos nitrogenados, dos quais aproximadamente 95% ocorrem como proteínas e 5% como compostos nitrogenados não protéicos. Em torno de 80% do nitrogênio protéico do leite constituem de nitrogênio caseínico e 20% de nitrogênio não caseínico (Walstra & Jenness, 1994, citados por Silva, (2003).

4.7.1 Influência das células somáticas no teor de proteínas

Há uma tendência de redução do teor de proteína à medida que se prolonga a estocagem do leite UAT, conforme demonstrado no gráfico da Figura 9. Houve, no trabalho, diferenças estatísticas significativas entre os níveis de

contagens de células somáticas alto e baixo em relação ao teor de proteínas durante a vida de prateleira do leite UAT integral. Os leites analisados apresentaram teores de proteínas aproximados aos encontrados por Silva (2003), que foram de 3,07g/100mL para o estado do Rio Grande do Sul, 3,15g/100mL para o estado de São Paulo e 3,24g/100mL para o estado de Goiás.

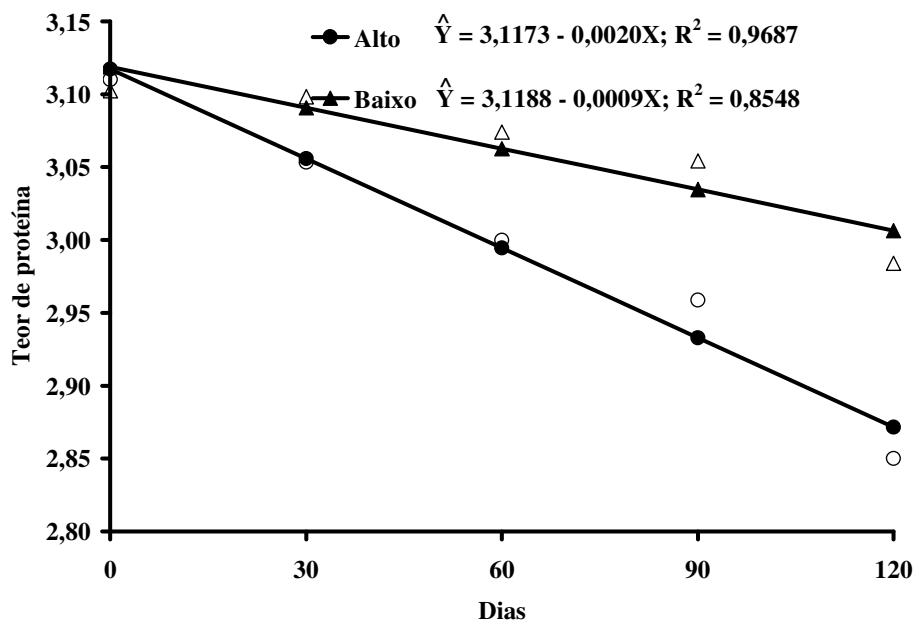


FIGURA 9. Evolução do teor de proteínas função do tempo, de leite UAT integral processado com leites com diferentes contagens células somáticas.

A redução do teor de proteínas para o nível alto de contagem de células somáticas foi mais severa em relação à redução do teor de proteína para o nível baixo, possivelmente por uma proteólise mais intensa, devido à maior contagem

de células, que liberaram proteases das próprias células somáticas, bem como ativadores de plaminogênio.

Com a diminuição do teor de proteínas e o aumento da massa de sedimentos observados neste estudo, pode-se inferir que houve migração das proteínas do leite UAT para a massa de sedimentos.

4.7.2 Influência dos microrganismos psicrotróficos no teor de proteínas

Os resultados referentes ao teor de proteínas do leite UAT, ao longo do período de estocagem (amostrado no ponto central da embalagem), em função dos números de bactérias psicrotróficas, encontram-se no gráfico da Figura 10. Independentemente da contagem dessas bactérias, os teores de proteínas decresceram linearmente até os quatro meses de armazenamento. Isso se deve à sedimentação protéica, a qual, com maior ou menor intensidade, acontece neste tipo de leite, independentemente de fatores acelerantes do processo. Com essa sedimentação, o “sobrenadante”, de onde a amostra foi coletada, terá, como consequência, diminuída a sua concentração protéica.

Houve diferenças estatísticas significativas entre os níveis de contagens de microrganismos psicrotróficos, alto e baixo, em relação ao teor de proteínas durante a vida de prateleira do leite UAT integral. Como descrito no item 4.6.2 as bactérias psicrotróficas produzem proteases que, mesmo parcialmente desnaturadas, no processo UAT podem, através das remanescentes ou pela regeneração, atuar sobre as proteínas, gerando peptídeos de tamanhos variáveis, os quais podem se associar com minerais do leite, fazendo com que o complexo se deposite na forma de sedimento no fundo da embalagem. Com isso, a parte acima deste sedimento terá seu teor de proteína diminuído, como foi comprovado pelos dados obtidos e representados no gráfico da Figura 6.

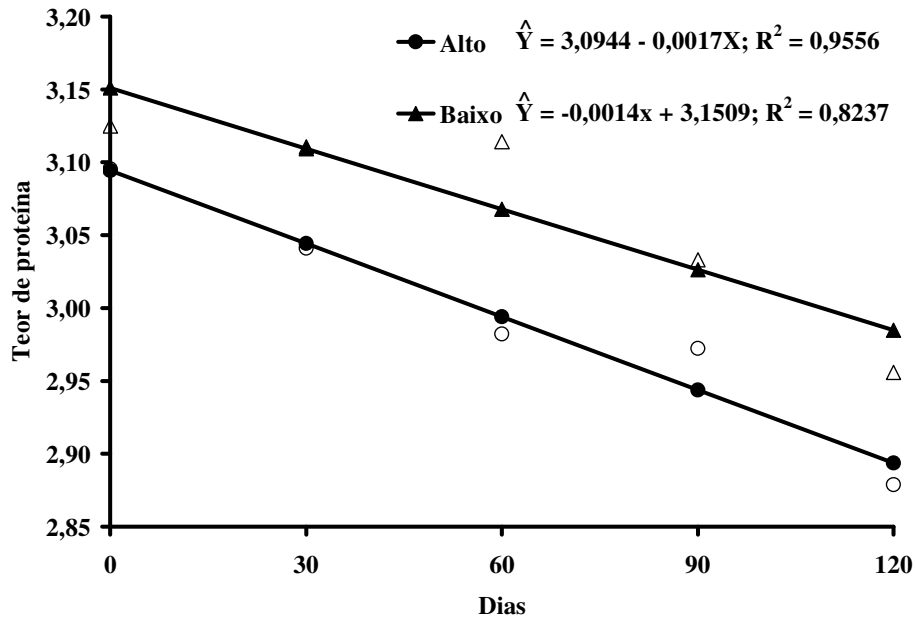


FIGURA 10. Evolução do teor de proteínas em função do tempo, de leite UAT integral processado com leites com diferentes contagens de microrganismos psicotróficos.

4.8 Estabilidade ao etanol

A estabilidade do leite ao etanol, também conhecida com prova do álcool, é umas das mais importantes análises físico-químicas na indústria de processamento do leite UAT. O teste fundamenta-se na similaridade observada entre instabilidade induzida pelo etanol e a instabilidade induzida pelo processamento UAT, sendo, por isso, uma análise seletiva da matéria-prima destinada ao processamento UAT, visto que a estabilidade das proteínas do leite durante o processamento é um fator importante para um maior tempo de produção com menores custos para indústria.

O leite cru destinado ao processamento UAT deve resistir no mínimo, ao etanol 76% (v/v) (Chavez, 2004).

4.8.1 Influência das células somáticas na estabilidade ao etanol

Não houve, no estudo, diferenças estatísticas significativas entre os níveis de contagens de células somáticas e a estabilidade do leite UAT ao etanol durante a estocagem. Entretanto, os resultados são compatíveis com os encontrados por Samuel et al. (1971) que, demonstraram que, com nove meses de estocagem, o valor do teste do álcool caiu de 96% (v/v) para 62% (v/v), evidenciando, assim, uma redução na estabilidade do leite UAT.

No gráfico da Figura 11, evidencia-se uma grande modificação na estabilidade do leite UAT ao etanol durante o tempo de estocagem. Os resultados obtidos no estudo foram semelhantes aos encontrados por Silva (2003), nos quais as regressões calculadas conduzem à interpretação de um aumento inicial da estabilidade ao etanol, atingindo o ápice em torno de 40 a 50 dias, reduzindo progressivamente até uma resistência alcoólica menor no final da estocagem em relação à resistência alcoólica inicial. Embora não exista relato na literatura (com exceção de Silva, 2003), poder-se-ia especular que o aumento inicial da estabilidade deve-se à solubilização gradativa dos componentes do leite em geral e dos sais em particular, destacando-se o citrato de sódio, ingrediente adicionado ao leite com o objetivo específico de estabilização. A queda desta estabilidade a partir de um certo período de estocagem deve-se à desestabilização sofrida principalmente pela caseína do leite, desestabilização a qual pode ocorrer naturalmente por desarranjos moleculares ou por aceleração desses por meio de proteases de psicrotróficos ou por plasmina gerada por ativadores de plasminogênio produzidos pelas células somáticas. Outro interferente a ser considerado na queda da estabilidade ao etanol é a diminuição

do pH do leite ao longo do período de estocagem como observado no gráfico da Figura 13.

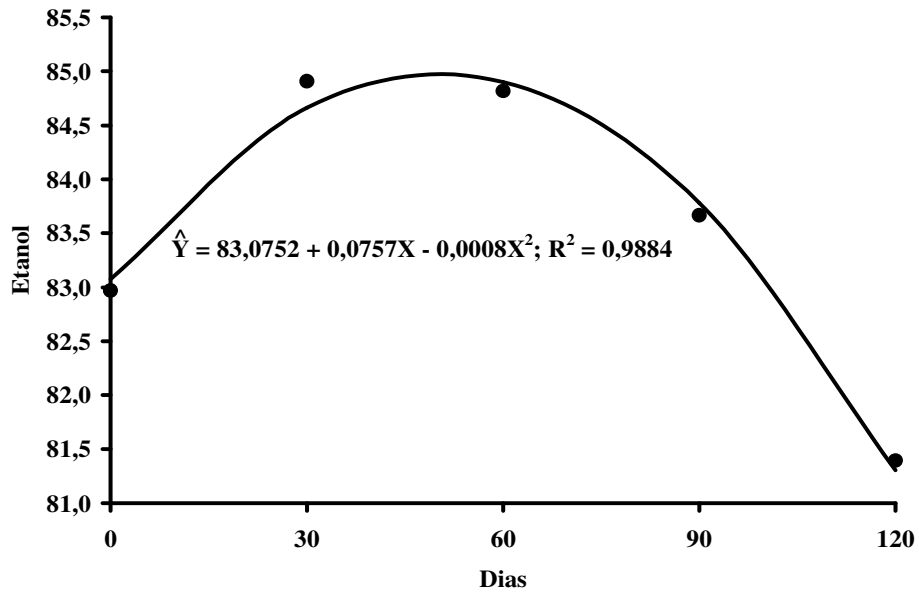


FIGURA 11. Evolução da estabilidade do leite UAT integral ao etanol em função do tempo processado com leites com diferentes contagens de células somáticas

4.8.2 Influência dos microrganismos psicrotóxicos na estabilidade ao etanol

Os dados apresentam uma grande alteração na estabilidade do leite UAT ao etanol durante o tempo de estocagem, semelhante à ocorrida nos leites com diferentes níveis de células somáticas

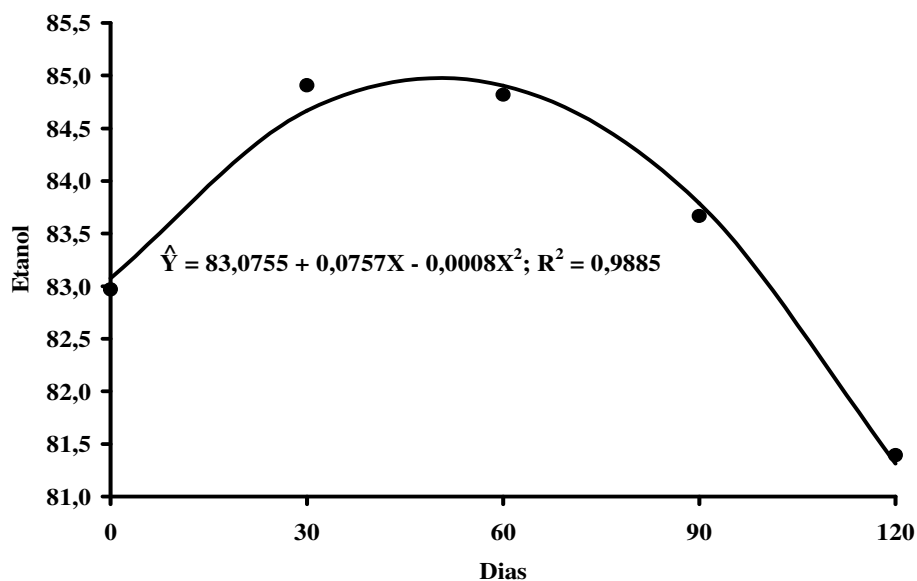


FIGURA 12. Evolução da estabilidade do leite UAT integral ao etanol em função do tempo processado com leites com diferentes contagens microrganismos psicrotóxicos.

4.9 pH

4.9.1 Influência das células somáticas no pH

O gráfico da Figura 13 demonstra que não houve diferença estatística para os valores de pH entre os diferentes níveis de células somáticas, mas, analisando-se a evolução do pH ao longo da estocagem do leite UAT, pode-se observar que o pH se reduz com o armazenamento. A diminuição do pH é consequência da liberação de prótons de hidrogênio, revelando instabilidade iônica que pode comprometer as propriedades do leite UAT. Esse decréscimo acontece, independente da contagem de células somáticas no leite, tendo já sido observado por diversos autores (Cheng, 1995; Vlieghe, 2005). Esse fato gera

problemas, como a diminuição da estabilidade do leite ao etanol, como observado no gráfico da Figura 11.

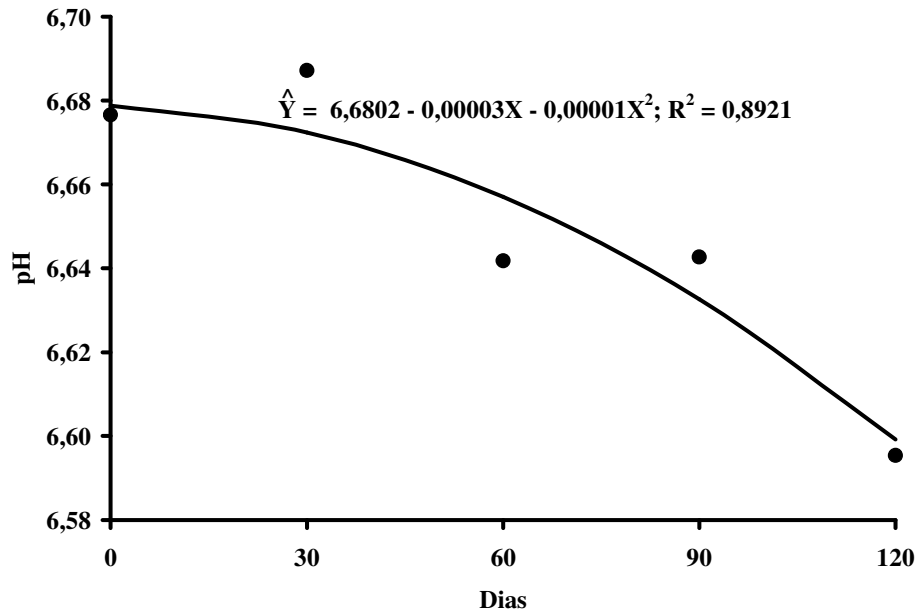


FIGURA 13. Evolução do pH, em função do tempo, de leite UAT processado com leites com diferentes contagens de células somáticas.

4.9.2 Influência dos microrganismos psicrotróficos no pH

Os dados referentes à evolução do pH em função da contagem de microrganismo psicrotróficos no leite cru, estão apresentados no gráfico da Figura 14. Sabidamente, as bactérias psicrotróficas na são produtoras de substâncias ácidas, não exercendo influência sobre o pH do leite. Conseqüentemente, a curva que representa o decréscimo do leite UAT no

período de estocagem está em função dos aspectos já mencionados no item 4.9.1.

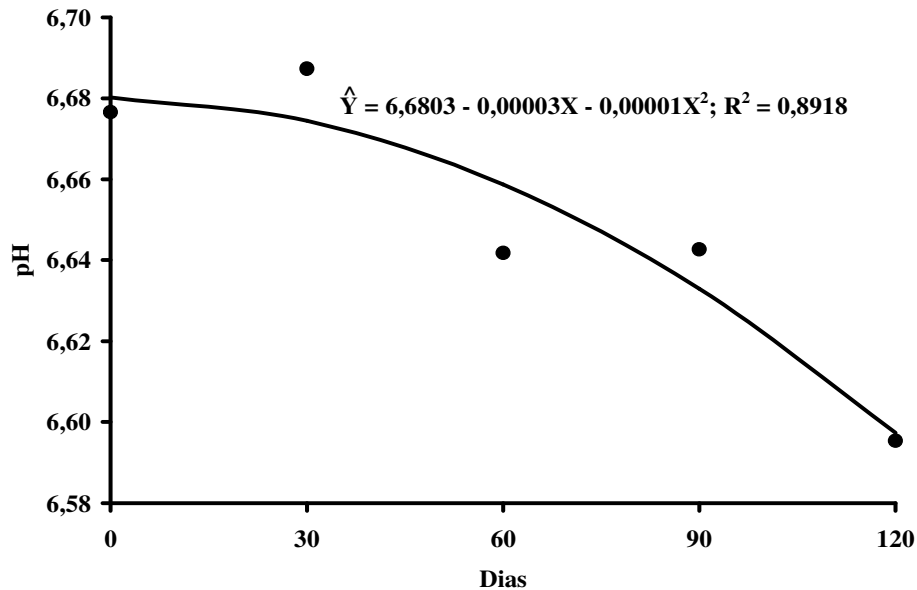


FIGURA 14. Evolução do pH, em função do tempo, de leite UAT processado com leites com diferentes contagens de microrganismos psicotróficos.

4.10 Contagem de microrganismos mesófilos aeróbios

A qualidade do leite cru esta intimamente relacionada com o grau de contaminação inicial e com o tempo e temperatura de armazenagem, desde a ordenha até o processamento. Portanto, a qualidade do leite UAT depende da qualidade microbiológica do leite cru, da higiene de utensílios e equipamentos, do estado sanitário dos animais e de boas práticas durante a ordenha, fundamentais para se evitar o desenvolvimento de microrganismos responsáveis

pela deterioração. A alta contagem de microrganismos mesófilos (Tabelas 9 e 10) encontrada nos leites pode, provavelmente, ser devido a aspectos higiênicos da produção de leite, pois ambos os grupos de microrganismos são contaminantes exógenos, tendo seu número intimamente relacionado com os aspectos de produção higiênica do leite.

TABELA 9. Contagem média de microrganismos mesófilos (UFC/mL) do leite cru com três níveis de células somáticas.

Nível	Contagem de microrganismos mesófilos do leite cru (UFC/ mL)
Alta	$1,0 \times 10^6$
Média	$7,2 \times 10^5$
Baixa	$8,5 \times 10^5$

TABELA 10. Contagem média de microrganismos mesófilos (UFC/mL) do leite cru com três níveis de microrganismos psicrotóxicos.

Nível	Contagem de microrganismos mesófilos do leite cru (UFC/ mL)
Alta	$1,0 \times 10^7$
Média	$2,2 \times 10^6$
Baixa	$9,0 \times 10^5$

Deve-se destacar a higienização do vasilhame, dos equipamentos de ordenha, do ambiente da ordenha, dos hábitos higiênicos do ordenhador, da água utilizada no sistema de ordenha e da limpeza de equipamentos e cuidados dispensados ao leite até o seu processamento.

4.10.1 Células somáticas

Os valores encontrados para contagem de microrganismos mesófilos se encontram acima dos padrões legais para leite cru refrigerado (Brasil, 2002), que é de $1,0 \times 10^6$ UFC/mL, revelando uma higienização deficiente nas fases de produção, estocagem, refrigeração e transporte do leite cru.

4.10.2 Microrganismos psicrotróficos

Dos valores encontrados, apenas o nível de baixa contagem de psicrotróficos obteve uma contagem de mesófilos dentro dos padrões legais da legislação brasileira (Brasil, 2002). Para os demais níveis de psicrotróficos, os valores obtidos superam a legislação brasileira.

A alta contagem de microrganismos mesófilos (Figura 10) encontrada no leite com altas contagens de microrganismos psicrotróficos pode, provavelmente, ser devido ao processo analítico, já que existe uma interposição das temperaturas de crescimento desses dois microrganismos, minimizada neste estudo com a utilização de temperatura de 7°C. A causa mais provável encontra explicação nos aspectos higiênicos da produção de leite, pois ambos os grupos de microrganismos são contaminantes exógenos tendo seu número intimamente relacionado com os aspectos de produção higiênica do leite.

5 CONCLUSÕES

Com base nas condições trabalhadas e de acordo com os resultados obtidos, pôde-se concluir que:

- houve gradual elevação nos valores de sedimentação das amostras de leite UAT integral ao longo da vida de prateleira, com influência da contagem de células somáticas e dos microrganismos psicrotróficos;
- a formação de sedimentos foi maior para o leite com alta contagem de células somáticas, evidenciando o efeito deste sobre a sedimentação;
- os teores de proteína diminuíram à medida que ocorreu aumento da sedimentação ao longo da vida de prateleira do leite UAT, sugerindo deposição de proteínas no sedimento;
- a alta contagem de células somáticas e de microrganismos psicrotróficos, quando comparada com baixas contagens, foram fatores que influenciaram fortemente a diminuição do teor de proteínas do leite UAT ao longo da sua vida de prateleira;
- os níveis de células somáticas e de microrganismos psicrotróficos não influenciaram na intensidade da formação de sedimentos no leite UAT integral ao longo da sua vida de prateleira;
- a contagem de microrganismos psicrotróficos e células somáticas, ambas no leite cru, influenciou decisivamente no aumento da viscosidade (gelificação) no leite UAT;
- houve um acréscimo inicial da estabilidade do leite UAT ao etanol, seguido de um decréscimo progressivo, resultando em uma menor estabilidade ao final da vida de prateleira;

- não houve diferença nas características físico-químicas no leite cru processado com três níveis de células somáticas ou microrganismos psicotróficos;
- houve um decréscimo do pH durante ao longo da vida de prateleira do leite UAT integral;
- os níveis de células somáticas e de microrganismos psicotróficos não influenciaram na intensidade da gelificação no leite UAT integral ao longo da sua vida de prateleira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE LONGA VIDA - ABLV. **Estatísticas**. Disponível em: <<http://www.ablv.org.br/>>. Acesso em: 03 dez. 2004.

ABREU, L. R. **Tecnologia de leite e derivados**. Lavras, 1999. 215 p. (Curso de Pós-Graduação `Lato Sensu` (Especialização) a distancia. Processamento e Controle de Qualidade em Carne, Leite, Ovos e Pescado).

AULDIST, M. J.; COATS, S. J.; SUTHERLAND, B. J.; HARDHAM, J. F.; MCDOWELL, G. H; ROGERS, G. L. Effect of somatic cell count and stage of lactation on the quality ad storage life of ultra high temperature milk. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 63, n. 3, p. 377-386, Aug. 1996.

BARRY, J. G.; DONNELLY, W. J. Casein compositional studies. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 48, n. 3, p. 437- 446, Oct. 1981.

BASTIAN, E. D.; BROWN, R. J. Plasmin in milk and dairy products: an update. **International Dairy Journal**, Oxford, v. 6, n. 5, p. 435-457, May 1996.

BASTOS, M. S. R. Leite Longa Vida UHT: Aspectos do processamento e identificação dos pontos críticos de controle. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 66-67, p. 32, nov./dez. 1999.

BIZARI, P. A. **Eficiência da contagem microscópica na avaliação da qualidade pregressa da matéria-prima utilizada no processamento do leite UAT (Ultra Alta Temperatura)**. 2002. 54 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

BONISCH, M.; LAUBER, S.; UKULOZIK, U. Effect of ultra-high temperature treatment on the enzymatic cross-linking of micellar casein and sodium caseinate by transglutaminase. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 69, n. 8, p. 398-404, Oct. 2004.

BRANLEY, A. J. Mastitis. In: ANDREW, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. (Ed.). **Bovine medicine: diseases and husbandry of cattle**. Oxford: Blackwell Scientific, 1992. cap. 21, p. 289-300.

BRANLEY, A. J. **Mastitis: physiology or pathology?** **Flemish Veterinary Journal**, Ghent, v. 62, p. 3-11, 1991. Supplement, 1.

BRASIL. Ministério de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 51, de 18 de setembro de 2002. Regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru refrigerado. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, n. 172, p. 13-22, 20 set. 2002. Seção I.

BRASIL. Ministério de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 370, de 4 de setembro de 1997. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade do leite UHT (UAT). **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, n. 172, 8 set. 1997. Seção I.

BRASIL. Ministério de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa SDA N 22, de 14 de Abril de 2003. **Métodos Analíticos Oficiais Físico-químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos**. Brasília, 2003. 115 p.

CARVALHO, E. P. **Microbiologia de alimentos**. Lavras, 2001. 128 p. (Curso de Pós Graduação `Lato Sensu` (Especialização) a distância. Processamento e Controle de Qualidade em Carne, Leite, Ovos e Pescado).

CAUVIN, E.; SACCHI, P.; RASERO, R.; TURI, R.M. Proteolytic activity during storage of UHT milk. **Industrie Alimentari**, Pinerolo, v. 38, n. 383, p. 825-829, July/Aug. 1999.

CHAVEZ, M. S.; NEGRI, L. M.; TAVERNA M. A. Bovine milk composition parameters affecting the ethanol stability; **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 71, n. 2, p. 201-206, May 2004.

CHENG, C-M.; DOYLE, M. P.; LUCHANSKY, J. B. Identification of *Pseudomonas fluorescens* strains isolated from raw pork and chicken that produce siderophores antagonistic towards foodborne pathogens. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 58, n. 12, p. 1340-1344, Dec. 1995.

COLLINS, E. B. Heat resistant psychrotrophic microorganisms. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 64, n. 1, p. 157-160, Jan. 1981.

CORRADINI, C; PECIS, P. P. Proteolytic activity in UHT-sterilized milk. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 46, n. 2, p. 227-229, Apr. 1979.

CROMIE, S. Psychrotrophs and their enzyme residues in cheese milk. **Australian Journal of Dairy Technology**, Victoria, v. 47, n. 2, p. 96-100, Nov. 1992.

DE RHAM, O.; ANDREWS, A. T. Qualitative and quantitative determination of proteolysis in mastitic milks. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 49, p. 587-596, 1982.

ENRIGHT, E.; BLAND, A. P.; NEEDS, E. C.; KELLY, A. L. Proteolysis and physicochemical changes in milk on storage as affected by UHT treatment, plasmin activity and KIO₃ addition. **International Dairy Journal**, Oxford, v. 9, n. 9, p. 581-591, Sept. 1999.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Determination of milkfat, protein and lactose content**. Guide for the operation of mid-infra-red instruments. Brussels, 1996. 12 p. (International Standard, 141B).

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Enumeration of somatic cells**. Brussels, 1995. 8 p. (International Standard, 148A).

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Milk and milk products – Methods of sampling**. Brussels, 1985. 19 p. (International Standard, 50B:1985).

IOANNIS, P.; IOSIF B.; TSIARAS, A.; BALDI, A. Effect of vitamin E supplementation on neutrophil function, milk composition and plasmin activity in dairy cows in a commercial herd, **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 71, n. 3, p. 273-278, Aug. 2004.

KELLY, A. L.; FOLEY, J. Proteolysis and storage stability of UHT milk as influenced by milk plasmin activity, plasmin/beta-globulin complexation, plasminogen activation and somatic cell count. **International Dairy Journal**, Oxford, v. 7, n. 6/7, p. 411-420, June/July 1997.

KOHLMANN, K. L.; NIELSEN, S. S.; LADISCH, M. R. Effects of a low concentration of added plasmin on ultra high temperature processed milk. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 4, p. 1151-1156, Apr. 1991.

KORYCKA- DAHL, M.; RIBADEAU DUMAS, B.; CHENE, N. Plasmin activity in milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 66, n. 4, p. 704- 711, Apr. 1983.

LARANJA DA FONSECA, L. F.; SANTOS, M. V. **A qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175 p.

LAW, B. A.; ANDREWS, A. T.; SHARPE, A. E. Gelation fo ultra-high-temperature-sterilized milk by proteases from a strain of *Pseudomonas fluorescens* isolated from raw milk. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 44, n. 1, p. 145-148, Jan. 1977.

LAW, B. A. Review of the progress of dairy science: enzymes of psychrotrophic bactéria and their effects on milk and milk products. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 46, p. 573-588, 1979.

MACHADO, P. F.; PEREIRA, A. R.; SARRIÉS, G. A. Efeitos da contagem de células somáticas na qualidade do leite e a atual situação de rebanhos brasileiros. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 54, n. 309, p. 10-16, ago. 1999.

MARSHALL, D. L. SCHMIDT, R. T.; Growth of *listeria monocytogenes* at 10°C un milk freincolate with selected *pseudomonads*. **Journal of food Protection**, Ames, v. 51, n. 4, p. 227- 282, Apr. 1998.

MARSHALL, R. T. **Standard methods for the examination of dairy products**. 16. ed. Washington: American Public Health Association, 1992. 416 p.

MATIOLI, G. P. **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.

MEHRZAD, J.; DESROSIERS, P.; LAUZON, K. Proteases involved in mammary tissue damage during endotoxin-induced mastitis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, n. 1, p. 211-222, Jan. 2005.

MOTTAR, J. Heat resistant enzyme in UHT milk and influence on sensoric changes during incooled storage. **Milchwissenschaft**, Munich, v. 36, n. 2, p. 87-91, 1981.

MUIR, D. D. The shelf life of dairy products : 1 factors influencing raw milk in fresh products. **Journal of the Society of Dairy Technology**, Wembley, v. 49, n. 2, p. 245-32, 1986.

NASCIF JUNIOR, I. A. **Diagnostico da mastite subclínica bovina pela condutividade elétrica do leite, CMT e contagem de células somáticas: influencias das estações do ano, fases de lactação e ordenhas da manhã e da tarde**. 2001. 60 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

NEIRA, M. R. P. **Efecto de la actividad de proteasas sobre la estabilidad de leches uht durante su almacenamiento**. 1986. 163 p. Tese (Mestrado) - Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

PEREIRA, D. B. C.; OLIVEIRA, L. L.; COSTA JÚNIOR, L. C. G.; SILVA, P. H. F. da. **Físico-química do leite e derivados – métodos analíticos**. 2. ed. Juiz de Fora: Oficina de Impressão Gráfica e Editora, 2000. 190 p.

PICARD, C.; PLARD, I.; COLLIN, J. C. Application of the inhibition ELISA method to the study of proteolysis caused by heat-resistant Pseudomonas proteinases specific towards kappa-casein in heated milk. **Milchwissenschaft**, Munich, v. 51, n. 8, p. 438-442, Aug. 1996.

PRATA, L. F. Leite UHT: Solução ou problema? Uma análise da situação. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 12, n. 54, p. 10-15, mar./abr. 1997.

PRATA, L. F. **Fundamentos de Ciência do Leite**, (Práticas). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP-Câmpus de Jaboticabal. 2001.

RABELO, R. N. **Avaliação Retroativa da Qualidade Microbiológica da Matéria-prima utilizada em Leite UHT Comerciais.** 2003. 76 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

RAMOS e SILVA, E. O T. **Leite Longa Vida, avaliação de alguns parâmetros de qualidade do leite Cru e processado.** 2001. 140 p. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada á Zoonoses) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, São Paulo.

RENEAU, J. K. Effective use of dairy herd improvement somatic cell count in mastitis control. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 69, n. 6, p. 1708-1720, June 1986.

RENEAU, J. K.; PACKAR. D. V. S., Monitoring Mastitis, milk quality and economic losses in dairy fields. **Dairy Food and Environmental Sanitation**, Ames, v. 11, n. 1, p. 4-11, Jan. 1991.

RICHARDSON, B. C. The proteinases of bovine milk and the effect of pasteurization on their activity New Zealand. **Journal of Dairy Science and Technology**, Palmerston North, v. 18, n. 3, p. 233-245, 1983.

SAMUEL, R.; WEAVER, W. V.; GAMMACK, D. B. Changes on storage in milk processed by ultra-high-temperature sterilization. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 38, n. 3, p. 323-332, Oct. 1971.

SANTOS, E. S.; CARVALHO, E. P.; ABREU, L. R.; Psicrótricos: conseqüências de sua presença em leites e queijos. **Boletim Sociedade Brasileira Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 33, n. 22, p. 129-138, jul./dez. 1999.

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

SCHULTZ, R. Sistema Tetra Brik asséptico na conservação de alimentos longa vida. In: SEMINÁRIO EM SISTEMAS UHT PRODUTOS E TECNOLOGIA, 1990, Campinas. **Anais...** Campinas: ITAL, 1990. p 1-14.

SILVA, P. H. F. **Leite UHT: fatores determinantes para sedimentação de gelificação.** 2003. 162 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SORHAUG, T.; STEPANIAK, L. Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: quality aspects. **Trends in Food Science & Technology**, Oxford, v. 8, n. 2, p. 35-41, Feb. 1997.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **SAS user's guide.** Statistical edition. Cary: SAS institute, 1991. 745 p.

SUAREZ, J. E.; RODRIGUEZ, R. I.; CARTLEDEG, F. M. Effect of raw milk quality on ultra high temperature processed milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 68, n. 1, p. 28-79, Jan. 1985.

SUDINIK, M. P. Assessment of the likely positive effects resulting from the introduction of UHT milk processing the central and east European dairy industry. **International Dairy Federation**, Brussels, n. 325, p 134-138 1994.

TETRA PAK. **Dairy processing handbook.** Lund, Sweden, 1996. 1CD-ROM.

VASCONCELOS, C. G. C. **Estudo da variação do teor de cloretos e do número de células somáticas no leite bovino oriundo de quartos sadios, durante os diferentes meses do período de lactação, estações do ano e ordenha da manhã e da tarde.** 1996. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

VERT, R. T.; BARDANO, D. M. Properties of proteases from milk somatic cells and blood leucocytes. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 7, p. 2077-2081, July 1991.

VLIEGHER, S.; BARKEMA, F. W.; STRYHN, H. Impact of early lactation somatic cell count in heifers on milk yield over the first lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, n. 3, p. 938-947, Mar. 2005.

WALSTRA, P.; JENNESS, R. **Química y física lactológica.** Zaragoza: Editorial Acribia, 1984. 423 p.

ZEHETNER, G.; BEREUTHER, C.; HENLE, T. Inactivation of endogenous enzymes during heat treatment of milk. **Netherlands Milk and Dairy Journal**, Wageningen, v. 50, n. 2, p. 215-226, 1996.