



**QUALIDADE DO LEITE DE BÚFALA E
DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA COM
DIFERENTES NÍVEIS DE IOGURTE E SORO DE
QUEIJO**

LUCIANA ALBUQUERQUE CALDEIRA ROCHA

2008

Luciana Albuquerque Caldeira Rocha

**QUALIDADE DO LEITE DE BÚFALA E DESENVOLVIMENTO DE
BEBIDA LÁCTEA COM DIFERENTES NÍVEIS DE IOGURTE
E SORO DE QUEIJO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação de Mestrado em Engenharia de Alimentos, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora: Sibelli Passini Barbosa Ferrão

Co-orientador: Joel Camilo Souza Carneiro

Co-orientador: Sérgio Augusto de Albuquerque Fernandes

ITAPETINGA
BAHIA - BRASIL
2008

*Ao Vicente,
pelo amor, incentivo
e compreensão dos
momentos ausentes*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Á *Deus* que guiou meus passos em mais uma etapa da vida.

Aos meus *Pais e Irmãos* que me deram forças, incondicionalmente.

Á professora *Dr.^a Sibelli Pasüni Barbosa Ferrão* pela orientação oportuna, exemplo profissional, amizade e pelo bom convívio nestes últimos anos.

Ao professor *Dr. Sérgio Fernandes*, grande incentivador deste trabalho.

A *Aninha e Jayse* pela dedicação e apoio, por terem sido e por serem, antes de tudo, grandes amigas.

A *Neomara, Amanda, Ludmila, Fatu, Léo, Barretinho, Carol, Marccone, Daiane e Taiane* pela disponibilidade e ajuda nas colheitas, processamentos, análises, sendo única e insubstituível a contribuição de cada um.

Aos funcionários da *Fazenda Divisão* e ao proprietário *Max* que permitiu a realização das colheitas.

A *Viviane* pelo intermédio na concessão do leite de búfala e em especial ao *Laticínio Rocha e Laticínio Pitty*.

A Vale Dourado na pessoa de *Josué* pelo apoio na realização das análises do leite.

A *Ellen* que colaborou de forma fundamental para a realização das análises de viscosidade e cor.

Ao *Laboratório de Nutrição e Crescimento* (ESALQ/USP), em especial a *Juca* pela disponibilidade nas análises de cromatografia.

A *Ingrid* pelas análises microbiológicas.

Aos *provadores*, que pacientemente se dispuseram a realizar as análises sensoriais.

Aos *colegas de mestrado* pelo apoio, amizade e bons momentos de descontração.

Aos *professores* do Programa de Pós Graduação pelos ensinamentos.

Aos funcionários *Bárbara, Sr. Raimundo, Aristides, Lu e Dona Elza*.

Ao *Grupo de Estudos em Leite* (GEL).

Aos Professores *Dr. Marcelo Rezende de Souza e Alexilda Oliveira de Souza* que gentilmente aceitaram participar e colaborar com este trabalho fazendo parte da banca.

A *UESB* pela concessão de bolsa de estudo.

A todos aqueles que contribuíram de alguma forma para concretização deste trabalho, minha profunda gratidão. Pessoas que permitiram iniciar, continuar e finalmente, terminar um trabalho que considero uma vitória.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas e composição do leite de búfala produzido em diferentes fases de lactação	34
Tabela 2 - Perfil de ácidos graxos do leite de búfala produzido em diferentes fases de lactação	38
Tabela 3 - Índices de qualidade nutricional da fração lipídica do leite de búfalas produzidos em diferentes fases de lactação	42
Tabela 4 - Valores médios e desvio padrão da contagem de células somáticas e contagem bacteriana total do leite de búfalas em diferentes fases de lactação	43
Tabela 5 - Distribuição da contagem de células somáticas (mL) de 76 amostras de leite de búfalas nos estágios inicial e final da lactação	45
Tabela 6 - Distribuição da contagem bacteriana total (UFC/mL) de 76 amostras de leite de búfalas nos estágios inicial e final da lactação	45
Tabela 7 - Formulações da bebida láctea com diferentes proporções de iogurte e soro lácteo	58
Tabela 8 - Propriedades físico-químicas e composição do leite de búfala utilizado na elaboração da bebida láctea	62
Tabela 9 - Propriedades físico-químicas e composição do soro de queijo de búfalas utilizado na elaboração da bebida láctea	63
Tabela 10 -Médias, coeficientes de variação (CV), coeficientes de determinação (R^2) e equações de regressão ajustadas para pH, acidez, gordura, proteína, viscosidade, L^* , a^* , b^* e atividade de água (A_w), em função dos níveis de soro na bebida láctea	65
Tabela 11 - Médias das análises microbiológicas das formulações das bebidas lácteas produzidas com leite de búfalas	71
Tabela 12 - Valores médios dos atributos impressão global, aparência, consistência e sabor das bebidas lácteas elaboradas com leite de búfala, obtidos pelo Teste de Aceitação	72
Tabela 13 - Diferenças de soma de ordens entre os tratamentos T1 (10% de soro), T2 (20% de soro), T3 (30% de soro), T4 (40% de soro) e T5 (50% de soro) quanto à preferência dos julgadores obtidas pelo Teste de Ordenação da Preferência	73

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- Ficha de avaliação empregada na análise sensorial pelo teste de aceitação ordenação da preferência	61
FIGURA 2- Variação do pH e acidez (ácido láctico, %) de acordo com os níveis de soro das bebidas lácteas elaboradas com leite de búfala	66
FIGURA 3- Variação dos teores de gordura e proteína de acordo com os níveis de soro das bebida lácteas produzidas com leite de búfala	67
FIGURA 4- Variação da viscosidade de acordo com os níveis de soro das bebida lácteas elaboradas com leite de búfala	69
FIGURA 5- Variação dos parâmetros luminosidade (L^*) e coordenadas de cromaticidade (a^* e b^*) de acordo com os níveis de soro das bebida lácteas elaboradas com leite de búfala	70
FIGURA 6 - Respostas dos provadores em relação ao Teste de Ordenação da Preferência da bebida láctea elaborada com leite de búfala; 1 = T1 (10% de soro); 2 = T2 (20% de soro); 3 = T3 (30% de soro); 4 = T4 (40% de soro); 5 = T5 (50% de soro)	74

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	8
2- REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1- Características do leite de búfala	10
2.1.1- Composição e propriedades físico-químicas do leite de búfala	10
2.1.2- Perfil de ácidos graxos	12
2.1.3- Características microbiológicas	14
2.1.4- Células somáticas	16
2.2- Características gerais do iogurte	17
2.3- Bebida láctea	19
2.4- Soro lácteo	19
2.8- Análise sensorial	21
3- REFERÊNCIAS	22
CAPÍTULO I – Caracterização físico-química, microbiológica e contagem de células somáticas do leite de búfala nas fases inicial e final de lactação	
RESUMO	27
ABSTRACT	28
1-INTRODUÇÃO	29
2-MATERIAL E MÉTODOS	31
3-RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4-CONCLUSÃO	47
5- REFERÊNCIAS	48
CAPÍTULO II – Desenvolvimento de bebida láctea com diferentes níveis de iogurte e soro de queijo	
RESUMO	53
ABSTRACT	54
1-INTRODUÇÃO	55
2--MATERIAL E MÉTODOS	57
3-RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
4-CONCLUSÃO	75
5- REFERÊNCIAS	76

1-INTRODUÇÃO

No Brasil, o grande interesse pela criação de búfalos (*Bubalus bubalis*) verificado nos últimos anos tem determinado maior produção e conseqüente utilização do leite desta espécie na alimentação humana. Desde a década de 90, foi observada expansão significativa na produção de leite de búfalas e seus derivados, determinando um crescimento efetivo em várias regiões, notando-se o mesmo comportamento no estado da Bahia. A produção de leite bubalino no Brasil é de aproximadamente 92,3 milhões de litros por ano, a indústria processa por volta de 45 milhões de quilos desse leite, gerando uma produção de 18,5 mil toneladas de produtos lácteos (BERNARDES, 2007).

O leite de búfala apresenta características muito próprias que permitem sua fácil identificação sob o ponto de vista físico-químico e sensorial. Seu sabor é peculiar, ligeiramente adocicado e é sempre muito mais branco quando comparado ao leite bovino devido à ausência quase que total de beta-caroteno, pró-vitamina A, em sua gordura. Também, pode-se destacar acentuada diferença em relação ao leite bovino devida à presença de maior porcentagem de seus constituintes, principalmente gordura e proteína, os quais são responsáveis pelas características físicas de estrutura, cor e sabor do leite e seus derivados (BENEVIDES, 1998).

A gordura do leite é uma mistura de vários tipos de triacilglicerídeos, que contém cerca de 400 ácidos graxos diferentes, contudo, várias discussões foram levantadas quanto ao valor desse componente em relação à saúde. Ela tem sido vista como prejudicial por conter quantidades razoáveis de colesterol e ácidos graxos saturados, principalmente os ácidos láurico, mirístico e palmítico. Contudo, diversos trabalhos têm evidenciado que este é um assunto muito complexo e que na atualidade, maiores concentrações de frações de gordura apresentam efeito relacionado diretamente à prevenção de diversas enfermidades de forte potencial de acometimento à saúde humana (NRC, 1996).

A utilização do leite de búfala na preparação de derivados tem sido pesquisada em diferentes regiões do mundo, destacando-se alguns tipos de queijos, iogurte e outros leites fermentados. Aliada a essa realidade, a produção de um dos principais derivados desse leite, a *mozzarella*, implica na geração direta de elevados volumes de soro. Dentre as várias formas de utilização do soro de queijo na indústria de laticínios, está a formulação de novos produtos, a partir de sua aplicação na forma líquida, como por exemplo, a bebida láctea (OLIVEIRA, 2006). O termo bebidas lácteas à base de soro tem sentido amplo e pode englobar uma série de produtos. Uma possível

elaboração baseia-se na mistura de iogurte e soro em proporções adequadas, seguida da adição de ingredientes como: aromatizantes, corantes, edulcorantes, polpa de frutas e outros, de acordo com o interesse da indústria (SIVIERI, 2002).

Tradicionalmente, o iogurte produzido no Brasil é elaborado a partir do leite bovino e, para sua produção, normalmente é necessário o aumento dos sólidos não gordurosos, para obtenção de melhor viscosidade, textura e aparência no produto. No entanto, o iogurte elaborado a partir do leite de búfala não necessita dessas adições em virtude dos maiores conteúdos de sólidos totais e sólidos desengordurados.

Apesar de suas qualidades, o leite bubalino e seus derivados apresentam-se ainda com pouca significância no mercado, e escassa é a literatura no que se refere à caracterização, processamento, qualidade microbiológica e aceitação destes produtos. Além disso, a identificação dos fatores, como a fase de lactação, que afetam os componentes do leite, são pontos estratégicos que servem como ponto inicial para elaboração de políticas públicas, melhoria da qualidade do leite e seus derivados, permitindo, assim, ganhos de produtividade na cadeia e a oferta de alimentos seguros à população.

Objetivou-se, com este trabalho avaliar a influência do estágio inicial e final de lactação sobre a composição físico-química, Unidade Formadora de Colônias (UFC) e Contagem de Células Somáticas (CCS), avaliar as diferenças relacionadas ao perfil de ácidos graxos e qualidade nutricional da fração lipídica do leite de búfala além de determinar as características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais de bebidas lácteas elaboradas com diferentes níveis de iogurte e soro.

2-REVISÃO DE LITERATURA

2.1- Características do leite de búfala

2.1.1- Composição e propriedades físico-químicas

No Brasil, entende-se por leite sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta em condições de higiene de fêmeas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2002).

Sendo o leite um produto de alta complexidade, fica difícil estabelecer uma definição única e precisa. Do ponto de vista fisiológico, Abreu (1998) define o leite como produto da secreção da glândula mamária das fêmeas mamíferas, logo após o parto com a finalidade de alimentar o recém nascido na sua primeira fase de vida. Já do ponto de vista físico-químico, leite é uma emulsão natural e perfeita na qual os glóbulos de gordura estão mantidos em suspensão, em um líquido salino açucarado, graças a substâncias protéicas e minerais em estado coloidal.

Alguns componentes do leite, como as proteínas e os ácidos graxos, originam-se, em pequena parte, do plasma sangüíneo em condição pré-formada, sendo a maior proporção sintetizada na glândula mamária, a partir de precursores. As vitaminas e os minerais são obtidos diretamente do plasma sangüíneo, enquanto a lactose é sintetizada exclusivamente na glândula mamária (WALSTRA *et al.*, 2001).

O leite de búfala possui coloração branca-opaca, sabor adocicado, maiores teores de proteína, gordura e minerais como cálcio e fósforo em relação ao leite bovino. Segundo Mesquita *et al.* (2001), algumas características fazem desse leite um produto típico e diferente quando comparado com leites de outras espécies. Ele apresenta micelas de caseína grandes, proporcionando rápida coagulação no processamento, com menos água e, conseqüentemente, produtos de corpo firme; sua gordura é constituída de glóbulos maiores e de coloração clara; os ácidos capríco, caprílico e cáprico são encontrados em menor quantidade e, quando liberados nos derivados lácteos, contribuem com o sabor e aroma característicos. Além disso, a hidrólise durante a maturação dos seus derivados é mais lenta, no que se refere às atividades lipolíticas e proteolíticas.

A composição do leite apresenta variação normal, que é influenciada por diversos fatores: ambientais, genéticos e fisiológicos (AULDIST *et al.*, 1998). Considerando o estágio de lactação, o colostro, produzido nos primeiros dias pós-parto, apresenta sua composição diferenciada. No início da lactação, o colostro é

excepcionalmente rico em proteínas, contém importantes quantidades de imunoglobulinas e, em média concentração duas vezes maior de caseínas, β -lactoglobulina e α -lactoalbumina que o leite produzido no meio da lactação. A queda da taxa protéica ocorre rapidamente durante os primeiros dias de lactação, com a passagem de colostro para leite normal, atingindo seu ponto mais baixo após o pico de lactação para, em seguida, aumentar sob a influência da gestação. O estágio de lactação, afeta, também as proporções de ácidos graxos de cadeia curta e média que tendem a ser maiores, enquanto que os de cadeia longa diminuem durante a primeira metade da lactação (VARNA & SUTHERLAND, 1994)

A gordura é o mais variável e um dos mais importantes componentes do leite. Em bubalinos, o teor de gordura no leite se mantém sempre acima de 5,5%, sendo esta uma característica particular da espécie, independente das condições experimentais. No Brasil, autores como Tonhati (1999), Duarte *et al.* (2001), Faria *et al.* (2002), Fernandes (2004) e Melício *et al.* (2005b) encontraram teores médios de gordura no leite de búfalas variando de 5,5 a 10,4%, semelhantes aos valores observados em outros países, cuja variação observada foi de 6,6 à 8,4% (BOVERA *et al.*, 2001).

A concentração total de colesterol de leite de búfala é menor do que a encontrada no leite de vaca (275 mg *versus* 330 mg por 100 g de gordura), e é 1,5 a 1,9 vezes, mais calórico do que o leite de vacas (De Francis e Di Palo, 1994).

A porção protéica do leite de búfalas é constituída por cerca de 77-79% de caseína e de 21-23 % de soroproteínas. A caseína está presente principalmente na forma de micelas com as frações α_1 , α_2 , β e κ constituindo, respectivamente, 4%, 6,3%, 35% e 4% do total (DE FRANCIS & DI PALO, 1994). Em pesquisas brasileiras, o teor de proteína bruta (PB) no leite de búfalas variou entre 3,8 e 4,5%. Duarte *et al.* (2001) encontraram teor médio de proteína de 4,2%, com o maior valor no início da lactação. Enquanto Mesquita *et al.* (2001) encontraram média de 3,6% no início da lactação, 3,8% no meio, atingindo 4,0% no final da lactação. Fernandes (2004) observou teor médio de PB no leite de búfala variando entre 4,1 e 4,2% com os menores teores sendo encontrados no meio da lactação. Bovera *et al.* (2001), na Itália, determinaram teor médio de PB no leite de búfalas de 4,3% no início, atingindo 4,9% no final da lactação

Em relação ao teor de minerais, ele é mais rico em Ca (1,99 g por kg *versus* 1,17 g por kg) e Mg (0,18g por kg *versus* 0,11 g por kg) do que o leite de vacas, porém é mais pobre em Na, K, e Cl. Adicionalmente a relação Ca/P é 1,71, enquanto que no leite de vacas é de 1,31 (De Francis e Di Palo, 1994).

O teor de sólidos totais (ST) do leite de búfala é geralmente elevado quando comparado com leite de outras espécies, principalmente devido ao elevado teor de

gordura existente no mesmo. Ahmad *et al.* (2007) encontraram valores médios de 17,5% de ST, sendo maior que o encontrado para leite bovino, o qual se situa em cerca de 14%. A densidade do leite é uma propriedade aditiva, que está totalmente associada com os componentes do leite, isto é, dependente diretamente da matéria dissolvida e suspensa no corpo em questão. Mesquita *et al.* (2001) reportaram densidade média de 1,036, valor próximo ao observado por Melício *et al.* (2005a), que foi de 1,034.

A determinação do índice crioscópico (IC) do leite é o método oficial usado como indicador de fraude do leite por adição de água. Mesquita *et al.* (2001), avaliando IC em leite de búfalas, encontraram valor médio de $-0,541^{\circ}\text{H}$. Faria *et al.* (2002) reportaram valores entre $-0,512$ e $-0,552^{\circ}\text{H}$, e justificaram que esta variação ocorreu devido ao fator genético.

A acidez do leite pode ser expressa como acidez titulável, em graus Dornic ($^{\circ}\text{D}$), ou como pH. O pH do leite de bubalino pode variar de 6,7 e 6,94 (NADER FILHO *et al.*, 1996; MESQUITA *et al.*, 2001). Por sua vez, a acidez titulável, medida em $^{\circ}\text{D}$, pode apresentar-se mais elevada que o observado no leite bovino. Isto se explica pelo fato de os bubalinos apresentarem não só maior quantidade de caseínas, mas também pelo fato destas possuírem micelas em maior número e diâmetro que no leite bovino. Assim, como tais proteínas titulam-se de modo semelhante aos radicais acídicos, é de se esperar que a acidez titulável do leite de búfala seja maior que a do leite bovino, desde que as amostras sejam oriundas de animais saudáveis e em condições normais de conservação (NADER FILHO *et al.*, 1996; MELÍCIO *et al.*, 2005a). Em função desse fator, o intervalo referencial para a acidez em $^{\circ}\text{D}$ no leite bubalino é de 14 a 23°D . Melício *et al.* (2005a) reportaram valores entre 16,14 e $23,32^{\circ}\text{D}$, enquanto Mesquita *et al.* (2001) observaram valores entre 14,95 e $16,18^{\circ}\text{D}$, com média de $15,76^{\circ}\text{D}$.

2.1.2 – Perfil de ácidos graxos

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos formados por cadeias de átomos de carbono ligados a hidrogênio, podendo ser representados pela fórmula RCOOH . Os ácidos graxos (AG) podem ser classificados de acordo com o tamanho da cadeia carbônica (curta, média ou longa), presença de insaturações ou duplas ligações (saturados, mono e poliinsaturados) e ramificações na cadeia (não ramificados ou ramificados). A nomenclatura dos ácidos graxos é feita com a numeração da cadeia carbônica a partir do carbono terminal (chamado de carbono ômega - ω) da molécula de AG. Também, em AG insaturados, a isomeria em torno da dupla ligação determina a configuração *cis* (radicais no mesmo plano) ou *trans* (radicais em lados opostos). A

maioria dos ácidos graxos de ocorrência natural em mamíferos é da configuração *cis*, e em ruminantes a biohidrogenação pode converter alguns AG para a configuração *trans* (GRAZIOLA *et al.*, 2002).

Os ácidos graxos secretados no leite de ruminantes têm duas origens distintas: parte é obtida da circulação como ácidos graxos pré-formados oriundos da dieta ou mobilização das reservas corporais, enquanto que a outra parte é sintetizada na própria glândula mamária, a partir de acetato e beta-hidroxibutirato. Este último mecanismo é denominado síntese *de novo*, no qual são formados os ácidos graxos de cadeia curta (C4-C10) e média (C12-C16) secretados no leite (FONSECA E SANTOS, 2000). Parte dos ácidos graxos com átomos de 16 carbono e aqueles com mais de 18 são obtidos da circulação (MONTREZOR, 2006).

Os principais ácidos graxos do leite apresentam cadeia carbônica entre 4 e 20 átomos, sendo os principais ácidos graxos saturados: palmítico (C_{16:0}), mirístico (C_{14:0}) e esteárico (C_{18:0}), destacando-se o primeiro como o de maior teor. Entre os insaturados, destaca-se o ácido oléico (C_{18:1}), principalmente o *cis* 9 (PALMQUIST *et al.*, 1993; KAY *et al.*, 2004).

A principal característica do leite de ruminantes é sua grande proporção em ácidos graxos de cadeia curta e média, que está relacionada com o aroma e o sabor, assim como com a sua fluidez (SANTOS *et al.*, 2001). De acordo com Fernandes (2004), os ácidos graxos de maior participação no leite de búfala, em ordem crescente são C_{16:0}, C_{18:1}, C_{18:0} e C_{14:0}, sendo também os de maior participação no leite bovino, de acordo com resultados encontrados por Palmquist *et al.* (1993).

Parodi (1999) enumerou uma série de compostos anticarcinogênicos presentes na gordura do leite, como o ácido linoléico conjugado (CLA), a esfingomiélna, o ácido butírico, os éteres lipídicos, o β-caroteno e as vitaminas A e D. Especificamente em relação aos isômeros do CLA, efeitos anticarcinogênicos, antidiabéticos, de modulação do sistema imune, de partição da energia e de redução no desenvolvimento de arteriosclerose têm sido reportados. Com isso, tem-se buscado, por meio de experimentos com nutrição animal, estratégias que elevem a concentração de CLA no leite, visto a possibilidade de alteração no teor de gordura do leite, assim como sua composição, por meio da manipulação da dieta (SUTTON, 1989).

Aneja & Murthi (1990) estudando o efeito do processamento do leite bubalino e bovino na Índia, encontraram teor médio de 0,5% de CLA na gordura do leite de búfalas, enquanto a média para leite de bovinos foi 0,6%. Na Itália, Fedele *et al.* (2001) estudando a influência do sistema orgânico de produção (leite a pasto) e do sistema tradicional (concentrado na dieta) sobre o teor de CLA na gordura de leite de búfalas, encontraram valores médios de 0,39% e 0,63% para o sistema tradicional e

orgânico, respectivamente. Fernandes (2004), estudando rebanhos bubalinos em São Paulo, observou teores de CLA no leite variando de 1,06% a 1,80%, em função da propriedade estudada.

Fatores dietéticos relacionados com a incidência de doenças crônicas, dentre elas as cardiovasculares, incluem aqueles ligados à composição da gordura dietética, que podem exercer efeitos promotores e/ou protetores dessas doenças. A avaliação da qualidade nutricional desta gordura tem sido realizada, com base na composição de ácidos graxos, por meio da determinação de índices que relacionam o conteúdo de ácidos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados séries ω -6 ω -3 (DIETSCHY, 1998).

O efeito biológico dos ácidos graxos essenciais depende da razão entre os ácidos das famílias ω 3: ω 6, presentes nos fosfolípidos que constituem as membranas. A FAO (1994) recomenda que a relação entre ácidos graxos insaturados do tipo ω 3 e ω 6 na dieta humana deve ser de 1:5, entretanto, nas dietas ocidentais essa relação é de 1:20 ou 1:25. Vale ressaltar que, apesar de os ácidos graxos insaturados diminuírem os níveis séricos de colesterol e de alguns serem considerados essenciais por não serem sintetizados pelo organismo, uma vez fornecidos na dieta, também podem ser precursores de várias substâncias, sendo algumas vasoativas, influenciando também na viscosidade sanguínea, na permeabilidade dos vasos e na pressão arterial. O aumento de alguns desses ácidos, ou a alteração da razão entre eles, pode aumentar a produção de tromboxanos e leucotrienos que, em excesso, estão associados a doenças como trombooses, arritmias, artrite, asma e psoríase (BELDA & POURCHET-CAMPOS, 1991).

2.1.3- Características microbiológicas

Altos níveis de bactérias têm efeito negativo sobre a qualidade do leite, especialmente no que concerne ao sabor, à vida de prateleira e à segurança alimentar do produto disponibilizado ao consumidor. As principais fontes de contaminação do leite estão relacionadas às práticas de ordenha, armazenamento e transporte, visto que o resfriamento, a presença de resíduos de antimicrobianos ou produtos químicos e a qualidade microbiológica da água podem influenciar de forma significativa na contagem bacteriana total (FONSECA & SANTOS, 2000).

A Contagem Bacteriana Total (CBT) é expressa em Unidades Formadoras de Colônia (UFC/mL). Por sua vez, a Instrução Normativa nº51 estabelece a contagem padrão em placas (CPP) como referência microbiológica, sendo seu limite máximo de

$1,0 \times 10^6$ (BRASIL, 2002), que também é expressa em UFC/mL. Desta forma, a CBT e a CPP possuem equivalência na contagem de microrganismos. Segundo Fonseca & Santos (2000), a CBT do leite é dependente da concentração bacteriana inicial e da taxa de multiplicação dos microrganismos, estando estas variáveis relacionadas com higiene de ordenha, saúde da glândula mamária, limpeza dos utensílios e equipamentos e qualidade da água.

As características microbiológicas do leite de búfalas são, relativamente, pouco conhecidas, principalmente quando comparadas as do leite bovino. É importante ressaltar que o leite bubalino *in natura* apresenta também alta perecibilidade e está sujeito às mesmas fontes de contaminação microbiana que podem existir na bovinocultura leiteira, principalmente na ordenha e no transporte do leite até a indústria de processamento. Algumas peculiaridades do comportamento das búfalas podem contribuir para aumentar significativamente a concentração microbiana inicial do leite cru, como, a tendência natural em se banhar na água ou lama quando a água não está disponível, diminuindo assim a qualidade e a validade do produto, limitando seu emprego na indústria (CUNHA NETO, 2003). Em contrapartida, Mesquita *et al.* (2001) afirmam que o leite bubalino possui maior atividade antibacteriana do que o bovino, pelo fato de possuir mais lactoferrina, substância que mantém o ferro iônico fora do alcance das bactérias.

Vianni *et al.* (2000) avaliando a qualidade microbiológica do leite *in natura* proveniente de rebanhos bubalinos do estado do Rio de Janeiro, encontraram valores médios de $7,6 \times 10^4$ UFC/mL, 8×10^4 UFC/mL e $2,2 \times 10^5$ UFC/mL, para bactérias mesófilas aeróbias provenientes de quartos mamários individuais, do leite de cada búfala ordenhada (leite individual) e do leite de todos os animais (leite de mistura), respectivamente. Tais resultados permitiram concluir que a qualidade do leite *in natura* dos rebanhos estudados estava inferior ao padrão exigido devido ao elevado número de bactérias deterioradoras, evidenciando a falta de adoção de medidas higiênico-sanitárias antes, durante ou após a ordenha. Cunha Neto (2003) relata que contagens bacterianas elevadas, acima de $1,0 \times 10^7$ UFC/mL, podem causar sérios prejuízos durante o processamento do leite, sobretudo no rendimento de obtenção do queijo tipo mozzarella.

A contagem total de microrganismos aeróbios não indica a fonte dos microrganismos contaminantes, sendo necessário recorrer à contagem de grupos específicos. Apesar disso, a contagem bacteriana é bastante utilizada para determinar a qualidade do produto. De qualquer maneira, a Federação Internacional de Laticínios (FIL-IDF) estabeleceu uma contagem total superior a 10^5 UFC/mL, indicando que o leite foi obtido em condições higiênicas insatisfatórias, enquanto um valor inferior a

esse indica que a higiene foi adequada durante a ordenha e as manipulações posteriores (ORDOÑEZ, 2005).

2.1.4- Contagem de células somáticas

O termo células somáticas abrange diferentes elementos celulares normalmente presentes no leite, compreendendo células de defesa do organismo, principalmente leucócitos. Os leucócitos correspondem de 75% a 98% e o restante é oriundo das células epiteliais provenientes da descamação que ocorre no tecido de revestimento da glândula mamária (FONSECA & SANTOS, 2000). Dhakal *et al.* (1992) relataram a predominância de células epiteliais (48,42%), seguidas pelos linfócitos (29,28%), neutrófilos (20,98%) e monócitos (1,62%) em leites de búfalas sadias, enquanto que no leite de búfalas com mastite encontraram maior ocorrência de neutrófilos (67,33%), seguidos por linfócitos (20,40%), células epiteliais (10,80%) e monócitos (2,10%).

Em vacas, a CCS de até 200 mil células/mL indica glândula mamária sadia (KITCHEN, 1981). Em búfalas, este parâmetro não se encontra estabelecido, contudo, a média na CCS no leite bubalino varia entre 63 e 126,5 mil células/mL (CERON-MUÑOZ *et al.*, 2002). Singh & Ludri (2001) não encontraram diferenças significativas de CCS entre estágio da lactação e entre lactações, apresentando contagem média de 100.000 células/mL, sendo que a variação da CCS apresentou correlação negativa com o aumento da produção de leite. Amaral (2005), ao estudar a CCS em amostras de leite individuais e do rebanho total de búfalas, encontrou valores médios de CCS de 24.000 células/mL e 22.000 células/mL, respectivamente. Esta baixa CCS pode ser considerada como reflexo do bom estado de saúde do úbere com conseqüente produção de leite de boa qualidade.

A mastite determina consideráveis prejuízos à indústria de laticínios, relacionados às alterações que provoca na composição do leite, reduzindo os teores de cálcio, lactose, caseína e gordura, além de aumentar os níveis de íons sódio, cloro e de proteínas séricas (OLIVEIRA *et al.*, 1999). Ceron-Muñoz *et al.* (2002) constataram correlação negativa entre o aumento da CCS e a produção de leite durante todos os meses de lactação. Estes autores verificaram que aumentos na CCS ocasionam queda na produção de leite e nos teores de constituintes, principalmente a lactose, o que causa perdas econômicas para produtores e para a indústria.

As alterações dos componentes individuais do leite, pela presença de elevada CCS, têm efeito sobre a produção e a qualidade do leite e derivados lácteos. Os principais problemas enfrentados na produção do queijo são: redução no rendimento

industrial, aumento do conteúdo de água no coágulo, alterações negativas nas propriedades sensoriais, defeitos de textura, elevada perda de sólidos no soro de queijo e aumento no tempo para formação do coágulo. Essas alterações no rendimento e na qualidade do queijo produzido com leite com alta CCS estão diretamente relacionadas com as alterações na composição da proteína (redução da síntese de caseína), balanço de minerais e pela atividade de origem das células somáticas. Para a manteiga, leite em pó e outros derivados, a alta CCS causa principalmente a redução da vida de prateleira, pois as células somáticas sintetizam enzimas resistentes à pasteurização que causam a deteriorização da gordura, produzindo sabor rançoso e alterando o valor nutricional do produto (FONSECA & SANTOS, 2000). Conforme Oliveira *et al.* (1999), em certos casos de mastite, pode ser observada, também, menor qualidade microbiológica do produto final, resultante do aumento da contagem global de microrganismos.

2.2- Características gerais do iogurte

O iogurte é reconhecidamente um alimento tradicional dos povos do Oriente Médio e o interesse nele fez com que se espalhasse para a Itália, França, Holanda e outros países europeus e da América do Norte. Nos países ocidentais, basicamente o seu consumo era devido a prescrições médicas em razão da reputação do seu valor terapêutico (FERREIRA, 1996).

Por definição, o iogurte é o produto obtido pela fermentação láctica do leite, pela ação do crescimento associativo do *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (cocos unidos, geralmente em cadeias curtas) e *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (bastonetes unidos em cadeias longas) (SABOYA *et al.*, 1997). O processo simbiótico é iniciado com *S. thermophilus* que cresce primeiro. Com o seu crescimento, o ácido láctico é acumulado, diminuindo parcialmente o pH e lançando ao meio algumas substâncias aminadas originadas da proteína do soro, que vão estimular o desenvolvimento do *L. bulgaricus*. Este, por sua vez, passa a crescer, abaixa ainda mais o pH e lança ao meio aminoácidos como glicina, histidina e valina que estimulam o crescimento do *S. thermophilus*. Com o passar do tempo, cada vez mais ácido láctico é acumulado no meio e o pH chega a certo ponto que passa a inibir o *S. thermophilus*. O *L. bulgaricus* por ser mais resistente à acidez aumenta em número. No final do processo, existe um número bem maior de *L. bulgaricus* do que de *S. thermophilus* (FERREIRA, 1996).

Os diferentes tipos de leites fermentados apresentam fases de produção semelhantes, como padronização do conteúdo de gordura, aumento dos sólidos não

gordurosos do leite, homogeneização e tratamento térmico, em seguida semeia-se o cultivo iniciador selecionado, dependendo do produto em questão (ORDOÑEZ, 2005). O leite bubalino, por apresentar composição diferente do bovino, com maiores conteúdos de sólidos totais e de desengordurados, não requer o aumento de sólidos não gordurosos para a elaboração de iogurte e de outros leites fermentados, obtendo-se viscosidade, textura e aparência adequadas sem a necessidade desta adição (BENEVIDES, 1998). Segundo Cunha Neto (2003), mesmo os iogurtes desnatados e padronizados para 3% de gordura não mostraram diferença significativa em relação ao produto integral quanto à viscosidade, o que dispensa a prática de fortalecimento do extrato seco desengordurado do leite de búfala submetido ao desnate parcial ou total. De acordo com Verruma *et al.* (2006), a firmeza do iogurte constitui atributo importante na aceitação do produto pelo consumidor. O alto teor de caseína do leite de búfala, que explica a elevada consistência, nem sempre agrada ao consumidor, principalmente se o produto for envasado em garrafas de plástico. Assim, a viscosidade é considerada como fator determinante na aceitação do iogurte.

A utilização do leite de búfala para elaborar produtos que tradicionalmente são derivados do leite de vaca é justificada quando se compara a qualidade nutricional e tecnológica desses. O leite de búfala, em relação ao de vaca, apresenta menor conteúdo de água e maiores conteúdos de proteína, gordura e minerais, e a sua utilização proporciona um corpo e uma textura mais firmes ao iogurte, quando comparado com o iogurte elaborado com leite bovino (CUNHA NETO *et al.*, 2003; FARIA *et al.*, 2006).

O iogurte é o principal produto fermentado a partir do leite, sua qualidade está diretamente relacionada com suas características sensoriais, apresentando-se bastante diversificada no mercado e com grande aceitabilidade, em função da sua imagem saudável e nutritiva (MARTIN, 2003). O valor nutricional do iogurte é superior em relação ao conteúdo de vitaminas do complexo B, quando comparado ao da matéria-prima, sendo aceito por indivíduos que apresentam intolerância à lactose (LOURENS-HATTINGH & VILJOEN, 2001).

De acordo com Faria *et al.* (2006), os produtos elaborados com leite bubalino, como *mozzarella* e iogurte, apresentam melhor qualidade e rendimento que os produtos de leite bovino (rendimento de 39 e 40% maior, respectivamente) representando uma alternativa para o aproveitamento tecnológico.

Verruma *et al.* (1993), ao avaliarem as composições química e nutricional do iogurte elaborado com leite de búfala observaram valores superiores para proteína (4,5%), gordura (7,1%), cinzas (0,76%), cálcio (1,44%) e fósforo (0,93%) quando comparado com o mesmo produto elaborado com leite de vaca, com valores de 3,8%,

3,8%, 0,73%, 1,29% e 0,92%, respectivamente. Segundo os autores, esses valores superiores estão relacionados com a composição química inicial do leite.

2.3- Bebida láctea

Bebida láctea é o produto resultante da mistura do leite (*in natura*, pasteurizado, esterilizado, UAT, reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado ou parcialmente desnatado e desnatado) e soro de leite (líquido, concentrado ou em pó) adicionado ou não de produto(s) alimentício(s) ou substância alimentícia, gordura vegetal, leite(s) fermentado(s), fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos. A base láctea representa pelo menos 51% (cinquenta e um por cento) massa/massa (m/m) do total de ingredientes do produto, fermentado mediante a ação de cultivo de microrganismos específicos e/ou adicionado de leite(s) fermentado(s) e que não poderá ser submetido a tratamento térmico após a fermentação. A contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de 10^6 UFC/g no produto final, para o(s) cultivo(s) láctico(s) específico(s) empregado(s), durante todo o prazo de validade (BRASIL, 2005).

O referido instrumento normativo definiu que bebida láctea à base de soro pode apresentar variações quanto ao tratamento térmico, fermentação e adição de ingredientes, podendo originar novos produtos. No entanto, a relação de soro é um pouco aleatória, não sendo bem definida, não se tendo, portanto, conhecimento do que pode ocorrer ao se mudar a proporção nas formulações (ALMEIDA *et al.*, 2001).

A bebida láctea vem se destacando como “substituto” do iogurte. Tamine & Robison (1991) inferiram que o consumo de bebidas lácteas que se caracterizam por apresentar baixa viscosidade são consumidas como bebidas suaves e refrescantes.

2.4- Soro lácteo

O soro ou lactosoro é um subproduto resultante da separação das caseínas e da gordura do leite no processo de elaboração do queijo. Antigamente, era considerado como um líquido residual inaproveitável ou utilizado para alimentação animal. Contudo, o conhecimento de sua composição e os avanços tecnológicos levaram a que se fosse considerado, atualmente, como uma fonte importante de componentes lácteos de grande valor para indústria alimentícia e farmacêutica (ORDOÑEZ, 2005).

O soro representa 85% a 95% do volume total do leite e retém 55% dos nutrientes após coagulação da caseína no processamento do queijo. O mais abundante dos nutrientes encontrados é a lactose, seguindo de proteínas solúveis, minerais e

lipídeos o que corresponde um total de 8 a 10% de extrato seco. O soro contém ainda quantidades consideráveis de outros componentes como o ácido láctico, ácido cítrico, compostos nitrogenados não protéicos e vitaminas do grupo B (GONZÁLEZ SISO, 1996).

Conforme o procedimento utilizado para a separação da coalhada, distinguem-se dois tipos de soro, o ácido, procedente da coagulação ácida do leite e pH em torno de 4,5 e o soro doce, procedente da coagulação enzimática do leite com pH próximo de 6,4 (ORDOÑEZ, 2005). Segundo Sgarbieri (2004), pode-se, ainda, obter o soro pela separação física das micelas de caseína por microfiltração, obtendo-se um concentrado de micelas e as proteínas do soro, na forma de concentrado e isolado protéico. No Brasil, a produção de soro é constituída quase que exclusivamente de soro doce que, em geral, contém maior quantidade de peptídeos e aminoácidos livres resultantes da ação da renina sobre as caseínas (SGARBIERI, 1996).

Segundo a ABIQ (Associação Brasileira das Indústrias de Queijo), em 2006, a produção de queijo no Brasil ficou em torno de 580.000 toneladas. Estima-se que para cada quilo de queijo são produzidos 9 litros de soro e, considerando a produção brasileira de queijos, mais de 5.220.000 toneladas de soro foram obtidas. De acordo com Mosquim (1996), em cada mil litros de soro produzidos contém, em média, 50 kg de lactose, 8 kg de sais minerais, 8 kg de proteínas de alto valor nutricional, 4 kg de gordura, além de outros componentes em baixa concentração. O soro de leite de búfala apresenta proporções superiores de gordura e lactose, conseqüentemente de sólidos totais, quando comparado com o leite bovino (LIRA, 2007).

No Brasil, alguns laticínios ainda lançam soro de queijo em cursos d'água. Essa prática é considerada ineficaz para resolver os problemas decorrentes de sua eliminação pois, do ponto de vista biológico, o soro é um dos resíduos mais poluentes. A gravidade da poluição provocada pelo soro lácteo, vem do fato de que ele apresenta uma Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) muito elevada. A DBO de um litro de soro varia de 30.000 a 60.000 mg/L. Outro dado que demonstra o potencial poluidor deste efluente é o fato de que ele pode ser aproximadamente cem vezes mais poluidor do que o esgoto doméstico (BRANDÃO, 1994).

Para os laticínios, a conversão do soro líquido em bebidas fermentadas é uma das mais atrativas opções, da sua utilização, para o consumo humano, devido à simplicidade do processo e utilização dos mesmos equipamentos de beneficiamento do leite, além de minimizar os problemas com descarte desse resíduo. Os produtos de soro não só permitem ao fabricante reduzir o custo total dos ingredientes como também apresentam a importante vantagem de possuírem propriedades funcionais

excepcionais, além de serem uma fonte concentrada de nutrientes lácteos, sobretudo proteínas de elevado valor nutricional e cálcio (HUGUNIN, 1999).

2.5 - Análise sensorial

A aplicação da análise sensorial em produtos lácteos tem sido utilizada, nos últimos anos, como uma ferramenta para se fazer a relação entre certos compostos alimentares da dieta animal e o sabor do leite, além de auxiliar na identificação de possíveis alterações de processamento e sugerir correções (OGDEN, 1993). Um dos métodos de avaliação sensorial aplicado é o teste afetivo que, dentre vários, apresenta o teste de preferência que determina reações subjetivas do consumidor ao fazer com que esse prefira um produto a outro. Os testes mais empregados para avaliação da preferência são: comparação pareada e ordenação. O teste de ordenação é utilizado quando o objetivo é comparar várias amostras em relação a um simples atributo ou para determinar a preferência (CHAVES, 1999).

São escassos os trabalhos que abordam a avaliação sensorial de leites fermentados e iogurtes produzidos exclusivamente com leite de búfala. Faria *et al.* (2006) avaliando o leite de búfala fermentado por *Lactobacillus casei* e suplementado com *Bifidobacterium longum*, observaram boa aceitação do produto, com a média das notas dos julgadores variando de 6,68 a 6,98, que correspondem às classificações “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”.

Chawla & Balachandran (1994) verificaram que o iogurte de leite de búfala, contendo 3,0% de gordura e 10% de sólidos não gordurosos (SNG), apresentou bom desempenho na avaliação sensorial realizada por provadores treinados. Nesse trabalho, os autores também observaram valores crescentes de viscosidade no iogurte contendo 9,0 a 15,0% de sólidos totais.

Segundo Cunha Neto *et al.* (2003), o leite bubalino, por apresentar maiores concentrações de gordura e proteínas, confere características sensoriais peculiares aos derivados lácteos, o que permite a obtenção de produtos, como o iogurte, com propriedades diferentes das observadas do iogurte elaborado com o leite da espécie bovina. Em avaliação sensorial realizada em iogurtes com diferentes teores de gordura, os autores observaram que o iogurte padronizado, produzido exclusivamente com leite de búfala, apresentou notas maiores quanto ao sabor na análise sensorial nos tempos 15 e 30 dias de armazenamento, indicando um bom potencial para o consumo em condições nacionais.

3-REFERÊNCIAS

- ABIQ. Associação Brasileira de Indústrias de Queijo. Notícias. **Abiq.com.br**. Disponível em: <http://www.abiq.com.br/>. Acessado em 05/08/2008.
- ABREU, L. R. **Tecnologia de Leite e Derivados**. Lavras: Universidade Federal de Lavras. Apostila de aula. 1998.
- AHMAD, S.; GAUCHER, I.; ROUSSEAU, F.; BEAUCHER, E.; PIOT, M.; GRONGNET, J. F.; GAUCHERRON, F. Effects of acidification physico-chemical characteristics of buffalo milk: A comparison with cow's milk. **Food chemistry**, California, n.106, v.1, p.11-17, jan. 2007.
- ALMEIDA, K. E.; BONASSI, I. A.; ROÇA, R. O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo minas Frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n.2, v.21, p.187-192, mai-ago, 2001.
- AMARAL, F. R. Fatores que interferem na contagem de células somáticas e constituintes do leite de búfalas. 2005. 46p. **Dissertação de Mestrado**. Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- ANEJA, R. P.; MURTHI, T. N. Conjugated linoleic acid contents of indian curds and ghee. **Indian Dairy Science**, New Delhi , v.2, n.43, p.231-238, ago. 1990.
- AULDIST, M. J., WALSH, B. J.; THOMSON, N. A. Seasonal and lactational influences on bovinemilk composition in New Zeland. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v.65, n.3, p.401-411, jun. 1998.
- BELDA, M. C. R.; POURCHET-CAMPOS, M. A. Ácidos graxos essenciais em nutrição: uma visão atualizada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.11, n.1, p.5-35, jan/jun. 1991.
- BENEVIDES, C. M. Leite de búfala: qualidades tecnológicas. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.12, n.54, p.18-21, mar. 1998.
- BERNARDES, O. Buffalos breeding in Brasil. **Italian Journal Animal Science**, Firenze, v. 6, Supplement 2, part 1. p.162-167, 2007.
- BOVERA, F.; CUTRIGNELLI, M. I.; CALABRÒ, S.; MARCHIELLO, M.; PICCOLO, V. Influence of diet characteristics and productions levels on blood and milk urea concentrations in buffalo. In: World Buffalo Congress, 6, Venezuela, 2001. **Proceedings**. Maracaibo: Zulia University Tech Park, 2001, p.506-511.
- BRANDÃO, S. C.C. Soro um desafio para as fábricas de queijo. **Leite & Derivados**, São Paulo, n.15, p.13-19, mar-abr. 1994.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite tipo A, Leite tipo B, Leite tipo C, Leite Pasteurizado e Leite Cru Refrigerado**. Instrução Normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas**. Instrução Normativa nº16 de 23 de agosto de 2005.

CERON-MUÑOZ, M.; TONHATI, H.; DUARTE, J. M. C. Contagem de células somáticas e produção de leite em bubalinos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.57, n.324, p.8-10, mai- jun. 2002.

CHAVES, J. B. P. Práticas de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas. **Cadernos Didáticos**. Viçosa: UFV, nº 66, 1999, 81p.

CHAWLA, A. K.; BALACHANDRAN, R. Studies on yoghurt buffalo milk: effect on different solids not fat content on chemical, rheological and sensory characteristics. **Indian Journal Dairy Science**, New Delhi, v. 47, n. 1, p. 762-765, 1994.

CUNHA NETO, O. C. Avaliação físico-química e sensorial do iogurte natural produzido com leite de búfala contendo diferentes níveis de gordura. **Dissertação de Mestrado**. 71p. Universidade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos de São Paulo. Pirassununga. 2003.

DE FRANCIS, G.; DI PALO R. Buffalo milk production. *In: World Buffalo Congress*, 4, 1994, São Paulo, SP. **Proceedings...** São Paulo: Associação Brasileira de Criadores de Búfalos.1994. p.137-145.

DHAKAL, I. P.; KAPUR, M. P.; SHARMA, A. Significance of differential somatic cell counts in milk for the diagnosis of subclinical mastitis in buffaloes using foremilk and strippings milk. **Indian Journal Animal Health**, New Delhi , v.31, n.1, p.39-42, 1992.

DIETSCHY, J. M. Dietary fatty acids and the regulation of plasma low density lipoprotein cholesterol concentration. **Journal of Nutrition**, Gainesville, v.2, n.128, p. 444-448, fev. 1998.

DUARTE, J. M. C. Efeitos ambientais sobre a produção no dia do controle e características físico-químicas do leite em um rebanho bubalino no estado de São Paulo, Brasil. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 56, n.322, p.16-19, set-dez. 2001.

FAO. **Food and Agriculture Organization**. Fats and oils in human nutrition. n. 57, 1994.

FARIA, C. P.; BENEDET, H. D.; GUERROUE, J.-L. Parâmetros de produção de leite de búfala fermentado por *Lactobacillus casei*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.3, p.511-516, mar. 2006.

FARIA, M. H.; TONHATI, H.; CERÓN MUÑOZ, M.; DUARTE, J. M.C. Características físico-químicas do leite de búfalas ao longo da lactação. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.57, n.324, p.3-7, mai-jun. 2002.

FEDELE, E.; IANNIBELLI, L.; MARZILLO, G. et al. Conjugated linoleic acid content in milk and mozzarella cheese from buffalo fed with organic and traditional diet. *In: WORLD BUFFALO CONGRESS*, 6. Maracaibo, 2001. **Proceedings**. Maracaibo: Zulia University Tech Park, 2001, p.404-409.

FERNANDES, S. A. A. Levantamento exploratório da produção, composição e perfil de ácidos graxos do leite de búfalas em cinco fazendas do Estado de São Paulo. **Tese de Doutorado**. 98p. Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2004.

FERREIRA, C. L. L. F. **Produtos lácteos fermentados: aspectos bioquímicos e tecnológicos**. Viçosa: UFV, 1996. 96p.

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

GONZÁLEZ SISO, M. I. The biotechnological utilization of cheese whey: a review. **Bioresource Technology**, Essex., v.57, n.1, p.1-11, mar.1996.

GRAZIOLA, F.; SOLIS, V. S.; CURI, R. Estrutura química e classificação dos ácidos graxos. In: CURI, R.; POMPÉIA, C.; MIYASAKA, C. K.; PROCOPIO, J. (Ed). **Entendo a gordura: os ácidos graxos**. Barueri: Manole, 2002. p.5-23.

HUGUNIN, A. O uso de produtos de soro em iogurte e produtos lácteos fermentados. **Leite & Derivados**, São Paulo, v.5, n.49, p.22-33, 1999.

KAY, J. K.; MACLE, T. R.; AULDIST, M. J. N.; THOMSON, A.; BAUMAN D. E. Endogenous synthesis of *cis-9, trans-11* conjugated linoleic acid in dairy cows fed fresh pasture. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.87, p.369-378, 2004.

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

LIRA, H. M. Microfiltração do soro de leite de búfala utilizando membrana cerâmica como alternativa do processo de pasteurização. **Dissertação de Mestrado**. 59p. Universidade Federal de Alagoas. Maceió, 2007.

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

MARTIN, A. F. Armazenamento do iogurte comercial e o efeito na proporção de bactérias lácteas. **Dissertação de Mestrado**. 62p. Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2003.

MELÍCIO, S. P.; CARVALHO, M. R. B.; TONHATI, H.; CANAES, T. S.; LIMA, A. L. F.; RUIZ HOLGADO, A.; NUÑEZ DE KAIRÚZ, M. Acidez e densidade do leite de búfala da raça Murrah na região de São Carlos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 60, n. 346/347, p. 31-33, set-dez. 2005a.

MELÍCIO, S. P.; CARVALHO, M. R. B.; TONHATI, H.; MUNARI, D. P.; PESCE DE RUIZ HOLGADO, A.; LAROSA, G.; AIURA, F. S. Composição química do leite de búfala da raça Murrah na região de São Carlos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.60, n.346-347, p.7-12, set-dez. 2005b.

MESQUITA, A. J; TANEZINI, C. A.; FONTES, I. F.; PONTES, I. S.; ROCHA, J. de M.; SOUZA, J. T.; D'ALESSANDRO, W. T. **Qualidade físico-química e microbiológica do leite cru bubalino**. Goiânia: UFGO, 2001. 77 p.

MONTREZOR, J. M. C. D. Estudo genético quantitativo do teor de ácido linoléico conjugado (cla) em leite de búfalas. **Tese de Doutorado**. 47p. Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2006.

MOSQUIM, M. C. A. V. Propriedades funcionais do soro de queijo. In: **Encontro Digital de Tecnologia de Laticínios**, Viçosa, MG, 3, 1996.

NADER FILHO, A.; AMARAL, L. A.; TONHATI, H.; PENHA, L. H.; TOLEDO, L. M. Variação das características físico-químicas do leite de búfala, durante os diferentes meses do período de lactação. **Artigos de Veterinária**, Jaboticabal, v.12, n.2, p.148-143, 1996.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Carcinogens and anticarcinogen in the human diet. Washington, DC: **National Academy Science**, 1996. 418p.

ODGEN, L. V. Sensory evaluation of dairy products. In: HUI, Y. H. (Ed.). **Dairy Science and Technology Handbook**. New York, v.1. London: Elsevier, 1993. p.158-274.

OLIVEIRA, C. A. F; FONSECA, L. F. L; GERMANO, P. M. L. Fatores relacionados à produção que influenciam a qualidade do leite. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.11, p.10-16, nov-dez. 1999.

OLIVEIRA, V. M. Formulação de bebida láctea fermentada com diferentes concentrações de soro de queijo, enriquecida com ferro: caracterização físico-química, análises bacteriológicas e sensoriais. **Dissertação de Mestrado**. 78p. Universidade Federal Fluminense. Niterói, Rio de Janeiro, 2006.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos, vol.II /Alimentos de origem animal**. Porto Alegre: Artmed, 2005, 279p.

PALMQUIST, D. L.; BEAULIEU, A. D.; BARBANO, D. M. Feed and animal factors influencing milk fat composition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76, p. 1753-1771, 1993.

PARODI, P.W. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.82, p.1339-1349, 1999.

SABOYA, L. V.; OETTERER, M.; OLIVEIRA, A. J. Propriedades profiláticas e terapêuticas de leites fermentados: uma revisão. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.31, n.2, p.176-185, 1997.

SANTOS, F. L.; SILVA, M. T. C.; LANA, R. P. BRANDÃO, S. C. C.; VARGAS, L. H.; ABREU, L. R. Efeito da suplementação de lipídeos na ração sobre a produção de ácido linoléico conjugado (CLA) e a composição de gordura do leite de vacas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, n.6, p.1931-1938. 2001.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos**. São Paulo: Varela, 1996, 517p.

SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas funcionais das proteínas do soro de leite. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.17, n. 4, 2004.

SINGH, M.; LUDRI, R. S. Somatic cell counts in Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*) during different stages of lactation, parity, and season. **Asian-Austral Journal Animal Science**, v.14, p.189-192, 2001.

SIVIERI, K; OLIVEIRA, M. N. Avaliação da vida-de-prateleira de bebidas lácteas preparadas com “fat replacers” (litesse e dairy-lo). **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.22, p.24-31, 2002.

SUTTON, J.D. Altering milk composition by feeding. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.72, n.10, p.2801-2814, oct. 1989.

TAMINE, A. Y. ROBINSON, R. K. **Iogu: Ciência e Tecnologia**, Zaragoza, Acribia, 1991. 368p.

TONHATI, H. Resultados do controle leiteiro em bubalinos. In: **Simpósio Paulista de Bubalinocultura**, 1. Jaboticabal: FUNEP, 1999, p.90-109.

VARNA, A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Milk and milk products. Technology, Chemistry an Microbiology**. Chapman & Hall Publishers. London. 1994. 451p.

VERRUMA, M.R.; OLIVEIRA, A. J; SALGADO, J. M. Avaliação química e nutricional do queijo mozzarella e iogurte de leite de búfala. **Science Agrícola**, Piracicaba, v.50, n.3, p.438-443, out-dez.1993.

VERRUMA-BERNETI, M. R; BRANCO, N. C. M; MAROTE, D. M. J; DELIZA, R; ARAÚJO, K. G. L; KAJISHIMA, S. Perfil sensorial e preferência do iogurte de leite de búfala. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 24, n. 2, p.443-456, jul-dez. 2006.

VIANNI, M. C. E. ; LAZARO, N. S. ; SANTANA, D. M. N. ; MENDONÇA, C. L. ; AFONSO, J. A. B. . Qualidade Microbiológica do Leite "in natura de Rebanhos Bubalinos do Estado do Rio de Janeiro. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 70, p. 69-72, nov-dez. 2000.

WALSTRA, P.; GEURTS, T. J.; NOOMEN, A.; JELLEMA; VAN BOEKEL, M. A. J. S. **Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos**. Zaragoza: Acribia, 2001. 730p.

CAPÍTULO I

CALDEIRA, L. A. **Caracterização físico-química, microbiológica e contagem de células somáticas do leite de búfala nas fases inicial e final da lactação.** Itapetinga–Ba:UESB, 2008. 82p. (Dissertação – Mestrado em Engenharia de Alimentos). *

RESUMO

O leite de búfala destaca-se devido à presença de maior porcentagem de seus constituintes, principalmente gordura e proteína, os quais são responsáveis pelas características físicas de estrutura, cor e sabor do leite e seus derivados. No entanto, a composição do leite de búfala sofre grande influência do período de lactação. Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar a qualidade do leite de búfalas, utilizando como parâmetro as características físico-químicas com ênfase no perfil de ácidos graxos, na contagem bacteriana total e na contagem de células somáticas do leite nos terços inicial e final da lactação. Foram obtidas amostras do leite de búfalas da raça Murrah, provenientes da Fazenda Divisão, localizada na região Sul da Bahia. A coleta foi realizada nos meses de junho e outubro, caracterizando o início e final de lactação, respectivamente. Em seguida, as amostras foram imediatamente resfriadas a 4°C e encaminhadas sob refrigeração ao laboratório da Clínica do Leite da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP). As análises físico-químicas, microbiológicas e contagem de células somáticas foram realizadas pelos equipamentos Bentley 2000®, Bactocount® e Somacount 300® respectivamente, calibrado com leite bovino. O perfil de ácidos graxos foi realizado por meio da cromatografia gasosa. A qualidade nutricional da fração lipídica foi avaliada pelos dados de composição em ácidos graxos, utilizando-se o índice de aterogenicidade, índice de trombogenicidade, razão entre ácidos graxos hipercolesterolêmicos e hipocolesterolêmicos, ácidos graxos desejáveis, razão entre ácidos graxos poliinsaturados e ácidos graxos saturados e razão entre ω -6 e ω -3. A análise estatística dos dados foi realizada utilizando-se o Teste t de Student para dados emparelhados ao nível de 5% de significância. O leite de búfala sofreu influência do estágio de lactação, sendo observado aumento na acidez, teor de gordura, sólidos totais e células somáticas, enquanto que para densidade, lactose e sólidos não gordurosos notou-se diminuição dos valores no final da lactação. No total de ácidos graxos presentes no leite de búfala foram encontrados maiores concentrações de ácidos saturados no início da lactação. Ao final da lactação houve aumento da concentração de ácidos monoinsaturados. O leite de búfala da fase final de lactação mostrou-se, nutricionalmente, mais adequado ao consumo alimentar.

Palavras- chave: leite de búfala, lactação, ácidos graxos, composição

* Orientadora: Sibelli Passini Barbosa Ferrão, D.Sc., UESB e Co-orientadores: Joel Camilo Souza Carneiro e Sérgio Augusto de Albuquerque Fernandes, D.Sc., UESB.

CHAPTER I

CALDEIRA, L. A. **Somatic cell count, microbiological and physical-chemical characterization of buffalo milk in early and late lactation phases.** Itapetinga–Ba:UESB, 2008. 82p. (Dissertation–Master’s degree in Food Engineering)*

ABSTRACT

Buffalo milk product is distinguished due to the presence of higher percentage of its constituents, mainly fat and protein, which are responsible for physical characteristics of structure, color and flavor, including its derivatives. However, buffalo milk is highly influenced by lactation period. Thus, this work was carried out to evaluate buffalo milk quality, having as parameters the physical-chemical characteristics with emphasis on the profile of fatty acids, total bacterial counting and counting of somatic cells in the initial third and late lactation phases. Milk samples of Murrah buffaloes were collected at “Divisão” farm, located in the Southern of Bahia. Those samples were collected in July and October, in order to characterize the early and late lactation phases, respectively. After that, they were immediately cooled at 4°C and taken under refrigeration to Clinical of the Milk at “Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - ESALQ/USP”. The physical-chemical and microbiological analyses, and the counting of somatic cells were carried out by the equipment Bentley 2000®, Bactocount® and Somacount 300®, respectively, calibrated with milk. The fatty acids profile was accomplished by means of the gaseous chromatography. The nutritional quality of the lipid fraction was evaluated from the data of fatty acids composition, using the index of atherogenicity and thrombogenicity, proportion between hypercholesterolemic fatty acids and hypocholesterolemic fatty acids, desirable fatty acids, proportion between polyunsaturated fatty acids and saturated fatty acids, and proportion between ω -6 and ω -3. The statistics analysis was carried out using the Test t of Student for matched data at 5% of significance. Buffalo milk was affected by lactation phase, being observed an increase in the acidity, fat content, total solids and somatic cells, whereas there was a reduction for density, lactose and non-fat solids in the late lactation. Higher rates of saturated acid concentrations were found in the fatty acids present in milk in the early lactation. In the late lactation, there was increase of monounsaturated acid concentration. Buffalo milk from late lactation phase was more nutritionally appropriate to human diet.

Keywords: buffalo milk, lactation, fatty acid, composition

* Adviser: Sibelli Passini Barbosa Ferrão, D.Sc., UESB e Co-adviser: Joel Camilo Souza Carneiro e Sérgio Augusto de Albuquerque Fernandes, D.Sc., UESB.

1- INTRODUÇÃO

A produção de leite de búfala gira em torno de 10,5% de todo o leite produzido no mundo. Desse montante, 92,12% são produzidos na Índia, China e Paquistão, que possuem aproximadamente 78% da população mundial de búfalos. O continente asiático é responsável por 96% da produção mundial de leite de búfala, com destaque para a Índia, onde 55% do leite produzido é de búfala (SILVA *et al.*, 2003). Em relação à América Latina, o Brasil ocupa o primeiro lugar, com maior população de búfalos (GUTIERREZ *et al.*, 2005), sendo estimada uma quantidade de 3 a 3,5 milhões de animais (BERNARDES, 2007).

Os bubalinos exibem produtividade leiteira economicamente superior aos zebuínos. Isto é, o litro de leite é produzido a menor custo, evidenciando, sobretudo, uma rusticidade extraordinária, inerente à espécie, que tem contribuído para estimular a criação destes animais, principalmente em locais de difícil desenvolvimento da pecuária bovina e agricultura (CUNHA NETO, 2003). Dentre as raças exploradas, destacam-se Murrah, Mediterrâneo e Jafarabadi, sendo a primeira considerada mais eficiente como produtora de leite e gordura (ABCB, 2006).

O leite de búfala é reconhecido mundialmente por seu importante valor nutritivo. Ele possui acentuada diferença em relação ao leite de vaca devido à presença de maior porcentagem de constituintes, principalmente gordura e proteína, que assumem maior relevância por serem os componentes de maior valor econômico para os laticínios, proporcionando maior rendimento na obtenção de derivados (BENEVIDES, 1998). A composição do leite de búfala sofre grande influência do período de lactação, na qual a maioria dos componentes apresenta comportamento proporcional ao volume de leite. De forma geral, a porcentagem de alguns componentes do leite se eleva ao longo da lactação, pois à medida que a produção diminui, ocorre a concentração de alguns compostos do leite. O estágio de lactação afeta também as proporções de ácidos graxos de cadeia curta e média que tendem a ser maiores, enquanto que os de cadeia longa diminuem durante a primeira metade da lactação (CERQUEIRA, 1995).

É crescente o número de informações sobre a influência da gordura do leite sobre a saúde humana. Embora o leite apresente alta concentração de ácidos graxos saturados, como os oriundos da síntese *de novo*, a literatura tem indicado que, no perfil da gordura do leite, há vários compostos benéficos à saúde humana (EIFERT *et al.*, 2006). Os ácidos graxos poliinsaturados, como os da série ômega-3 e o ácido linoléico conjugado (CLA), estão relacionados à redução na incidência de doenças

cardiovasculares, prevenção e tratamento de tumores (TAPIERO *et al.*, 2002) e prevenção da osteoporose (ALBERTAZZI & COUPLAND, 2002). Segundo Mello (2008), o leite e seus derivados podem ser denominados como alimentos funcionais, pois, além de serem fontes de energia, proteínas de alta qualidade e certa variedade de vitaminas e minerais, alguns estudos mostraram contribuição destes na prevenção e tratamento de algumas doenças. O leite de búfala e seus derivados podem ser considerados alimentos altamente nutritivos e benéficos à saúde humana devido ao alto valor biológico de seus constituintes.

A qualidade do leite, além de ser definida pela composição e características físico-químicas é também definida por dois instrumentos que têm sido utilizados como fatores auxiliares na observação da qualidade do leite cru, a contagem bacteriana total (CBT) e a contagem de células somáticas (CCS). Segundo Fonseca & Santos (2000), altos níveis de bactérias e células somáticas têm efeito negativo sobre a qualidade do leite, especialmente no que concerne ao sabor, vida de prateleira e segurança alimentar do produto disponibilizado ao consumidor.

Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar a qualidade do leite de búfalas, utilizando como parâmetro as características físico-químicas, com ênfase no perfil de ácidos graxos, a contagem bacteriana total e a contagem de células somáticas do leite nos terços inicial e final da lactação.

2- MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Obtenção da matéria-prima

Este experimento foi conduzido na Fazenda Divisão, localizada no município de Uruçuca, região Sul da Bahia. O leite utilizado foi obtido de 38 animais de um único rebanho alimentado a pasto, por meio da ordenha mecânica (balde ao pé) de fêmeas bubalinas da raça Murrah, em condições higiênicas adequadas.

As amostras foram coletadas nos meses de junho e outubro de 2007, caracterizando os estágios inicial e final da lactação, respectivamente. Após a ordenha, o leite foi homogeneizado por agitação manual com haste de aço inox, procedendo-se a coleta das amostras em frascos plásticos esterilizado com capacidade para 60 mL contendo pastilha de conservante bronopol para as análises de composição/células somáticas e em outro frasco plástico, com a mesma capacidade, quatro gotas de azidiol para análises de contagem bacteriana total (CBT), sendo essas enviadas ao laboratório Clínica do Leite (ESALQ/USP). Quinhentos mL de leite de cada animal foram também coletados para realização das análises físico-químicas, sendo as amostras resfriadas imediatamente a 4°C e encaminhadas ao Laboratório de Processamento de Leite e Derivados da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia-UESB / Campus Itapetinga.

2.2 - Análises físico-químicas

As análises físico-químicas do leite foram realizadas no momento de chegada à UESB, em duplicata, para: acidez ($^{\circ}\text{D}$), obtida por meio do cálculo do percentual de ácido láctico na amostra pela titulação com NaOH 0,1%; densidade a 15°C, pelo termolactodensímetro de Quevenne e índice crioscópico ($^{\circ}\text{H}$), utilizando crioscópio eletrônico LAKTRON 312-L (Laktron, Londrina, Paraná, Brasil), conforme metodologia descrita por BRASIL (2003). Os teores de proteína, gordura, lactose e extrato seco total e extrato seco desengordurado foram determinados mediante leitura de absorção de luz infravermelha, utilizando-se o equipamento calibrado com leite bovino, Bentley 2000[®] (BENTLEY, 1995a).

2.3- Análise Microbiológica

Para a análise microbiológica do leite foi realizada a contagem bacteriana total pelo equipamento eletrônico, calibrado com leite bovino, Bactocount 150[®] (BENTLEY,1995b).

2.4- Contagem de células somáticas

A contagem de células somáticas foi realizada pelo método de citometria de fluxo pelo equipamento calibrado com leite bovino, Somacount 300[®] (BENTLEY, 2004).

2.5 - Perfil de Ácidos Graxos

Do total dos 38 animais utilizados neste experimento 13, foram selecionados aleatoriamente para determinação do perfil de ácidos graxos presentes no leite de búfalas. A extração de lipídeos com a finalidade de determinação da composição lipídica foi realizada segundo procedimentos estabelecidos por Hara & Radim (1978). O processo foi iniciado com o descongelamento da amostra com posterior centrifugação sob rotação de 17800 G, a 8°C por 30 minutos, para concentração da gordura. Após essa etapa, foram pesados 400 mg de gordura do sobrenadante e adicionado à solução de hexano-isopropanol. A metilação foi feita pelo uso de uma solução metanólica de metóxido de sódio, de acordo com Christie (1982). Uma alíquota de 1 µL do extrato esterificado foi injetada no cromatógrafo e o perfil de ácidos graxos foi determinado por meio da cromatografia gasosa utilizando coluna capilar de sílica fundida SP-2560 (100M X 0,25mm X 0,2mm; Supelco) e detector de ionização de chama (FID). O gás de arraste foi o hidrogênio com fluxo de 40 mL/minuto e 18 psi de pressão na cabeça da coluna.

Os ácidos graxos foram identificados por comparação dos tempos de retenção dos ésteres metílicos das amostras com padrões de ácidos graxos de manteiga. O perfil de ácidos graxos foi expresso em porcentagem do total de ácidos graxos determinados pela análise de cromatografia gasosa.

A determinação e quantificação dos ácidos graxos presentes na fração lipídica extraída de amostras de leite foi realizada no Laboratório de Nutrição e Crescimento da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP).

2-6- Índices da qualidade nutricional dos lipídeos do leite de búfala

A qualidade nutricional da fração lipídica foi avaliada pelos dados de composição em ácidos graxos, empregando-se os seguintes cálculos: Índice de Aterogenicidade a) (IA) = $\{(C12:0 + (4 \times C14:0) + C16:0)\} / (\sum AGMI + \sum \omega 6 + \sum \omega 3)$ e Índice de Trombogenicidade (IT) = $(C14:0 + C16:0 + C18:0) / \{(0,5 \times \sum AGMI) + (0,5 \times \sum \omega 6 + (3 \times \sum \omega 3) + (\sum \omega 3 + \sum \omega 6))\}$, segundo Ulbricht & Southgate (1991); b) razão entre ácidos graxos hipercolesterolêmicos e hipocolesterolêmicos = $(C14:0 + C16:0) / (\text{monoinsaturado} + \text{poliinsaturado})$ e Ácidos Graxos Desejáveis (AGD) = $(\text{insaturados} + C18:0)$ segundo Costa *et al.* (2008); c) razão entre ácidos graxos poliinsaturados e ácidos graxos saturados e razão entre $\omega 6$ e $\omega 3$.

2.7 - Análise Estatística

Foi utilizado o teste t de Student para dados emparelhados, comparando-se as fases inicial e final de lactação para cada variável, ao nível de 5% de significância, por meio do programa estatístico SAEG (RIBEIRO JÚNIOR, 2001).

3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1- Propriedades físico-químicas e composição

Os resultados médios, os desvios-padrão e a comparação de dados entre o início e final da lactação quanto aos parâmetros físico-químicos e composição das amostras de leite de búfala são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas e composição do leite de búfala produzido em diferentes fases de lactação

Parâmetros	Início da lactação		Final da lactação	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
Densidade (15°C)	1,0306 ^a	0,0020	1,0281 ^b	0,0015
Crioscopia (°H)	-0,541 ^a	0,007	-0,542 ^a	0,008
Acidez (°D)	18 ^b	1,71	19 ^a	1,23
Gordura (%)	5,45 ^b	1,39	6,79 ^a	1,47
Proteína (%)	3,88 ^a	0,28	3,80 ^a	0,35
Lactose (%)	5,17 ^a	0,31	4,98 ^b	0,35
Sólidos Totais (%)	15,75 ^b	1,27	16,87 ^a	1,59
ESD ¹ (%)	10,30 ^a	0,40	10,09 ^b	0,51

^{a,b} Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem estatisticamente pelo teste t ao nível de 5% de probabilidade; ¹ESD = Extrato Seco Desengordurado;

A densidade do leite é uma propriedade totalmente dependente da matéria dissolvida e suspensa no corpo em questão. Pode ser observado (Tabela 1) que houve diferença ($p < 0,05$) para a densidade, que apresentou valor inferior na fase final da lactação. Resultados similares foram observados por Mesquita *et al.* (2001) que, avaliando a influência do estágio de lactação na composição do leite bubalino encontraram 1,036, 1,035 e 1,033 para os estágios inicial, médio e final da lactação, respectivamente, ou seja, valores menores na fase mais avançada da lactação. De acordo com Walstra e Jenness (1987), a densidade sofre alterações em função das variações dos componentes do leite, principalmente gordura, pois teores mais elevados desses componentes proporcionam densidades menores. Dessa forma, os dados aqui

apresentados corroboram a afirmação desses autores, pois o teor de gordura no final da lactação (6,79%) foi maior ($p < 0,05$) que o observado no estágio inicial da lactação (5,45%).

A crioscopia, análise que determina o ponto de congelamento do leite, foi um dos parâmetros que não apresentou diferença estatística ($p > 0,05$) entre as fases de lactação estudadas. Os valores observados variaram de $-0,543^{\circ}\text{H}$ a $-0,526^{\circ}\text{H}$. Resultados médios diferentes foram encontrados por Nader Filho *et al.* (1996) que observaram valores de $-0,577^{\circ}\text{H}$ no terço inicial da lactação e $-0,576^{\circ}\text{H}$ no terço final da lactação para o índice crioscópico.

A acidez Dornic foi ligeiramente superior àqueles obtidos pela titulação de leite bovino. Para esse parâmetro, os valores são mais elevados que os encontrados no leite de bovino devido à caseína, que por conter dezenas de aminoácidos com características anfotéricas age como ácido na titulação (NADER FILHO *et al.*, 1996). Melício *et al.* (2005), avaliando o leite de búfalas em São Paulo, observaram valores entre 14°D e 17°D . Por sua vez, Benevides *et al.* (2001), estudando o comportamento do leite bubalino na Bahia, encontraram valor médio para acidez titulável de $14,18^{\circ}\text{D}$. Assim, os dados aqui apresentados diferem do observado por Benevides *et al.* (2001), visto que os valores médios variaram de 18°D (início da lactação) a 19°D (final da lactação), conforme o estágio de lactação (Tabela 1), contudo, encontram-se dentro do padrão para leite bubalino de 14 a 23°D (SÃO PAULO, 1994).

Os teores de proteína não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$) quanto à fase de lactação (3,88% no início e 3,80% no final), diferindo dos resultados encontrados por Fernandes (2004), que observou influência do mês de lactação sobre a porcentagem de proteína bruta no leite, com valores médios de 4,04 % no início e 4,62% no final da lactação. De forma geral, estes resultados são esperados, visto que a porcentagem de alguns componentes do leite se eleva ao longo da lactação pois à medida que a produção diminui, ocorre a concentração de alguns compostos do leite.

Em relação ao teor de gordura no leite, foi observada diferença estatística ($p < 0,05$) entre as fases de lactação. Os resultados encontrados foram de 5,45% e 6,79% para os estágios inicial e final, respectivamente. Dessa forma, os dados aqui encontrados corroboram as observações de Faria *et al.* (2002), que avaliaram o comportamento da composição físico-química do leite de búfala ao longo da lactação e encontraram diferença estatística entre as médias do início (6,2%) e do final (8,2%), assim como, com Fernandes (2004) que observaram teores mais elevados de gordura no leite no final da lactação (7,62%), quando comparados com o estágio inicial (7,08%). É de se esperar que a porcentagem de gordura se eleve ao longo da lactação,

pois à medida que a produção cai ocorre elevação da concentração de alguns compostos, dentre eles a gordura (FERNANDES, 2004). O teor de gordura do leite apresenta também grande variação dependente de fatores nutricionais (Fonseca & Santos, 2000). Outro fator que pode ter elevado o teor de gordura no leite é o fato de que os animais encontravam-se em balanço energético positivo no final da lactação, ou seja, o consumo de matéria seca pelo animal é superior às necessidades de manutenção e produção, disponibilizando energia para a síntese de gordura.

O menor teor de lactose (4,98%) observado na fase final da lactação pode ser explicado pela menor produção de leite neste estágio. A lactose está diretamente associada ao volume de leite produzido devido sua relação com a regulação da pressão osmótica da glândula mamária (FONSECA & SANTOS, 2000). A porcentagem média encontrada foi similar aos resultados de Mesquita *et al.* (2001), assim como aos observados por Fernandes (2004), cujo valor no início da lactação foi de 5,18% e 4,58% ao final.

Para os teores de sólidos totais (ST) e extrato seco desengordurado (ESD), notou-se comportamento proporcional aos observados para os componentes do leite. Assim, os valores médios de ST aumentaram ($p < 0,05$) no final da lactação (16,87%) quando comparados ao início da lactação (15,75%). Foi verificada, também, diferença estatística ($p < 0,05$) para o ESD entretanto, no início, o mesmo foi maior (10,39%) quando comparado ao final (10,09%). Esse comportamento é semelhante ao observado por Fernandes (2004), que correlacionou positivamente o teor de sólidos totais com os teores de gordura (0,84) e proteína (0,24) e negativamente com o teor de lactose (-0,30), que por sua vez, correlacionou-se negativamente com a gordura (-0,41) e proteína (-0,55).

3.2- Perfil de ácidos graxos do leite de búfalas

O período de lactação das búfalas influenciou o perfil de alguns ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados do leite (Tabela 2). O ácido palmítico (C16:0) foi o ácido graxo saturado que mais contribuiu para a composição total dos ácidos graxos, não sendo esse influenciado pela fase de lactação. O ácido oléico (C18:1 cis 9) teve maior participação entre os ácidos monoinsaturados, seguido do linoléico (C18:2 cis 9 cis 12) que, dentre os poliinsaturados, foi o de maior representatividade. Esses resultados foram semelhantes aos de Verruma *et al.* (1993), que encontraram maiores concentrações de ácidos graxos saturados de cadeia longa como palmítico (38%), seguido de ácido oléico (25,8%) e esteárico (16,3%).

Na fase inicial da lactação das búfalas, o leite apresentou maior proporção de ácidos graxos saturados (67,1%) quando comparado à fase final de lactação (62,29%). Esse perfil é fortemente influenciado pelo período de lactação em razão da necessidade de mobilização de reservas lipídicas no início da lactação (DE PETERS & CANT, 1992), o que contribui para a composição do leite de ruminantes apresentar predominância de ácidos graxos saturados, pois os lipídios do tecido adiposo dos ruminantes geralmente são mais saturados do que os lipídios do tecido dos não ruminantes, devido à biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos insaturados (DRACKLEY *et al.*, 2000).

Segundo Palmquist *et al.* (1993), a gordura do leite contém ácidos graxos derivados da síntese *de novo* pela glândula mamária, principalmente os que apresentam de 4 a 14 carbonos em sua cadeia. Os teores médios detectados neste estudo para esses ácidos graxos foram influenciados pela fase de lactação ($p < 0,05$), com exceção do ácido butírico (C4:0) que foi semelhante ($p > 0,05$) entre as fases. Segundo De Peters & Cant (1992), o ácido butírico é próprio da gordura do leite dos ruminantes, sendo responsável, juntamente com o capríico (C6:0), pelo aroma característico do leite quando são hidrolisados do glicerol pela ação das lipases. Em leite de ruminantes, os ácidos graxos de cadeia curta e média correlacionam-se negativamente com os de cadeia longa (PALMQUIST *et al.*, 1993). Assim, o teor do conjunto de ácidos graxos com 18 ou mais átomos de carbono foi de 44,51% no início e 44,79% no final da lactação, resultados inferiores aos observado por Fernandes (2005), que encontrou valores variando de 46,06% a 53,84%.

Os ácidos graxos de cadeia ímpar refletem a síntese de ácidos graxos de origem microbiana, que são produzidos a partir da utilização do propionato (EIFERT *et al.*, 2006). Considerando estes ácidos graxos, observou-se que a fase de lactação apresentou efeito ($p < 0,05$) somente para o ácido margárico (C17:0), não apresentando influência sobre o ácido pentadecílico (C15:0).

Tabela 2 – Perfil de ácidos graxos do leite de búfala produzido em diferentes fases de lactação

Ácidos graxos	Início da lactação (%)	Final da lactação (%)
Saturados	67,15^a	62,28^b
C4:0	3,38 ^a	3,19 ^a
C6:0	1,17 ^a	1,07 ^b
C8:0	0,48 ^a	0,41 ^b
C10:0	0,92 ^a	0,75 ^b
C12:0	1,36 ^a	1,17 ^b
C14:0	8,52 ^a	7,93 ^b
C15:0	2,86 ^a	2,96 ^a
C16:0	28,64 ^a	28,56 ^a
C17:0	2,45 ^a	1,80 ^b
C18:0	17,37 ^a	14,44 ^b
Monoinsaturados	24,29^b	26,88^a
C14:1 <i>cis</i> 9	0,34 ^b	0,48 ^a
C16:1	1,53 ^b	2,45 ^a
C17:1	1,09 ^a	1,03 ^a
C18:1 <i>trans</i> 6-8	0,26 ^a	0,24 ^a
C18:1 <i>trans</i> 9	0,42 ^a	0,53 ^a
C18:1 <i>trans</i> 11	0,39 ^a	0,40 ^a
C18:1 <i>trans</i> 12	3,09 ^a	2,92 ^a
C18:1 <i>cis</i> 9	18,97 ^a	21,52 ^a
C18:1 <i>cis</i> 11	0,65 ^a	0,76 ^a
C18:1 <i>cis</i> 12	0,27 ^a	0,28 ^a
C18:1 <i>cis</i> 13	0,23 ^a	0,22 ^a
C18:1 <i>trans</i> 16	0,20 ^a	0,19 ^a
C20:1	0,11 ^a	0,14 ^a
C22:1	0,05 ^a	0,05 ^a
Poliinsaturados	2,5^a	3,1^a
C18:2 <i>cis</i> 9 <i>cis</i> 12	0,80 ^a	0,93 ^a
C18:3 ω-6	0,25 ^a	0,24 ^a
C18:3 ω-3	0,56 ^b	0,66 ^a
C18:2 <i>cis</i> 9 <i>trans</i> 11 (CLA)	0,75 ^b	1,10 ^a
C20:4 ω-6	0,08 ^a	0,09 ^a
C20:5 ω-3	0,05 ^a	0,06 ^a

^{a,b}Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem estatisticamente pelo Teste t, ao nível de 5% de probabilidade

Alguns ácidos graxos como láurico, mirístico e palmítico (C12:0, C14:0 e C16:0, respectivamente) presentes no leite estão relacionados à problemas cardiovasculares (LOCK & GARNSWORTHY, 2003). Desse modo, a diminuição do teor desses ácidos graxos tem sido almejada no intuito de melhorar a imagem, junto à opinião pública, dos produtos de origem animal. Os resultados médios encontrados para o conjunto destes ácidos graxos, neste trabalho, foram de 38,52% para a fase inicial de lactação e 37,66% para a fase final. Resultados semelhantes foram encontrados por Fernandes (2004) com valores médios variando de 32,47% a 42,96%, em função da fazenda avaliada.

Os resultados para o conjunto de ácidos graxos hipercolesterolêmicos (C12:0, C14:0 e C16:0) observados neste trabalho, de forma geral, são inferiores aos reportados em estudo com leite bovino, como o apresentado por Palmquist *et al.* (1993) que encontraram 47,4% e Souza *et al.* (2003), que citaram valor de 46,69%.

A fase de lactação influenciou ($p < 0,05$) o teor de ácido esteárico (C18:0) que apresentou maior média no início da lactação (17,37%), quando comparado com o final da lactação (14,44%). Estas médias foram superiores ao encontrados na literatura para leite de búfala. Fernandes (2004) e Mihaylova & Peeva (2007) encontraram valores médios de 10,65% e 10,58%, respectivamente. Segundo Monteiro (1998), o ácido esteárico, ao contrário de outros ácidos graxos saturados, não está relacionado ao aumento de colesterol pois, quando ingerido, é metabolizado a ácido oléico (C18:1). Dessa maneira, teores mais elevados encontrados podem ser favoráveis à dieta do homem, exaltando a qualidade do leite estudado.

Os ácidos graxos insaturados são extremamente importantes na saúde humana, sendo seus principais efeitos relacionados à redução do colesterol total e lipoproteínas de baixo peso molecular (LDL), sem reduzir as lipoproteínas de alta densidade (HDL) (MIHAYLOVA & PEEVA, 2007). Para os ácidos graxos monoinsaturados, houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre as fases de lactação, onde a fase inicial apresentou menor porcentagem (24,29%) em relação à fase final (26,88%). Dentre esses ácidos graxos, o que mais contribuiu para o total de monoinsaturados foi o C18:1 *cis* 9 (um dos isômeros do ácido oléico), com valores médios de 18,97% no início da lactação, e 21,52% no final ($p > 0,05$). Valores semelhantes foram verificados por Mihaylova & Peeva (2007), com resultados médios de 18,79% do C18:1 *cis* 9. Entretanto, Fernandes (2004) encontrou valor superior aos aqui relatados, apresentando média entre as fazendas estudadas de 21,86%.

Nos processos industriais de margarina, há aumento dos isômeros *trans* do C18:1 que, muitas vezes, atingem 40-50% dos ácidos graxos totais, sobretudo o ácido C18:1 *trans*-9, que tem seus efeitos sobre as doenças coronarianas extrapolados para

os demais isômeros *trans* do C18:1 (EIFERT *et al.*, 2006). Lock & Bauman (2003) relataram evidências de que, ao contrário do consumo de gorduras hidrogenadas de origem vegetal, o consumo do ácido graxo C18:1 *trans*-11 é negativamente correlacionado ao risco de doenças coronarianas. Os valores encontrados para os isômeros *trans* do C18:1, neste estudo, foram de 4,36% no início da lactação e 4,28% para o final da lactação. Mihaylova & Peeva (2007) encontraram valores variando de 1,75% a 3,14%. Segundo Van Nieuwenhove *et al.* (2005), esse isômero apresenta fundamental importância devido a sua atuação como substrato para produção do ácido linoléico conjugado (CLA).

No geral, para os ácidos graxos poliinsaturados, não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$) entre as fases de lactação. No entanto, alguns ácidos deste grupo como o α -linolênico (18:3 ω -3) e o linoléico conjugado (18:2 *cis*-9 *trans* 11) apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$), com maiores concentrações na fase final de lactação.

Estudos têm sugerido correlação positiva entre os ácidos graxos poliinsaturados ω -3 e baixa incidência de doenças cardiovasculares (EIFERT *et al.*, 2006). O teor médio de α -linolênico no leite de búfala encontrado foi de 0,56% na fase inicial e 0,66% no final da lactação. Valores inferiores foram reportados por Fernandes (2004) e Mihaylova & Peeva (2007) com 0,34% e 0,33% de C18:3 ω -3, respectivamente

O CLA pode ser sintetizado a partir da incompleta biohidrogenação ruminal do ácido linoléico e pela conversão endógena do ácido vacênico, outro ácido graxo intermediário do processo de biohidrogenação, pela enzima delta-9-dessaturase na glândula mamária (FERNANDES, 2004). O efeito da fase de lactação foi observado sobre os teores de CLA, isômero C18:2 *cis* 9 *trans*11, no leite de búfala, apresentando valores de 0,75% no início da lactação e 1,10% no final da lactação. Mihaylova e Peeva (2007) encontraram baixos valores de CLA no leite de búfalas, 0,38% da gordura, e o isômero biologicamente ativo também foi o *cis*-9, *trans*-11, perfazendo 80% do total. A concentração de CLA na gordura do leite é dependente da presença de ácidos graxos insaturados na dieta (GRIINARI *et al.*, 1996). Provavelmente, essa foi a razão para o leite de búfala apresentar maior conteúdo de CLA no final da lactação, tendo em vista a maior disponibilidade de forragem no mês de outubro e, conseqüentemente, maior quantidade dos precursores, ácidos graxos insaturados, para sua produção.

O nível do CLA nos produtos lácteos é relativamente alto. A concentração típica de CLA na gordura do leite bovino é de 0,3 a 0,6%, porém, podem ocorrer grandes variações entre os rebanhos leiteiros (GRIINARI *et al.*, 1996).

O ácido linoléico conjugado (CLA), uma mistura de isômeros geométricos e posicionais do ácido octadecadienóico com duplas ligações conjugadas, vem sendo considerado benéfico para a saúde do homem devido às suas propriedades anticarcinogênicas e metabólicas. Em ruminantes, os principais isômeros encontrados são o C18:2 *cis* 9 *trans* 11, envolvido em ação anticarcinogênica, e o isômero C18:2 *trans* 10 *Cis* 12, particularmente envolvido na regulação da síntese de gordura no organismo, sendo os únicos a terem atividade biológica reconhecida (FERNANDES, 2004). Os efeitos biológicos/fisiológicos dos isômeros de CLA no organismo estão relacionados com a inibição da carcinogênese, redução da aterosclerose, deposição de gordura corporal, aumento da deposição de tecido magro, assim como na modulação do sistema imune (BAUMAN, 2002). O homem pode converter até 19% do ácido vacênico em ácido rumênico (C_{18:2c9i11}). Dessa forma, a aumento deste ácido graxo no leite também é necessário como forma de contribuir com a ingestão de elemento nutracêutico (TURPEINEN *et al.*, 2002).

O perfil lipídico avaliado por diferentes índices encontra-se descrito na tabela 3. Foi observada diferença estatística ($p < 0,05$) entre as fases de lactação para a razão, ácidos graxos poliinsaturados e saturados (P/S), que apresentaram valores de 0,03 e 0,05 no início e final da lactação, respectivamente. Alimentos que apresentam esta razão de P/S abaixo de 0,45 têm sido considerados como indesejáveis na dieta (DHSS, 1984). Segundo Santos-Silva *et al.* (2002), a relação entre ácido graxo poliinsaturado e saturado é normalmente utilizada para avaliar o valor nutricional da gordura. No entanto, a relação P/S é baseada somente na estrutura química do ácido graxo, podendo não ser o melhor caminho para se avaliar o valor nutricional da gordura, uma vez que se considera que todos os ácidos graxos saturados induzem ao aumento de colesterol e ignoram os efeitos dos ácidos graxos monoinsaturados. Assim, os autores recomendam que a melhor maneira de avaliar o valor nutricional da gordura seria a utilização de relações baseadas nos efeitos funcionais dos ácidos graxos como, por exemplo, a proporção entre ácidos graxos hipercolesterolêmico / hipocolesterolêmico.

O leite de búfala do estágio final de lactação apresentou média superior de ácidos graxos desejáveis (AGD), com 49,41%, demonstrando superioridade, do ponto de vista nutricional em relação ao leite do estágio inicial de lactação que obteve 45,63%. Segundo Costa *et al.* (2008), a maior concentração de AGD se deve aos processos de biohidrogenação ruminal, relacionado com o ácido esteárico (C18:0) que compõe, junto aos ácidos graxos insaturados, os ácidos graxos desejáveis.

Na relação hipercolesterolêmicos/hipocolesterolêmicos, foi observada diferença estatística ($p < 0,05$) entre as fases de lactação, com índices de que apresentou 1,18 e 1,02 nas fases inicial e final, respectivamente. Valores baixos para essa relação são desejáveis sob o ponto de vista nutricional.

Tabela 3 - Índices de qualidade nutricional da fração lipídica do leite de búfalas produzidos em diferentes fases de lactação

Componente	Início da lactação	Final da lactação
AGP/AGS	0,03 ^b	0,05 ^a
AGD	45,63 ^b	49,41 ^a
Hiper/Hipo	1,18 ^a	1,02 ^b
$\omega 6/\omega 3$	0,54 ^a	0,48 ^a
IA	2,46 ^a	1,90 ^b
IT	3,25 ^a	2,53 ^b

^{a,b}Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem estatisticamente pelo teste t ao nível de 5% de probabilidade; AGP/AGS = ácidos graxos poliinsaturados/ácidos graxos saturados; AGD = ácidos graxos desejáveis; Hiper/Hipo = hipercolesterolêmicos/hipocolesterolêmicos; $\omega 6/\omega 3$ = série ômega 6/ série ômega 3; IA = índice de aterogenicidade; IT = índice de trombogenicidade.

Não foi verificado efeito da lactação ($p > 0,05$) sobre a razão $\omega 6/\omega 3$, que apresentou valores de 0,54 na fase inicial e 0,48 na fase final. Contudo, estes índices foram satisfatórios, pois de acordo com DHSS (1984), valores abaixo de 4,0 sugerem quantidades desejáveis à dieta para a prevenção de riscos cardiovasculares.

O índice de aterogenicidade indica a razão entre a soma dos principais ácidos graxos saturados e a soma dos principais insaturados. Esse índice no leite de búfala foi de 2,46 e 1,9 para a fase inicial e final de lactação, respectivamente, sendo esta diferença significativa ($p < 0,05$). Na literatura, não são encontradas referências que avaliam esses índices, principalmente no que se refere a leite de búfala. Entretanto, Fernandes *et al.* (2008) avaliando o perfil de ácidos graxos no leite de cabras mestiças, encontraram valores variando de 1,45 a 2,77, sendo essa oscilação decorrente da dieta recebida pelos animais.

Para definir o índice de trombogenicidade (IT), são considerados os ácidos graxos mirístico, palmítico e esteárico como pró-trombogênicos, enquanto os insaturados são admitidos como antitrombogênicos com diferentes potencialidades, isto é, os ácidos graxos monoinsaturados e ácidos graxos poliinsaturados ω -6 são menos antitrombogênicos que o ácido graxo poliinsaturado ω -3 (ULBRICHTH & SOUTHAGE, 1991). Os valores encontrados neste trabalho, para este índice

apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) entre as fases de lactação, estando à fase final com valores menores (2,53) que à fase inicial de lactação (3,25).

3.3- Características microbiológicas e contagem de células somáticas no leite de búfalas

Os valores médios encontrados para contagem bacteriana total e contagem de células somáticas nas amostras de leite de búfalas são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Valores médios e desvio padrão da contagem de células somáticas e contagem bacteriana total do leite de búfalas em diferentes fases de lactação

Parâmetros	Início da lactação	Final da lactação
CCS ¹ (x mil/mL)	42±71 ^b	94±150 ^a
CBT ² (x mil UFC/mL)	175±110 ^a	178±150 ^a

^{a,b} Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem estatisticamente pelo teste t ao nível de 5% de probabilidade; ¹CCS = Contagem de Células Somáticas; ²CBT = Contagem Bacteriana Total

Os valores médios observados para a CCS encontram-se dentro dos padrões exigidos na legislação para leite bovino (BRASIL, 2002). Entretanto, segundo Amaral (2005), os padrões hoje utilizados para avaliar a qualidade do leite, baseado na CCS do leite de vacas, não podem ser aplicados ao leite bubalino, pois o leite de búfala apresenta valores diminutos quando comparado ao leite bovino. Essa atribuição dada à espécie bubalina se deve à maior resistência da glândula mamária em seus aspectos anatômicos e fisiológicos (ARAÚJO & GHELLER, 2005).

Silva & Silva (1994) citam que os valores médios das contagens de células somáticas no leite normal de búfalas apresentam resultados variáveis, situando-se entre 50.000 e 375.000 células/mL, com média de 140.000 células/mL. Fernandes (2004), estudando a variação da composição de leite bubalino ao longo da lactação, observou valor médio de 126,5 mil células somáticas/mL.

Os resultados observados neste trabalho para a CCS diferiram estatisticamente ($p < 0,05$) de acordo com a fase de lactação, encontrando-se assim valores superiores no estágio final de lactação (94 mil células/mL) quando comparado à fase inicial (42 mil células/mL). O mecanismo fisiológico que envolve a CCS em úberes não infectados está relacionado com o volume de produção do leite e a conseqüente diluição das células somáticas. Como o volume de leite decresce no final da lactação observa-se, aparentemente, que o incremento do número de células pode ocorrer em virtude da

concentração de células em volume menor de leite produzido (O'ROURKE & BLOWEY, 1992).

Resultados diferentes foram encontrados por Singhi & Ludri (2001), que não contataram diferença estatística entre estágio da lactação e entre lactações, apresentando contagem média de 100 mil células/mL contudo, a variação da CCS apresentou correlação negativa com a produção do leite. Dhakal (1992), ao comparar o leite normal de búfalas de amostras provenientes de animais com uma semana pós-parto e animais com uma a duas semanas antes da secagem, observou que a CCS era maior nos animais pertencentes ao primeiro grupo. Porém não havendo diferença significativa entre os dois grupos. Cerón-Muñoz *et al.* (2002) verificaram aumento na CCS com o avançar da lactação, assim corroborando, os resultados obtidos neste trabalho.

A determinação da quantidade de células somáticas presentes no leite é um dos parâmetros mais usados para a avaliação da saúde do úbere e da qualidade do leite. Em vacas, a CCS de até 200 mil cél/mL indica glândula mamária sadia (KITCHEN, 1981). Em búfalas, este parâmetro não se encontra estabelecido, todavia, a média de CCS neste leite, varia entre 63 e 126,5 mil cél/mL (CERON-MUÑOZ *et al.*, 2002; JORGE *et al.*, 2005). Amaral (2005), ao estudar a CCS em amostras de leite individuais e do rebanho total de búfalas, encontrou valores médios de CCS de 24.000 células/mL e 22.000 células/mL, respectivamente. Esta baixa CCS pode ser considerada como reflexo do bom estado de saúde do úbere com conseqüente produção de leite de boa qualidade.

Na Tabela 5, pode-se observar a ocorrência da contagem de células somáticas, distribuídas em faixas de valores. Nota-se uma maior concentração (51,3%) da CCS com resultados menores que 20.000 células/mL. A freqüência de amostras com contagens superiores a 80.000 células/mL somaram 19,7%. Segundo Galiero & Morena (2000), os baixos valores de CCS para leite de búfala quando comparados ao leite bovino não indicam necessariamente a ausência de infecção intramamária, sendo a contagem considerada normal entre 50.000 e 100.000 células somáticas/mL.

Não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$) para a CBT (Tabela 4) em relação ao estágio de lactação. Os valores médios encontrados foram de $17,5 \times 10^4$ e $17,8 \times 10^4$ para as fases inicial e final, respectivamente. Baseado na Instrução Normativa N°51 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, o leite deve ser refrigerado na propriedade e possuir contagem de microrganismos mesófilos máxima de 1×10^6 , UFC/mL (BRASIL, 2002). De acordo com Fonseca & Santos (2000), a CBT do leite é dependente da concentração bacteriana inicial e da taxa de multiplicação dos microrganismos, estando estas variáveis relacionadas com higiene

de ordenha, saúde da glândula mamária, limpeza dos utensílios e equipamentos e qualidade da água.

Tabela 5 - Distribuição da contagem de células somáticas (mL) de 76 amostras de leite de búfalas nos estágios inicial e final da lactação

Faixa de contagem de células somáticas (cel/ml)	Ocorrência (%)
<20.000	51,3
21.000 a 40.000	11,8
41.000 a 60.000	6,6
61.000 a 80.000	10,6
> 80.000	19,7

Mesquita *et al.* (2001) encontraram valores inferiores aos deste estudo, com contagens médias de $8,5 \times 10^2$ UFC/mL. Vieira *et al.* (1994) observaram que o manejo de ordenha afetou a CBT, independente da estação do ano. O tratamento controle no qual as condições de higiene eram insatisfatórias, revelou contagens de 456 UFC/mL e 826 UFC/mL, no período de menor e de maior concentração de chuvas, respectivamente, apresentando o maior número UFC/mL; por outro lado, o manejo no qual os tetos eram banhados com solução bactericida após a ordenha, o número de UFC/mL foi de 20,7 UFC/mL e 50,5 UFC/mL, nos períodos de menor e de maior concentração de chuvas, respectivamente.

A distribuição das amostras de leite de búfala não apresentou contagens superiores a 10^5 . A maior ocorrência (36,6%) das contagens encontrou-se na faixa com valores menores que 100.000 UFC/mL (Tabela 6).

Tabela 6 - Distribuição da contagem bacteriana total (UFC/mL) de 76 amostras de leite de búfalas nos estágios inicial e final da lactação.

Faixa de contagem bacteriana total (UFC/ml)	Ocorrência (%)
<100.000	36,6
101.000 a 200.000	22,3
201.000 a 300.000	21,5
301.000 a 400.000	13,1
> 400.000	6,5

Fonseca *et al.* (2004), avaliando leite bovino, encontraram 33,4% de amostras apresentando CBT abaixo de 10^5 UFC/mL. No mesmo estudo, 24,6% das amostras ficaram acima de 10^6 . De acordo com Mesquita *et al.* (2001), o leite de búfala possui

atividade antibacteriana maior que o leite bovino, pelo fato de possuir maior teor de lactoferrina, substância que mantém o ferro iônico indisponível às bactérias. Bhatia & Valsa (1994) relataram que o teor de lactoferrina no leite de búfalas (0,320 mg/mL) é maior que o encontrado no leite bovino holandês (0,037 mg/mL). De fato, a glândula mamária da búfala possui um conjunto de fatores de defesa que a protegem dos agentes causadores de infecções (AMARAL & ESCRIVÃO, 2005) contudo, é necessário que o processo de ordenha seja higiênico, assim como os cuidados com o leite depois da ordenha, buscando-se ao máximo a minimização de contaminação do mesmo.

4- CONCLUSÃO

O leite de búfala sofreu influência do estágio de lactação para alguns parâmetros estudados, sendo observado aumento na acidez titulável, teor de gordura, sólidos totais e células somáticas, enquanto que para densidade, lactose e sólidos não gordurosos notou-se diminuição dos valores no final da lactação em relação ao início.

A contagem bacteriana total não foi afetada pela fase de lactação.

No total de ácidos graxos presentes no leite de búfala, foram encontradas maiores concentrações de ácidos saturados no início da lactação. No final da lactação, houve aumento da concentração de ácidos monoinsaturados.

Na avaliação da qualidade nutricional da fração lipídica, o leite de búfala da fase final de lactação apresentou maior relação de ácidos graxos poliinsaturados/ ácidos graxos saturados, menor relação de ácidos hipercolesterolêmicos/ hipocolesterolêmicos, maior teor de ácidos graxos desejáveis e menores índices de aterogenicidade e trombogenicidade. Portanto, o leite de búfala da fase final de lactação mostrou-se, nutricionalmente, mais adequado ao consumo alimentar.

5-REFERÊNCIAS

- ABCB. Associação Brasileira dos Criadores de Búfalos. **Búfalo.com.br**. Disponível em <http://www.bufalo.com.br/>. Acessado em 10/09/2008.
- ALBERTAZZI, P.; COUPLAND, K. Polyunsaturated fatty acids. Is there a role in postmenopausal osteoporosis prevention. **Maturitas**, v.42, n.1, p.13–22, 2002.
- AMARAL, F. R. Fatores que interferem na contagem de células somáticas e constituintes do leite de búfalas. 2005. 46p. **Dissertação de Mestrado**. Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- AMARAL, F. R.; ESCRIVÃO, S. C. Aspectos relacionados à búfala leiteira. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.29, n.2, p.111-117, abril-jun. 2005.
- ARAÚJO, D. K. G.; GHELLER, V. A. Aspectos morfológicos, celulares e moleculares da imunidade da glândula mamária de búfalas (*Bubalus bubalis*): revisão de literatura. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v.29, n.2, p.77-83, abril-jun. 2005.
- BAUMAN, D.E. **Conjugated Linoleic Acid (CLA) and Milk Fat: A Good News Story**. Department of Animal Science, Cornell University, Ithaca, 2002, 56 p.
- BENEVIDES, C. M. Leite de búfala: qualidades tecnológicas. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.12, n.54, p.18-21, mar. 1998.
- BENEVIDES, C.M.J.; TRIGUEIRO, I.N.; SANTOS, M.A.F. Estudo da variação da produção e do teor de gordura, do leite de búfala (Raça Murrah) na microregião de Catu-Ba em 165 dias de lactação. **Higiene Alimentar**. São Paulo, v. 15, n. 80-81, p. 100-105, jan-fev. 2001.
- BENTLEY INSTRUMENTS. **Bentley 2000**: operator's manual. Chaska, 1995a. 77p.
- BENTLEY INSTRUMENTS. **Somacount 300**: operator's manual. Chaska, 1995b. 12p.
- BENTLEY INSTRUMENTS. **Bactocount 150**: operator's manual. Chaska, 2004. 35p.
- BERNARDES, O. Buffalos breeding in Brasil. **Italian Journal Animal Science**, Firenze, v. 6, Supplement 2, part 1. p.162-167, 2007.
- BHATIA, K. L; VALSA, C. Lactoferrina level in buffalo milk. **World Buffalo Congress IV**. São Paulo, p.168-170, 1994.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite tipo A, Leite tipo B, Leite tipo C, Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado**. Instrução Normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos para Controle de Leite e Produtos Lácteos**. Instrução Normativa nº. 22, de 14 de abril de 2003.

CERON-MUÑOZ, M.; TONHATI, H.; DUARTE, J. M. C. Contagem de células somáticas e produção de leite em bubalinos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.57, n.324, p.8-10, mai-jun. 2002.

CERQUEIRA, M. M. O. P. Qualidade do leite. **VI Encontro de atualização em pecuária de leite das regiões Oeste e Sudeste do Estado de Minas Gerais**. 19 a 20 de julho de 1995. Bambuí.

CHRISTIE, W. W. A simple procedure for rapid transmethylation of glicerolipidis and cholesterol ester. **Journal of Lipid Research**, v. 23, p. 1072, 1982.

COSTA, R. G.; MESQUITA, I. V. U.; QUEIROGA, R. C. R.E.; MEDEIROS, A. N.; CARVALHO, F. F. R.; BELTRÃO FILHO, E. M. Características químicas e sensoriais do leite de cabras Moxotó alimentadas com silagem de maniçoba. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.37, n.4, p.694-702, set. 2008.

CUNHA NETO, O. C. Avaliação físico-química e sensorial do iogurte natural produzido com leite de búfala contendo diferentes níveis de gordura. **Dissertação de Mestrado**. 71p. Universidade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos de São Paulo. Pirassununga. 2003.

DE PETERS, E. J., CANT, J. P. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: A Review. **Journal Animal Science**, Savoy, v.75, p. 2043-2050. 1992,

DHAKAL, I. P.; KAPUR, M. P.; SHARMA, A. Significance of differential somatic cell counts in milk for the diagnosis of subclinical mastitis in buffaloes using foremilk and strippings milk. **Indian Journal Animal Health**, New Delhi, v.31, p.39-42, 1992.

DEPARTMENT OF HEALTH AND SOCIAL SECURITY (DHSS). **Diet and cardiovascular disease. Report health and social subjects**, n.28, London, HMSO, 1984.

DRACKLEY, J. K. Lipid metabolism. *In*: D' MELLO, J. P. F.(Ed.). **Farm animal metabolism and nutrition**. Edinburg: CAB International. 2000. p.97-119.

EIFERT, E. C.; LANA R. P.; LANNA, D. P. D.; LEOPOLDINO, W. M.; ARCURI, P. B.; LEÃO, M. I.; COTA, M. R.; VALADARES FILHO, S. C. Perfil de ácidos graxos do leite de vacas alimentadas com óleo de soja e monensina no início da lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.35, n.1, p.219-228, out. 2006.

FARIA, M. H.; TONHATI, H.; CERON MUNOZ, M.; DUARTE, J.M.C.; VASCONCELLOS, B. F. Características do leite de búfalas ao longo da lactação. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, n.324, v.54, p.2-7, mai-jun. 2002.

FERNANDES, S. A. A. Levantamento exploratório da produção, composição e perfil de ácidos graxos do leite de búfalas em cinco fazendas do Estado de São Paulo. **Tese de Doutorado**. 98p. Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2004.

FERNANDES, M. F., QUEIROGA, R. C. R. E.; MEDEIROS, A. N., COSTA, R. G.; BOMFIM, M. A.; BRAGA, A. Características físico-químicas e perfil lipídico do leite de cabras mestiças Moxotó alimentadas com dietas suplementadas com óleo de

semente de algodão ou de girassol. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.37, n.4, p.703-710, set. 2008.

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

FONSECA L, M.; RODRIGUES, R.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; LEITE, M. O; PENNA, C. F. A. M; SOUZA, M. R.; FONSECA, C. S; SOARES, C. F.; ALMEIDA, I. N. Contagem de células somáticas e composição de leite cru granelizado do estado de Minas Gerais. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora (MG), v. 59, n. 339, p. 485-488, jul-ago. 2004.

GALIERO, G.; MORENA, C. The meaning of the somatic cell count in buffalo milk. **Bubalus bubalis**, Roma, v.1, n.1, p.26-27, 2000.

GRIINARI, J. M; DWYER, D. A; MCGUIRE, M. A. Partially hydrogenated fatty acids and milk depression. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.79, suppl.1, p.177- 185, 1996.

GUTIERREZ, C. V.; SENO, L.O.; CARVALHO, M. R. B.; DRAKSLER, D.; PESCE, A.. R. H., OLIVEIRA, J. A.; TONHATI, H. Métodos para determinação de gordura, proteína e sólidos totais em leite de búfalas. **Revista do Instituto de laticínio Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.60, n. 346-347, p. 25-30, set-dez. 2005.

HARA, A; RADIM, N. S. Lipid extration of tissues with low toxyty solvent. **Analytical Biochemistry**, New York, v.90, p.420-426, 1978.

JORGE, A M.; ANDRIGUETTO, C.; STRAZZA, M. A. B; CORREA, R. de C.; KASBURGO, D. G.; PICCININ, A.; VICTÓRIA, C.; DOMINGUES, P. F. Correlação entre *Califórnia Mastitis Test (CMT)* e a contagem de células somáticas no leite de búfalas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.34, n.6, p.2039-2045, 2005.

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

LOCK, A.L.; BAUMAN, D.E. Dairy products and milk fatty acids as functional food components. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, Ithaca, 1993. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, 2003, p.159-173.

LOCK, A; GARNSWORTHY, J. H. Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid and Δ^9 dessaturase activity in dairy cows. **Livestock Production Science**, New York, v. 79, p.47-59, 2003.

MELÍCIO, S. P. L. CARVALHO, M. R. B. C; MUNARI, D. P; TONHATI, H. Perfil da proteína e da gordura do leite de búfala da raça murreh na região de São Carlos-SP. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, n.346-347, v.60, p. 71-78, set-dez. 2005.

MELLO, A.P.M. Alimentos nutracêuticos. Hud.unb.br. Disponível em: <http://www.hub.unb.br/informacoes/nutraceuticos.htm>. Acessado em 11/07/2008.

MESQUITA, A. J.; TANEZINI, C. A. FONTES, M. I.; PONTES, I. S.; ROCHA, J. M.; SOUZA, J. T.; D'ALESSANDRO, W. T. **Qualidade físico-química e microbiológica do leite cru bubalino**. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, 2002, 77p.

MIHAYLOVA, G.; PEEVA, T. Trans fatty acids and conjugated linoleic aci in the buffalo milk. **Italian Journal Animal Science**, Firenze, Supplement 2, part 1, v. 6, p. 1056-1059, 2007.

MONTEIRO, E. M. Influência do cruzamento Ile de France x Corriedale (F1) nos parâmetros de qualidade da carne de cordeiro. 99p. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 1998.

NADER FILHO, A; AMARAL, L. A. TONHATTI, H. PENHA, L. H. C; TOLEDO, L. M. Variação das características físico-químicas do leite de búfala, durante os diferentes meses do período de lactação. **Artigos de Veterinária**, Jaboticabal, v. 12, n. 1, p.148-153, 1996.

O'ROURKE, D. J.; BLOWEY, R. W. **Cell counts and mastitis monitoring**. In: Andrews A.H. Bovine medicine: Diseases and husbandry of cattle. Oxford: Blackwell, 1992. p.305–312.

PALMQUIST, D. L.; BEAULIEU, A. D.; BARBANO, D. M .Feed and animal factors influencing milk fat composition. **Journal Dairy Science**, Savoy, v.76, n.6, p.1753-1771, oct. 1993.

RIBEIRO JÚNIOR. **Sistemas de Análises Estatística e Genéticas**. SAEG. Viçosa – UFV, 2001, 301P.

SANTOS-SILVA, J.; BESSA, R. J. B.; SANTOS-SILVA, F. Effect of genotype, feeding sytem and slaughter weight on the quality of light lambs II. Fatty acid composition of meat. **Livestock Production Science**, New York, v.77, n.2-3, p.187-194, nov. 2002.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Dispõe sobre as normas técnicas de produção e classificação dos produtos de origem animal e as relativas às atividades de fiscalização e inspeção dos produtos de origem animal. **Resolução nº 24, capítulo7, artigo 134** de 01 de agosto, 1994. Disponível em <<http://cda.sp.gov.br/legislacao/>>. Acessado em 20/12/2007.

SILVA, I. D.; SILVA, K. F. S. T. Total and differential cell counts in buffalo (*Bubalus bubalis*) milk. **Buffalo Journal**, Bangkok, v.10, p.133-137, 1994.

SILVA, M. S. T.; LOURENÇO JÚNIOR, J. B.; MIRANDA, H.; ERCHESEN, R.; FONSECA, R. F. S. R.; MELO, J. A.; COSTA, J. M. Programa de incentivo a criação de búfalos por pequenos produtores. **2003**. <http://www.cpatu.br/bufalo>, acessada em 15 agosto 2008.

SINGH, M.; LUDRI, R. S. Somatic cell counts in Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*) during different stages of lactation, parity, and season. **Asian-Austral Journal Animal Science**, v.14, p.189-192, 2001.

SOUZA, L. G.; SANTOS, G. T.; DAMASCENO, J.C.; MATSUSHITA, M.; SAKAGUTI, E. S.; RIBAS, N. P.; VILLALBA, R. G. Avaliação da composição e do

perfil de ácidos graxos do leite de vaca cru e pasteurizado em minilaticínios. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 25, n. 2, p. 331-337, 2003.

TAPIERO, H.; NGUYEN BA, G.; COUVREUR, P. et al. Polyunsaturated fatty acids (PUFAs) and eicosanoids in human health and pathologies. **Biomedical Pharmacoth.**, v.56, p. 215-222, 2002.

TURPEINEN, A. M.; BURDGE, G. C.; KEW, S.; BANERJEE, T.; RUSSEL, J. J. JONES, E. L.; GRIMBLE, R. F.; WILLIAMS, C. M.; YAQOOB, P.; CALDER, P. C; Opposing effects cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 conjugated linoléico acid on blood lipids in health humans. **The American Journal Clinical Nutrition**, Bethesda, v.80, p. 614-620, 2002

ULBRICH, T. L. V.; SOUTHGATE, D. T. A. Coronary heart disease: seven dietary factors. **Lancet**, v. 338, n.19, p.985-992, 1991.

VAN NIEUWENHOVE, C. P. PÉREZ-CHAIA, A. B.; GONZÁLEZ, S. GUTIÉRREZ, C.; TONHATI, H. Ácidos graxos de cadeia longa em leites de búfalas mestiças murrá – mediterrâneo. Conteúdo de ácido linoléico conjugado. **Revista do Instituto de laticínios Cândidos Tostes**, Juiz de Fora, v.60, n 346-347, p.13-18, set-dez. 2005.

VERRUMA, M.R.; OLIVEIRA, A. J; SALGADO, J. M. Avaliação química e nutricional do queijo mozzarella e iogurte de leite de búfala. **Science Agrícola**, Piracicaba, v.50, n.3, p.438-443, out-dez.1993.

VIEIRA LC, LOURENÇO JUNIOR JB, HUNH S, BATISTA HAM, HANTANI AK. Microbiology of buffalo milk under different hygienic conditions. In: World Buffalo Congress, 4, 1994, São Paulo, SP. **Proceedings**. São Paulo: Associação Brasileira dos Criadores de Búfalos, 1994. p.174-176.

WASTRA, P.; JENNESS,R. **Química y física lactológica**. Zaragoza: Acribia, 1987, 423p.

CAPÍTULO II

CALDEIRA, L. A. **Desenvolvimento de bebida láctea com diferentes níveis de iogurte e soro de queijo.** Itapetinga–Ba:UESB, 2008. 82p. (Dissertação – Mestrado em Engenharia de Alimentos). *

RESUMO

Dentre as várias formas de utilização do soro lácteo na indústria de laticínios está a formulação de novos produtos a partir de sua elaboração na forma líquida, como a bebida láctea. Assim, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar as características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais de bebidas lácteas elaboradas com leite de búfala e diferentes níveis de iogurte e soro de queijo. O leite de búfala utilizado foi proveniente de animais da raça Murrah, fornecido pelo Laticínio Pitty, localizado no município de Itapetinga/BA. A coleta de 30 litros de leite de búfala foi realizada a cada 10 dias, perfazendo um total de cinco lotes, constituindo-se as repetições. Em seguida, esse volume foi imediatamente resfriado e encaminhado sob refrigeração ao Laboratório de Processamento de Leite e Derivados da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia-UESB. Para obtenção do soro, foi realizado processamento do queijo Minas Frescal de búfala. Para elaboração do iogurte, o leite de búfala integral foi adicionado de 12% de açúcar, cultivo lácteo na concentração de 2,5% (v/v) do leite e 5% de polpa de morango (v/v). Após elaboração do iogurte, este produto foi misturado ao soro e leite obtendo-se os seguintes tratamentos: T1 - 10% leite, 10% soro e 80% iogurte; T2 - 10% leite, 20% soro e 70% iogurte; T3 - 10% leite, 30% soro e 60% iogurte; T4 - 10% leite, 40% soro e 50% iogurte; T5 - 10% leite, 50% soro e 40% iogurte. As análises físico-químicas do leite e soro foram realizadas para: acidez ($^{\circ}\text{D}$), densidade a 15°C , teores de gordura, EST e ESD. Para o leite, foi realizada também a análise do índice crioscópico ($^{\circ}\text{H}$) e para o soro a análise do pH. A bebida láctea foi avaliada quanto aos parâmetros: pH, acidez titulável ($^{\circ}\text{D}$), percentuais de gordura e proteína, A_w , viscosidade, cor, pelo sistema CIELAB utilizando parâmetros L^* , a^* e b^* , enumeração de coliformes a 35°C , 45°C e microrganismos mesófilos aeróbios, teste de aceitação sensorial e ordenação da preferência de todos os tratamentos. Os níveis de soro contidos na bebida láctea influenciaram os valores de pH, acidez, gordura, proteína, viscosidade, L^* e atividade de água, enquanto as coordenadas de cromaticidade a^* e b^* não sofreram influência. As formulações com 10 e 20% de soro foram superiores no teste de aceitação sensorial, bem como na preferência pelos julgadores.

Palavras-chave: soro lácteo, bebida láctea, leite de búfala

* Orientador: Sibelli Passini Barbosa Ferrão, D.Sc., UESB e Co-orientadores: Joel Camilo Souza Carneiro e Sérgio Augusto de Albuquerque Fernandes, D.Sc., UESB.

CHAPTER II

CALDEIRA, L. A. **Dairy beverage development with different yoghurt levels and cheese whey**. Itapetinga–Ba:UESB, 2008. 82p. (Dissertation–Master’s degree in Food Engineering)*

ABSTRACT

Amongst the several ways of use of milk whey in the dairy industry is the formularization of novel products from liquid form as dairy beverage. Thus, this work was carried out to evaluate the physical-chemical, microbiological and sensorial characteristics of dairy beverages elaborated with buffalo milk and different levels yoghurt and cheese whey. The milk was collected from Murrah buffaloes, provided by the Laticínios Pitty, located in the city of Itapetinga/BA. The collection of 30 liters of buffalo milk was made every 10 days, totalizing five lots, which were considered as repetitions. After that, that volume was immediately cooled down and taken under refrigeration to the Processing Milk Laboratory and dairy products from the Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB. For the obtaining of the whey, the “Minas frescal” type was processed. For elaboration of the yoghurt, the whole buffalo milk was added by 12% of sugar, dairy culture in the concentration of 2.5% (v/v) of milk and 5% of strawberry pulp (v/v). After elaboration of the yoghurt, this product was mixed to whey and milk, resulting the following treatments: T1 - 10% milk, 10% whey and 80% yoghurt; T2 - 10% milk, 20% whey and 70% yoghurt; T3 - 10% milk, 30% whey and 60% yoghurt; T4 - 10% milk, 40% whey and 50% yoghurt; T5 - 10% milk, 50% whey and 40% yoghurt. Both milk and whey physical-chemical analyses were accomplished to: acidity ($^{\circ}$ D), density 15 $^{\circ}$ C, fat, total solids (TS) and solids non-fat (SNF). The milk analysis concerned also to cryoscopic index. The pH of whey was also determined. The dairy beverage was evaluated on: pH, titratable acidity ($^{\circ}$ D), percentages of fat and protein, A_w , viscosity, color, by the CIELAB system using parameters (L^* , a^* , b^*), enumeration of coliforms at 35 $^{\circ}$ C, 45 $^{\circ}$ C, mesophilic aerobic microorganisms, sensorial acceptance test and preference ordination of all the treatments. The whey rates of the dairy beverage influenced pH, acidity, fat, protein, viscosity, L^* , and water activity, while the chromaticity coordinates a^* and b^* did not suffer influence. The formularizations with 10% and 20% whey were superior in the sensorial acceptance test, as well as in the preference of the judges.

Keywords: whey, dairy beverages, buffalo milk

* Adviser: Sibelli Passini Barbosa Ferrão, D.Sc., UESB e Co-adviser: Joel Camilo Souza Carneiro e Sérgio Augusto de Albuquerque Fernandes, D.Sc., UESB.

1- INTRODUÇÃO

O interesse por produtos alimentícios saudáveis, nutritivos e de grande aproveitamento tem crescido mundialmente, o que resulta em diversos estudos na área de produtos. Atualmente, novas formas de utilização do soro de queijo vêm sendo desenvolvidas pela indústria em geral, entretanto, ainda é na indústria de alimentos que este produto é mais empregado. Dentre as várias formas de utilização do soro de queijo na indústria de laticínios, está a formulação de novos produtos a partir de sua elaboração na forma líquida, como a bebida láctea (OLIVEIRA, 2006).

A conversão do soro líquido em bebidas lácteas seria uma das mais atrativas opções para as indústrias devido à simplicidade do processo, a possibilidade de uso dos equipamentos já existentes na usina de beneficiamento de leite reduzindo custos (ALMEIDA *et al.*, 2000), além da redução de problemas relativos ao seu descarte (PINTADO *et al.*, 2001).

Lerayer *et al.* (2002) definem bebida láctea como um tipo de leite fermentado em que pode ser utilizado leite ou leite reconstituído e/ou derivados de leite, incluindo neste caso o soro de queijo e iogurtes. Porém, a proporção leite e soro ainda não é bem estabelecida.

A fermentação é um método de preservação largamente utilizado desde os primórdios da civilização, pela ausência de métodos de refrigeração ou pasteurização. Historicamente, o processo de fermentação envolvia a coagulação do leite por microrganismos presentes no meio, obtendo-se um produto final com características e propriedades físico-químicas diferentes da matéria-prima (ALM, 1991). Segundo Walstra (2001), o processo que envolve a fermentação é caracterizado pela utilização parcial dos nutrientes por microrganismos, que utilizam principalmente a lactose, dando origem ao ácido láctico e a outros ácidos orgânicos, como o acético e o propiônico. Estes agem aumentando a acidez até alcançar o ponto isoelétrico da caseína. A acidificação do meio aumenta a solubilidade de minerais como o cálcio orgânico e o fósforo, contidos na micela, tornando-os gradualmente solúveis na fase aquosa. A micela desintegra-se e a caseína precipita, com posterior agregação como resultado de interações hidrofóbicas, que modificam a fluidez.

Por ser a matéria-prima de maior importância para o processamento do iogurte, o leite deve ser da mais alta qualidade para que o produto apresente características desejáveis e maior vida útil. As etapas de produção do iogurte incluem, de modo geral, verificação das características do leite original, tratamento térmico, semeadura, incubação e embalagem do produto final. Na elaboração de iogurte de leite

de vaca, um elevado teor de sólidos totais (ST) no leite, entre 14 e 18%, é desejável para proporcionar um produto com boa qualidade, o que, normalmente, requer a adição de leite em pó para aumentar o valor de ST (BENEVIDES, 1998). Devido à composição química do leite de búfala, não se faz necessário adicionar sólidos, quando este leite é utilizado para produção de iogurte. No entanto, a utilização do leite de búfala para a produção de iogurtes tem sido pouco relatada na literatura e quando se trata de bebida láctea, que tem como ingrediente este iogurte, os relatos são inexistentes.

Assim, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar as características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais, de bebidas lácteas elaboradas com leite de búfala adicionados de diferentes níveis de iogurte e soro de queijo.

2- MATERIAL E MÉTODOS

2.1- Obtenção da matéria-prima

O leite de búfala utilizado foi proveniente de animais da raça Murrah, fornecido pelo Laticínio Pitty, localizado no município de Itapetinga/Ba, obtido por ordenha manual, seguindo-se os padrões para obtenção higiênica.

A coleta foi realizada a cada 10 dias, perfazendo um total de cinco lotes, constituindo-se as repetições. Em cada coleta, o leite de latões foi homogeneizado por agitação manual com haste de aço inox para coleta de 30 litros de leite de búfala, no momento da recepção do leite pelo laticínio. Em seguida, esse volume foi imediatamente resfriado e encaminhado sob refrigeração ao Laboratório de Processamento de Leite e Derivados da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia-UESB.

Para obtenção do soro, foi realizado processamento do queijo Minas Frescal de búfala (ANEXO A), que após esta etapa, sofreu pasteurização de 85°C/30 minutos, sendo, juntamente com o leite pasteurizado a 62-65°C/30 minutos, armazenados à temperatura de 5°C até realização das análises e posterior utilização na elaboração da bebida.

2.2- Processamento do iogurte

Para elaboração do iogurte, o leite de búfala integral, adicionado de 12% de açúcar (p/v), sofreu aquecimento a 95°C por cinco minutos e, em seguida, foi resfriado até 42°C. O cultivo lácteo foi semeado na concentração de 2,5% (v/v) do leite, seguido de homogeneização e incubação a 40°- 42°C por 4 horas (ANEXO B). O fermento lácteo utilizado foi a cultura industrial de inoculação direta, Sacco® Lyofast Y450 (Sacco, Campinas, São Paulo, Brasil) constituído por cepas de *Lactobacillus delbruecki* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*.

Após o período de fermentação, o iogurte foi mantido sob refrigeração à temperatura inferior a 5°C por 12 horas, sendo o coágulo quebrado por meio de agitação manual ao término desse período. O iogurte foi adicionado de 5% de polpa de morango (v/v), Gemacom® (Gemacom, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil).

2.3- Desenvolvimento da bebida láctea

Após elaboração do iogurte, este produto foi misturado ao soro e leite obtendo-se os seguintes tratamentos como mostra a tabela 7.

Tabela 7- Formulações da bebida láctea com diferentes proporções de iogurte e soro lácteo

Tratamentos	Leite	Iogurte	Soro
1	10%	80%	10%
2	10%	70%	20%
3	10%	60%	30%
4	10%	50%	40%
5	10%	40%	50%

A bebida láctea foi acondicionadas em garrafas de polietileno esterilizadas com capacidade de 1.000 mL, com posterior refrigeração a 5°C.

2.4- Análises físico-químicas

As análises físico-químicas do leite e soro foram realizadas, em duplicata, para: acidez ($^{\circ}$ D), obtida pelo cálculo do percentual de ácido láctico na amostra pela titulação com NaOH 0,1%; densidade a 15°C, pelo termolactodensímetro de Quevenne, percentuais de gordura pelo método de Gerber e percentuais de proteína pelo método de Kjeldahl. O cálculo do extrato seco total (EST) foi obtido a partir do Disco de Ackermann e o extrato seco desengordurado (ESD) pela subtração do teor de gordura (BRASIL, 2003b). No caso do leite foi realizada também a análise da crioscopia utilizando crioscópio eletrônico LAKTRON 312-L (Laktron, Londrina, Paraná, Brasil), e para o soro a análise do pH, determinado pela medida direta em pHmetro digital modelo QUIMIS (Quimis, Diadema, São Paulo, Brasil).

A bebida láctea foi avaliada quanto aos seguintes aspectos físico-químicos em duplicata: pH por meio de pHmetro modelo QUIMIS; acidez titulável ($^{\circ}$ D), obtida pelo cálculo do percentual de ácido láctico na amostra pela titulação com NaOH 0,1%; percentuais de gordura pelo método de Gerber e proteína pelo método de Kjeldahl, de acordo com (BRASIL, 2003b). A cor das amostras foi determinada em colorímetro Minolta (Konica Minolta, Ramsey, New Jersey, EUA) em sistema de três escalas (L, a, b), parâmetros de cor: L* (luminosidade), a* e b* (coordenadas de cromaticidade), medidos no próprio aparelho. A atividade de água (A_w) foi determinada em

equipamento AQUALAB (Braseq, São Paulo, Brasil) com temperatura média de 25°C.

2.5- Análises Microbiológicas

Para as bebidas lácteas, foram realizadas as análises de coliformes a 35°C e a 45°C utilizando o método do número mais provável (NMP) e microrganismos mesófilos aeróbios (BRASIL, 2003a).

As diluições foram realizadas com a retirada, assepticamente, de alíquotas de 1 mL das amostras que foram, em seguida, transferidas para tubo de ensaio contendo água peptonada. A partir dessa diluição (10^{-1}), foram realizadas as diluições subsequentes até 10^{-3} para microrganismos mesófilos e coliformes.

A contagem de microrganismos mesófilos foi realizada transferindo-se alíquota de 1 mL das diluições obtidas para placas de Petri contendo Agar-Padrão para Contagem (PCA), incubados a 35°C por 48 horas.

A determinação do NMP de coliformes a 35°C foi realizada a partir da diluição 10^{-1} para então serem transferidas alíquotas de 1 ml para tubos de ensaio contendo tubos de Durham invertidos, imersos em caldo lauril sulfato de sódio, sendo realizadas as diluições decimais subsequentes até 10^{-3} . As amostras foram incubadas a 35°C por 48 horas. Para confirmação da presença de coliformes totais foi feita a inoculação, dos tubos positivos, em caldo verde brilhante.

A confirmação da presença de coliformes a 45°C foi feita por meio da inoculação em caldo *E. coli*, a partir de tubos positivos na análise de coliformes totais, com incubação em temperatura seletiva de 45°C por 48 horas. O resultado foi expresso em NMP de coliformes totais por mililitro.

2.6- Viscosidade

Para determinação da viscosidade, as amostras foram transportadas ao laboratório NECAL sob refrigeração, onde cerca de 50 ml da bebida láctea foram vertidos em um béquer para serem registrados os valores em *centipoise* (cP), durante um período de 30 segundos, sob velocidade de 12 rotações por minuto (rpm) e temperatura de 25°C.

O modelo do equipamento utilizado foi o viscosímetro digital Brookfield LV DVII+ com splinde LV-3C acoplado (Brookfield, Middleboro, Massachusetts, EUA).

2.7- Análise sensorial

A análise sensorial foi realizada por um painel de provadores não treinados, constituído por alunos, professores e funcionários da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia/UESB, *Campus* Itapetinga. Os testes foram aplicados simultaneamente, sendo conduzidos no Laboratório de Análise Sensorial/UESB, em cabines individuais. As amostras das bebidas lácteas foram servidas em copos descartáveis de 50 mL, codificados com números aleatórios de três dígitos, juntamente com um copo de 200 mL contendo água para enxágüe bucal entre as degustações

Os testes foram realizados com o objetivo de estimar a aceitação de diferentes formulações de bebida láctea sobre a avaliação dos atributos, impressão global, aparência, consistência e sabor, além de definir a preferência deste produto.

O Teste de Aceitabilidade foi realizado com 200 provadores, sendo 40 provadores de cada repetição do processamento. Os provadores atribuíram valores às amostras numa escala hedônica de cinco pontos para cada uma das seguintes características: impressão global, aparência, consistência e sabor (Figura 1) (MEILGAARD *et al.*, 1991). As notas apresentadas pelos julgadores aos diferentes atributos foram submetidas à análise de variância (ANOVA) por Delineamento de Blocos Casualizados (DBC) e teste de Tukey para comparação das médias a 5% de probabilidade (RIBEIRO JÚNIOR, 2001).

Considerando que os testes foram realizados simultaneamente, para o Teste de Ordenação da Preferência foram selecionados somente 100 provadores, em função do número máximo de respostas que pode ser avaliada pelo método utilizado, sendo 20 provadores de cada repetição do processamento. Após degustar as amostras, cada provador marcou sua preferência em uma ficha (Figura 1), de acordo com as instruções recebidas. Os dados foram avaliados calculando a diferença mínima significativa (DMS) da soma de ordens pelo Método de Friedman (MEILGAARD *et al.*, 1991).

3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1- Características físico-químicas do leite de búfala

A Tabela 8 apresenta os resultados obtidos nas análises físico-químicas do leite *in natura* da espécie bubalina, utilizado na fabricação da bebida láctea. Os valores físico-químicos apresentaram-se, de modo geral, dentro daqueles obtidos para leite de búfala por Verruma & Salgado (1994), Nader Filho *et al.* (1996), Benevides *et al.* (2001), Cunha Neto (2003) e Fernandes (2004), com pequenas variações, estando também de acordo com a legislação vigente no estado de São Paulo (1994) para leite de búfala, que estabelece valores mínimos de 4,5% para o teor de gordura, acidez em graus Dornic entre 14 e 23, extrato seco desengordurado (ESD) mínimo de 8,57%; densidade a 15°C entre 1,028 e 1,034 e índice crioscópico entre -0,520 e -0,570 (H°).

Tabela 8- Propriedades físico-químicas do leite de búfala utilizado na elaboração da bebida láctea

Parâmetro	Média	Desvio-padrão	CV(%)
Densidade (g/mL, 15°C)	1,030	0,001	0,08
Crioscopia (H°)	-0,541	0,005	1,01
Acidez Titulável (°D)	18,1	0,738	4,31
Gordura (%)	5,8	0,464	8,00
Proteína (%)	4,0	0,281	7,02
EST (%) ¹	16,03	0,628	4,18
ESD (%) ²	9,23	0,250	2,71

¹EST = Extrato Seco Total, ²ESD = Extrato Seco Desengordurado

O valor médio encontrado para a acidez titulável foi de 18,1°D. A utilização de leite com acidez elevada para fabricação do iogurte tem, como consequência, sabor pouco agradável, formação de grumos na massa e dessoragem. A acidez em excesso torna a coalhada fraca, pois as proteínas desnaturam favorecendo a dessoragem, pelo soro que escapa da rede de caseína (FIGUEIREDO & PORTO, 2002). Macedo *et al.* (2001) encontraram valores semelhantes ao encontrado neste trabalho, com média de 18,98°D. Entretanto, cabe ressaltar que a acidez titulável do leite de búfala normalmente encontra-se mais elevada, sem que o leite se apresente alterado.

O leite de búfala apresentou características adequadas à elaboração do iogurte e, conseqüentemente, das bebidas lácteas. A gordura é um importante constituinte do iogurte, do ponto de vista sensorial é responsável pelo desenvolvimento de sabor e

aroma, além de contribuir para a viscosidade (FIGUEIREDO & PORTO, 2002). O valor médio encontrado neste trabalho para o teor de gordura foi de 5,8%, inferior ao relatado por Cunha Neto (2003) que, avaliando a composição do leite de búfala para ser empregado no processamento do iogurte, encontrou valor médio de 6,82% de gordura.

Quanto ao teor de proteína, foi verificado valor médio de 4%, inferior ao encontrado por Neves (2002), de 4,33% e Prudêncio *et al.* (2006), de 5,47%, que também avaliaram leite de búfalas Murrah.

A média do EST foi correspondente ao padrão para utilização em iogurtes, que segundo Tamine & Robinson (1991) deve ser de 16%. A correção do teor de sólidos do leite é feita, geralmente, com leite em pó desnatado, prática bastante comum quando utilizado o leite bovino todavia, com a quantidade de sólidos encontrada no leite de búfala, não se fez necessário o uso deste procedimento.

3.2- Características físico-químicas do soro de queijo Minas frescal elaborado com leite de búfala

A caracterização físico-química do soro de queijo Minas frescal elaborado com leite de búfala está representada na tabela 9.

Tabela 9- Propriedades físico-químicos e composição do soro de queijo Minas frescal elaborado com leite de búfalas utilizado para produção da bebida láctea

Parâmetro	Média	Desvio-padrão	CV(%)
Densidade (g/mL)	1,029	0,0005	0,05
pH	6,58	0,068	1,04
Acidez Titulável (°D)	10,9	0,994	10,04
Gordura (%)	0,29	0,116	42,94
Proteína, (%)	2,01	0,190	9,43
EST (%) ¹	7,88	0,353	4,48
ESD (%) ²	7,61	0,291	3,83

¹EST = Extrato Seco Total, ²ESD = Extrato Seco Desengordurado

O valor médio encontrado para densidade foi de 1,029, resultado semelhante ao encontrado por Lira (2007) que, avaliando o soro de leite de búfala, encontrou valores variando de 1,025 a 1,031, com média de 1,029.

O pH médio do soro (6,58), neste trabalho, foi superior ao encontrado por Lira (2007), que foi de 6,29. Farro (2003) também detectou valores semelhantes, que variaram de 6,3 a 6,5, para soro obtido da produção do queijo Minas Frescal com leite

de vaca. Segundo Zadow (1994), o soro só pode ser considerado como doce quando apresenta valor de pH entre 5,8 e 6,6 e teor de acidez de 10 a 20°D. O teor médio de acidez titulável encontrado no soro utilizado na elaboração das bebidas lácteas foi de 10,9 °D. Estes dados estão dentro da faixa que caracteriza o soro como doce.

O teor médio de gordura ($0,29 \pm 0,116\%$) foi o parâmetro que mais diferiu em relação aos resultados encontrados por Lira (2007), com média de 1,37% de gordura. Essa diferença pode ser explicada por ser a gordura o componente mais variável na constituição do leite, sendo o teor de gordura diretamente influenciado pela padronização do leite utilizado como matéria-prima para produção do queijo, pelo rendimento do queijo e pelo próprio processamento (TEIXEIRA & FONSECA, 2008). No entanto, vale ressaltar que o tipo de queijo elaborado no processamento para obtenção do soro no trabalho de Lira (2007) foi o queijo de coalho, o que pode alterar o teor de gordura obtido do soro. O baixo teor de gordura no leite também pode levar a teores mais baixos no soro.

Teixeira & Fonseca (2008) caracterizaram o soro de queijo Minas Padrão de leite bovino com 6,28% de EST, 0,68% de gordura e 0,8% de proteína, enquanto Farro (2003), em estudo realizado com soro de queijo Minas Frescal elaborado a partir de leite de vaca encontrou valores variando de 6,13% a 6,72% de EST, 0,62 a 0,71% para gordura e 0,62 a 0,77% para proteína total. Estes valores estão abaixo dos encontrados com soro de leite de búfala, com exceção da gordura, reafirmando o elevado valor nutricional deste produto, o que pode ser confirmado também por Lira (2007), que encontrou 10,06%, 1,37% e 1,19% de EST, gordura e proteína, respectivamente.

3.3- Características físico-químicas da bebida láctea

A análise de regressão revelou efeito linear ($p < 0,05$), para alguns parâmetros da bebida láctea, em função dos níveis de adição de soro. Foi observada influência dos níveis de soro no pH, acidez, gordura, proteína, viscosidade, luminosidade (L^*) e atividade de água, enquanto as coordenadas de cromaticidade a^* e b^* não sofreram influência ($p > 0,05$) (Tabela 10).

O pH da bebida láctea aumentou linearmente com os níveis de soro. De acordo com Brandão (1995), em produtos com pH menor que 4,0, ocorre separação do soro devido à redução da hidratação das proteínas e contração do coágulo. Almeida *et al.* (2001), ao desenvolverem bebidas lácteas fermentadas com leite bovino e cultura probiótica com concentrações de soro lácteo variando de 30% a 50%, encontraram valores de pH entre 4,56 e 5,14, próximos aos resultados encontrados nos cinco tratamentos, que variaram de 4,96 a 5,38. O valor do pH tem sua importância

relacionada também com o aspecto visual do produto final durante sua conservação em temperaturas baixas. É fundamental que haja um controle rigoroso para que não ocorram possíveis separações de fases, acidificação elevada influenciada pelo tempo de fermentação, além de alterações nas características sensoriais que poderão tornar o produto indesejável (VINDEROLA *et al.*, 2000).

Tabela 10-Médias, coeficientes de variação (CV), coeficientes de determinação (R^2) e equações de regressão ajustadas para pH, acidez, gordura, proteína, viscosidade, L^* , a^* , b^* e atividade de água (A_w), em função dos níveis de soro na bebida láctea

Variáveis	Tratamentos					CV (%)	R^2	Equação
	T1 (10%) ¹	T2 (20%) ¹	T3 (30%) ¹	T4 (40%) ¹	T5 (50%) ¹			
pH	4,96	5,04	5,11	5,18	5,38	5,07	0,94	$\hat{Y} = 4,8431 + 0,0097X$
Acidez (% ácido lático)	0,35	0,32	0,28	0,25	0,22	18,59	0,99	$\hat{Y} = 0,381 - 0,0033X$
Gordura (%)	10,1	8,7	8,4	7,8	7,2	15,64	0,95	$\hat{Y} = 10,41 - 0,066X$
Proteína (%)	3,55	3,22	3,13	3,00	2,96	6,16	0,89	$\hat{Y} = 3,5934 - 0,014X$
Viscosida de, (cP)	3531,25	2913,38	1295,06	889,81	545,22	71,51	0,93	$\hat{Y} = 4233,6 - 79,956X$
L^*	69,32	71,24	75,14	78,09	80,05	8,44	0,76	$\hat{Y} = 68,922 + 0,1948X$
a^*	14,00	12,76	11,30	11,06	10,57	26,25	-	$\hat{Y} = 11,93$
b^*	1,86	2,48	2,17	2,07	2,14	24,53	-	$\hat{Y} = 2,14$
A_w	0,98	0,98	0,99	0,99	0,99	0,16	0,96	$\hat{Y} = 0,9759 + 0,0003X$

¹Níveis de soro nos tratamentos

Pode ser observado (Figura 2), que acidez da bebida diminuiu à medida que se elevaram os níveis de soro, de 0,35% de ácido lático no T1 a 0,22% de ácido lático no T5, valores bastante inferiores aos encontrados na literatura. Thamer & Penna (2006), que caracterizaram bebida láctea elaborada com leite bovino variando as concentrações de soro em 45%, 50% e 55%, encontraram valores de 0,44% a 0,50% de ácido lático. Resultados superiores também foram encontrados por Cunha *et al.* (2008), com valores médios de ácido lático de 0,72% em bebidas lácteas com 30% de soro. As diferenças nos valores de acidez nos diferentes produtos podem estar relacionadas ao tipo e concentração de cultura láctea utilizada, à atividade desta

cultura, ao valor estabelecido para finalizar a fermentação, à quantidade de soro de queijo utilizada na elaboração das bebidas lácteas, assim como ao tempo de armazenamento (THAMER & PENNA, 2006).

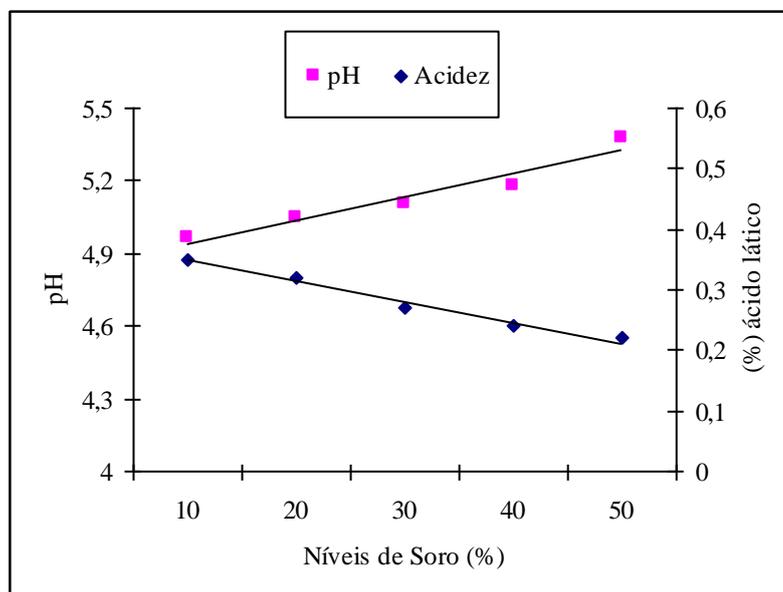


FIGURA 2- Variação do pH e acidez (ácido láctico, %) de acordo com os níveis de soro das bebidas lácteas elaboradas com leite de búfala

Para os teores de gordura, pode-se observar que houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre os tratamentos, variando seus valores de 7,2% a 10,1%. À medida que se elevou a proporção de soro, o teor de gordura diminuiu (Figura 3). Isto pode ser explicado tendo em vista que o teor de gordura do leite foi vinte vezes superior ao teor encontrado no soro (5,8% no leite e 0,29% no soro). Os altos teores de gordura encontrados nas diferentes formulações da bebida láctea podem ser atribuído ao leite de búfala, que além de ser empregado na elaboração do iogurte é utilizado de forma direta como ingrediente juntamente ao soro. Segundo Brauss *et al.* (1999), produtos lácteos com maior porcentagem de gordura são mais cremosos e de sabor agradável.

Embora não haja legislação específica com padrões para produtos derivados do leite de búfala, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) de Bebidas Lácteas (BRASIL, 2005), define que este produto deve apresentar no mínimo 2% de matéria gorda de origem láctea. Sendo assim, os valores médios dos tratamentos 1, 2, 3, 4 e 5 encontrados neste trabalho apresentam-se dentro dos padrões permitidos pela legislação. Valores inferiores aos reportados neste estudo foram relatados por alguns autores que avaliaram bebidas lácteas produzidas com leite bovino. Almeida *et al.* (2001) demonstraram em seus resultados teores de gordura variando de 1,76% (tratamento com 50% de soro) a 2,01% (tratamento com 30% de soro). Cunha *et al.*

(2008) encontraram valor médio de 1,91% de teor de gordura em bebidas que continham 30% de soro. Enquanto, Oliveira (2006) verificou teores de gordura de 2,6%, 2,0% e 1,6% em bebidas lácteas com 10%, 30% e 50% de soro, respectivamente.

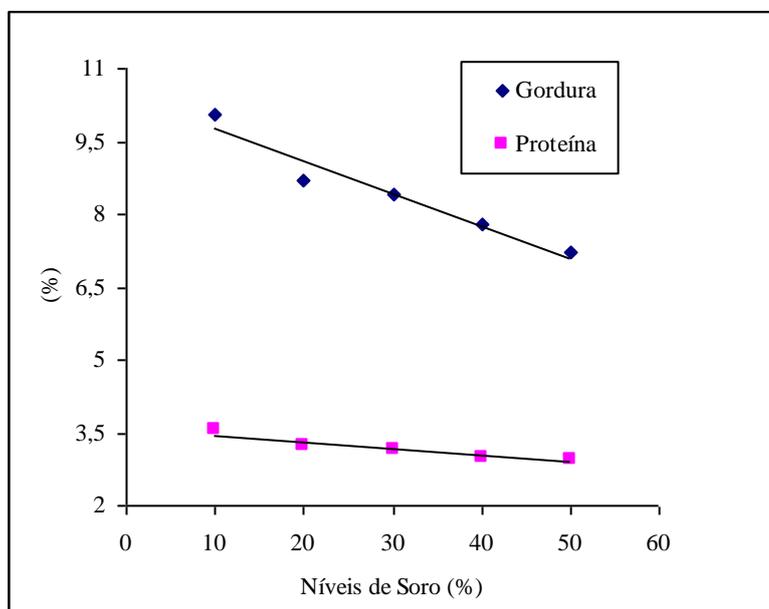


FIGURA 3- Variação dos teores de gordura e proteína de acordo com os níveis de soro das bebida lácteas produzidas com leite de búfala

O teor de proteínas nas bebidas lácteas variou de 2,96% a 3,55%, o qual está diretamente relacionado com a composição da bebida. O maior valor (3,55%) corresponde ao tratamento 1, que apresenta a menor porcentagem de soro de leite (10%), enquanto que o tratamento 5, com menor teor protéico (2,96%), apresentou em sua formulação 50% de soro de leite. Esta variação do teor de proteínas entre os tratamentos pode ser explicada pelas diferentes quantidades de soro e de iogurte utilizados na elaboração das bebidas lácteas. Como o soro tem menor teor de proteínas do que o leite, à medida que se aumentou a concentração de soro nas bebidas, menores foram os teores de proteínas encontrados. Apesar do menor teor de proteínas, o valor nutricional do soro é indiscutível. Durante a fabricação do queijo, somente a caseína e a maior parte da gordura do leite são removidas, restando praticamente as proteínas do soro (β -lactoglobulina, α -lactoalbumina, soroalbumina, imunoglobulinas, proteose-peptonas, lactoferrina e transferrina), várias vitaminas hidrossolúveis (tiamina, riboflavina, ácido pantotênico, vitamina B6 e B12), minerais (cálcio, magnésio, zinco e fósforo) e um alto teor de lactose (THAMER & PENNA, 2006).

De acordo com a legislação, o teor mínimo de proteínas de origem láctea, deve ser 1%, valores bastantes superiores foram encontrados neste trabalho. Entretanto, em bebidas lácteas produzidas com leite bovino, o teor médio tem variado de 1,65% a 2,46% (ALMEIDA *et al.* 2001; OLIVEIRA *et al.* 2006; THAMER & PENNA, 2006; CUNHA *et al.* 2008). O leite de búfala apresenta maior valor nutricional que o de vaca devido à maior concentração de lactose, vitaminas, minerais e, principalmente, de proteína. Além disso, com a fermentação realizada no iogurte, há um acréscimo da digestibilidade e da absorção desses nutrientes, favorecendo a utilização pelo organismo (FARIA *et al.*, 2006)

Os níveis de soro influenciaram negativamente ($p < 0,05$) a viscosidade das bebidas lácteas, como observado na Figura 4 e na Tabela 10.

A bebida elaborada com 10% de soro apresentou maior viscosidade (3531,25 cp), enquanto a bebida elaborada com 50% de soro teve a menor viscosidade (545,22 cp). Cabe ressaltar que apesar de a viscosidade das bebidas terem diminuído com a adição de soro, valores elevados ainda foram encontrados para os tratamentos 1 e 2, reforçando esse característica qualitativa. Martín-Diana *et al.* (2003) afirmam que o teor de ST, bem como o de proteínas, podem influenciar na viscosidade de um produto. Isto é confirmado quando se observa o resultado obtido para os teores de proteína e gordura (Tabela 10), sendo que no tratamento com maiores teores (T1) a viscosidade foi mais elevada quando comparada ao tratamento com menores teores (T5). O soro apresenta baixa quantidade de sólidos, desta forma a elaboração de produtos que contenham maior quantidade de soro, demonstra menor viscosidade. Tendência semelhante foi descrita por Almeida *et al.* (2001), Martín-Diana *et al.* (2003) e Cunha *et al.* (2008), que verificaram que o aumento de sólidos totais ocasionou aumento proporcional na viscosidade de bebidas lácteas. Ferrão *et al.* (2008) avaliando bebidas lácteas achocolatadas elaboradas com leite de cabra encontraram valores de viscosidade variando de 30 a 56,67 cp, podendo este resultado ser atribuído ao leite desta espécie, que quando comparado ao leite de búfala apresenta teor de sólidos bastante inferiores, confirmando novamente a influência da composição na viscosidade. De acordo com Tamine & Robinson (1984) a consistência do iogurte está relacionada à composição do leite, e, principalmente, com as frações de caseínas presentes.

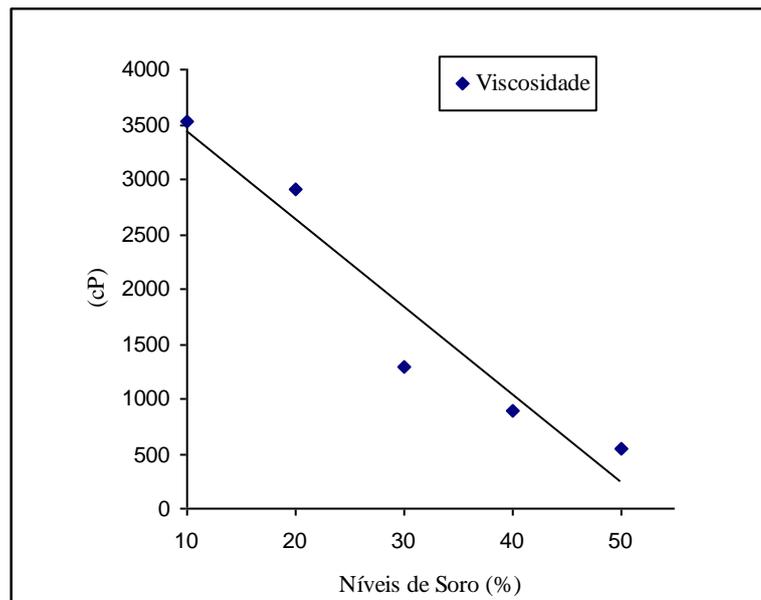


FIGURA 4- Variação da viscosidade de acordo com os níveis de soro das bebidas lácteas elaboradas com leite de búfala

A viscosidade é a propriedade inversa da fluidez, ou seja, é a resistência do alimento a sofrer deslocamentos quando submetido a uma força externa, como a agitação. É uma propriedade básica que caracteriza o comportamento de escoamento e importante na aceitação de muitos alimentos (BOBBIO & BOBBIO, 1995).

O comportamento dos parâmetros luminosidade (L^*) e coordenadas de cromaticidade (a^* e b^*) utilizados para a determinação da cor nas bebidas lácteas com diferentes níveis de soro podem ser observados na Figura 5.

Os níveis de soro influenciaram ($p < 0,05$) os valores de L^* das bebidas lácteas (Tabela 10). O parâmetro L^* indica a luminosidade e pode determinar valores entre zero (0) e cem (100), sendo denominado preto e branco, respectivamente. À medida que se aumentou a proporção de soro, aumentou-se também o valor de L^* . Menor valor de L^* encontrado no T1 foi causado pelo maior teor de constituintes no produto como gordura e proteína, favorecendo a redução de água livre em função do aumento de sólidos totais, resultando em menor reflexão de luz (GARCÍA-PÉREZ *et al.*, 2005). Silva (2007), avaliando a cor em iogurtes de morango, encontrou valores semelhantes, apresentando o mesmo comportamento em relação ao teor de sólidos.

Quanto aos valores de a^* e b^* , não foi observada influência ($p > 0,05$) dos níveis de soro. As coordenadas de cromaticidade a^* e b^* indicam as direções das cores, desta forma, a^* maior que zero vai em direção ao vermelho, a^* menor que zero em direção ao verde, b^* maior que zero em direção ao amarelo e b^* menor que zero em direção ao azul. Os valores de a^* foram positivos ($+a^*$) em direção ao vermelho e os valores de b^* foram positivos ($+b^*$) em direção ao amarelo, estes resultados

ocorreram, provavelmente, em função da adição de polpa de morango. Os valores encontrados de a^* podem também ser atribuídos à coloração do soro, pois valores baixos tendendo a valores negativos de a^* representam um produto mais esverdeado. Resultados médios semelhantes foram encontrados por Silva (2007), para o parâmetro b^* (8,12). Entretanto, para a^* este autor encontrou médias superiores (18,15), visto que foi avaliado em iogurtes, produto que não apresenta soro em sua composição.

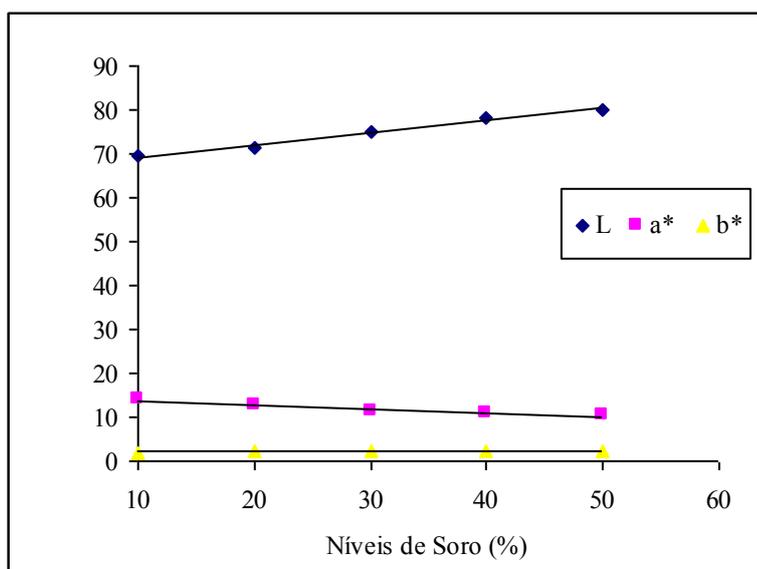


FIGURA 5- Variação dos parâmetros luminosidade (L^*) e coordenadas de cromaticidade (a^* e b^*) de acordo com os níveis de soro das bebida lácteas elaboradas com leite de búfala

A atividade de água (A_w) foi influenciada positivamente ($p < 0,05$) pelos níveis de soro (Tabela 10), variando de 0,98 a 0,99. O valor máximo da A_w é 1, na água pura. Os alimentos ricos em água, com A_w maior que 0,90 podem formar soluções diluídas que servirão de substrato para os microrganismos se desenvolverem (BOBBIO & BOBBIO, 1995). Oliveira & Damin (2003) encontraram valores de A_w em iogurtes com maior variação, de 0,985 a 0,998. Segundo estes autores, a atividade de água do leite e outros produtos como o iogurte é alta, com valores acima de 0,98.

3.4- Características microbiológicas das bebidas lácteas

Na Tabela 11 estão evidenciados os resultados obtidos na contagem de bactérias aeróbias mesófilas, coliformes a 35°C e coliformes a 45°C. Observou-se que todas as análises apresentaram-se dentro dos padrões microbiológicos designados pela legislação (BRASIL, 2005) que estabelece valores máximos de $7,5 \times 10^4$ UFC/mL

para microrganismos aeróbios mesófilos, e números mais prováveis máximos de 10 coliformes a 35°C/mL e 5 coliformes a 45°C/mL.

A contagem de microrganismos do grupo coliformes, sobretudo os de origem fecal, indica as condições de higiene em que os produtos são elaborados, uma vez que tais microrganismos, comumente encontrados em leite cru, são geralmente destruídos pela pasteurização (OLIVIERI, 2004).

Tabela 11- Resultados médios de análises microbiológicas das formulações das bebidas lácteas produzidas com leite de búfalas

Determinação	T1 (10%)*	T2 (20%)*	T3 (30%)*	T4 (40%)*	T5 (50%)*
Bactérias aeróbias mesófilas (UFC/mL)	4,8x10 ³	8,9x10 ³	2,6x10 ³	3,7x10 ³	1,1x10 ³
Coliformes a 35°C (NMP/mL)	4,5	3,2	4,4	4,1	3,9
Coliformes a 45°C (NMP/mL)	3,2	3,2	3	3,1	3,1

* Níveis de soro na bebida láctea

Apesar das bebidas lácteas apresentarem valores permitidos pela legislação, os resultados encontrados podem ter ocorrido pela a possibilidade de recontaminação após tratamento térmico dos ingredientes utilizados na bebida láctea como o soro e o iogurte.

3.5- Análise sensorial

Na Tabela 12, são apresentados os valores médios das diferentes formulações de bebida láctea em relação à sua aceitação. De maneira geral, as amostras apresentaram diferenças significativas em relação aos atributos avaliados ($p < 0,05$).

Os tratamentos 1 e 2 não demonstraram diferença significativa ($p > 0,05$) em nenhum dos atributos, podendo-se afirmar que quanto à aceitação da bebida láctea não houve diferença entre os níveis de 10% e 20% de soro. A aparência global é traduzida pelo “conjunto”, relativa à primeira impressão causada pelo produto como um todo, o que confirma também semelhança entre os tratamentos 1 e 2. Estes dois tratamentos obtiveram aceitação bastante satisfatória, uma vez que os valores médios para todos os atributos de impressão global, aparência, consistência e sabor ficaram entre 4,01 a 4,16 que equivalem ao conceito de “gostei” na escala hedônica de cinco pontos. O corpo do iogurte é devido principalmente aos ingredientes acrescentados durante o processo de fabricação e deve possuir suficiente viscosidade para resistir ao manuseio

normal durante todo o processo e armazenamento e podem influenciar de maneira negativa à impressão global do produto. A contração do coágulo e a separação do soro durante o envase são considerados defeitos do corpo. A separação do soro não é apenas prejuízo na aparência visual, mas também revela problemas de corpo e textura do produto (PINHEIRO, 2003). O tipo de cultura láctea utilizada é também importante para contribuir com a viscosidade do produto.

Os valores médios encontrados para consistência nos tratamentos 1 e 2 foram maiores quando comparados aos outros atributos. Tal resultado pode ser atribuído ao fato de os tratamentos com 10 e 20% de soro apresentarem consistência semelhante ao iogurte, pois parte dos provadores comentou sobre esta característica na ficha de avaliação.

Tabela 12- Valores médios dos atributos impressão global, aparência, consistência e sabor das bebidas lácteas elaboradas com leite de búfala, obtidos pelo Teste de Aceitação

Atributos	Tratamentos				
	1	2	3	4	5
Impressão Global	4,08 ^a	4,01 ^a	3,66 ^b	3,42 ^b	2,57 ^c
Aparência	4,14 ^a	4,13 ^a	3,75 ^b	3,47 ^c	2,65 ^d
Consistência	4,16 ^a	4,14 ^a	3,40 ^b	3,05 ^c	2,14 ^d
Sabor	4,15 ^a	4,11 ^a	3,44 ^b	3,09 ^c	2,25 ^d

^{a,b} Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem estatisticamente pelo teste t ao nível de 5% de probabilidade

Os tratamentos 3 e 4, com 30 e 40% de soro, respectivamente, foram semelhantes ($p > 0,05$) em relação ao atributo impressão global, mas apresentaram valores médios inferiores para todos os atributos quando comparados aos tratamentos 1 e 2 (10 e 20% de soro, respectivamente). Este resultado pode ser atribuído aos níveis de soro, que proporcionaram às bebidas lácteas aspectos não homogêneos e com separação de fases. A primeira impressão que se tem de um alimento é geralmente visual, sendo o aspecto fundamental na qualidade e aceitação do produto (SILVA, 2007).

Pode-se observar que o T5 (50% de soro) obteve as menores médias em todos os atributos, diferindo estatisticamente dos tratamentos 1, 2, 3 e 4. Resultados inversos foram encontrados por Oliveira (2006) que, avaliando bebidas lácteas fermentadas contendo 10%, 30% e 50% de soro de queijo elaborado com leite bovino bovino, encontrou maior aceitação para a formulação com 50% de soro. Logo, constatou-se que o aumento da adição de soro é diretamente proporcional ao atributo doçura, o que

pode ser explicado pela grande quantidade de lactose encontrada no soro de queijo, responsável pela preferência dos provadores.

Os resultados da análise sensorial para o Teste de Ordenação da Preferência são apresentados na Tabela 13. De acordo com o método de Friedman, o valor da DMS (Diferença Mínima Significativa) para se obter a diferença significativa da soma de ordens entre os tratamentos ao nível de 5% foi 61. Desta forma, concluiu-se que as amostras formuladas com 10% e 20% de soro (T1 e T2) não diferiram significativamente entre si ($p > 0,05$), sendo consideradas como as mais preferidas pelos julgadores. Estes resultados corroboram com o teste de aceitação que demonstrou não haver diferença entre os tratamentos 1 e 2, que apresentaram as maiores médias para todos os atributos.

Tabela 13- Diferenças de soma de ordens entre os tratamentos T1 (10% de soro), T2 (20% de soro), T3 (30% de soro), T4 (40% de soro) e T5 (50% de soro) quanto à preferência dos julgadores obtidas pelo Teste de Ordenação da Preferência

Diferença da Soma de Ordens (DMS)	Módulos de diferença
T1-T2	25 (ns)
T1-T3	117 (s)
T1-T4	182 (s)
T1-T5	286 (s)
T2-T3	92 (s)
T2-T4	157 (s)
T2-T5	261 (s)
T3-T4	65 (s)
T3-T5	169 (s)
T4-T5	104 (s)

(ns) = não significativo; (s) = significativo; DMS = Diferença Mínima Significativa ($p < 0,05$) = 61

A Figura 6 demonstra a frequência das notas totais julgadas pelos provadores, por meio do Teste de Ordenação da Preferência. Os números 1, 2, 3, 4 e 5 da legenda correspondem aos tratamentos 1, 2, 3, 4 e 5, respectivamente.

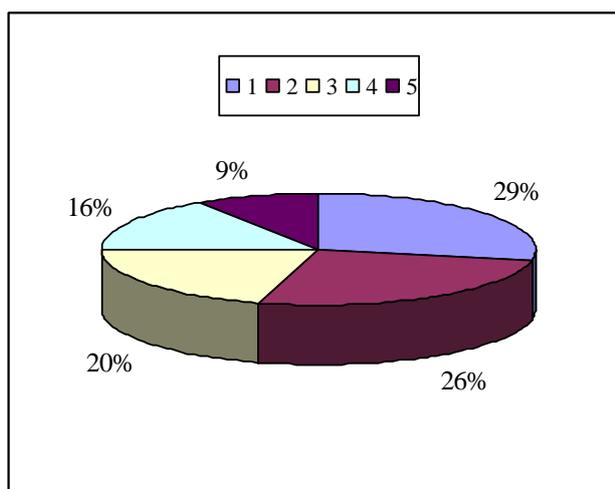


FIGURA 6 - Respostas dos provadores em relação ao Teste de Ordenação da Preferência da bebida láctea elaborada com leite de búfala; 1 = T1 (10% de soro); 2 = T2 (20% de soro); 3 = T3 (30% de soro); 4 = T4 (40% de soro); 5 = T5 (50% de soro)

Os tratamentos 1 e 2 apresentaram as maiores notas, correspondendo a 29% e 26% da preferência, respectivamente. Na segunda posição de preferência ficou o T3 (30% de soro), que obteve 20% dos resultados, seguido do T4 com 16%; enquanto que o T5, com 50% de soro, foi considerado como a bebida láctea menos preferida pelos julgadores. A presença de uma maior quantidade de soro no T5 resultou em uma bebida com aspecto que descaracterizou o produto, o que contribuiu para este resultado.

4- CONCLUSÃO

Os níveis de soro contidos na bebida láctea influenciaram os valores de pH, acidez, gordura, proteína, viscosidade, L* e atividade de água, enquanto as coordenadas de cromaticidade a* e b* não sofreram influência.

Todas as formulações da bebida láctea atenderam à legislação brasileira em vigor no que se refere às características físico-químicas e microbiológicas.

As formulações com 10 e 20% de soro foram superiores no teste de Aceitação Sensorial, assim como na preferência pelos julgadores.

5-REFERÊNCIAS

- ALM, L. The therapeutic effects of various cultures – an overview. In: ROBINSON, R.K. (Ed.). **Therapeutic Properties of Fermented Milks**. London: Elsevier, 1991. p.45-64.
- ALMEIDA, K. E. de; BONASSI, I. A.; ROÇA, R. de O. Avaliação sensorial de bebida láctea preparada com diferentes teores de soro, utilizando-se dois tipos de cultura láctea. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.55, n. 315, p.7-13, jul-ago. 2000.
- ALMEIDA, K. E., BONASSI, I. A., ROÇA, R. O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo minas frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, São Paulo, v. 2, n.2, p.187-192, mai-ago. 2001.
- BENEVIDES, C. M. Leite de búfala: qualidades tecnológicas. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.12, n.54, p.18-21, mar. 1998.
- BENEVIDES, C.M.J.; TRIGUEIRO, I.N.; SANTOS, M.A.F. Estudo da variação da produção e do teor de gordura, do leite de búfala (Raça Murrah) na microregião de Catu-Ba em 165 dias de lactação. **Higiene Alimentar**. São Paulo, v.15, n.80-81, p. 100-105, jan-fev. 2001.
- BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Manual de laboratório de química dos alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1995, 129 p.
- BRANDÃO, S. C. C. Tecnologia da produção industrial de iogurte. **Leite & Derivados**, São Paulo, v.5, n.25, p.24-38, nov-dez.1995.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Métodos Oficiais para Análise Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água**. Instrução Normativa nº62 de 26 de agosto de 2003a.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos para Controle de Leite e Produtos Lácteos**. Instrução Normativa nº. 22 de 14 de abril 04 de 2003b.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas**. Instrução Normativa nº16 de 23 de agosto de 2005.
- BRAUSS, M.S.; LINFORTH, R.S.T.; CAYEUX, I.; HARVEY, B.; TAYLOR, A.J. Altering the fat content affects flavor release in a model yogurt system. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.47, p.2055-2059, 1999.
- CUNHA NETO, O. C. Avaliação físico-química e sensorial do iogurte natural produzido com leite de búfala contendo diferentes níveis de gordura. **Tese de Mestrado**. 71p. Universidade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos de São Paulo. Pirassununga. 2003.
- CUNHA, T. M.; CASTRO, F. P.; BARRETO, P. L. M.; BENEDET, H. D; PRUDÊNCIO, E. S. Avaliação físico-química, microbiológica e reológica de bebida

láctea e leite fermentado adicionados de probióticos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.29, n.1, p.103-116, jan-mar. 2008.

FARIA, C. P.; BENEDET, H. D.; GUERROUE, J.-L. Parâmetros de produção de leite de búfala fermentado por *Lactobacillus casei*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.3, p.511-516, mar. 2006.

FERRÃO, S. P. B.; CALDEIRA, L. A. SANTOS, T. D. R.; MAGNAVITA, A. P. A.; PEREIRA, M. L. A.; PINTO, E. G. Aceitabilidade bebidas lácteas achocolatadas elaboradas com leite de cabra. **Congresso Nacional do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, 2008.

FARRO, P. C. A. Ultrafiltração do soro de queijo Minas Frescal pré-tratado e microfiltrado: efeitos da vasão volumétrica e da pressão transmembrana no fluxo do permeado. **Dissertação de Mestrado**. Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UNICAMP, 2003.

FERNANDES, A. M. Avaliação do iogurte produzido com leite contendo diferentes níveis de células somáticas. **Dissertação de Mestrado**. 87 p. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

FIGUEIREDO, M.G.; PORTO, E. Avaliação do impacto da qualidade da matéria prima no processamento industrial do iogurte natural. **Indústria de Laticínios**. Caderno Fazer Melhor, n.54, set-out. 2002.

GARCÍA-PÉREZ, F. J.; LARIO, Y.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; SAYAS, E.; PÉREZALVAREZ, J. A.; SENDRA, E. Effect of orange fiber addition on yogurt color during fermentation and cold storage. **Industrial Applications**, v.30, n.6, p.457-463, 2005.

LERAYER, A. L. S.; MIGUEL, A. M. R. O.; GUEDES, A. L. A.; CARVALHO, A. F.; ITAJDENWURCEL, J. R.; FONSECA, L. M.; MOSQUIM, M. C. A.; NUTTI, M. R.; SIMÃO FILHO, P.; BRANDÃO, S. C. C.; PORFÍRIO, T. A. **Nova Legislação de Produtos Lácteos - Revisada, Ampliada e Comentada**. São Paulo: Editora Revista Indústria de Laticínios, 2002. v.1. 327 p.

LIRA, H. L. Microfiltração do soro de leite de búfala, utilizando membrana cerâmica como alternativa ao processo de pasteurização. **Dissertação de Mestrado**. 73p. Universidades Federal de Alagoas, Maceió, 2007.

MACEDO, M. P; WECHSLER, F. S; RAMOS, A. A; AMARAL, J. B; SOUZA, J. S; RESENDE, F. D. OLIVEIRA, J. V. Composição Físico-Química e Produção do Leite de Búfalas da Raça Mediterrâneo no Oeste do Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, supl.1, p.1084-1088, 2001.

MARTÍN-DIANA, A. B.; JANER, C.; PELÁEZ, C. REQUENA, T. Development of a fermented goat's milk containing probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, Barking, v.13, n.10, p.827-833, 2003.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory evaluation techniques**. Boca Raton: CRC Press, 1991. 2v. 354p.

NADER FILHO, A; AMARAL, L. A. TONHATTI, H. PENHA, L. H. C; TOLEDO, L. M. Variação das características físico-químicas do leite de búfala, durante os

diferentes meses do período de lactação. **Artigos de Veterinária**, Jaboticabal, v.12, n. 1, p.148-153, 1996.

NEVES, E. C. A. Recent progress concerning buffalo milk technology in Amazon-Brazil. In: **Buffalo Symposium of Américas**, Belém, 2002, v.1, p.312-316.

OLIVIERI, D. A. Avaliação da qualidade microbiológica de amostras de mercado de queijo mussarela elaborado a partir do leite de búfala (*Bubalus bubalis*). **Dissertação de Mestrado**. 71p. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

OLIVEIRA, V. M. Formulação de bebida láctea fermentada com diferentes concentrações de soro de queijo, enriquecida com ferro: caracterização físico-química, análises bacteriológicas e sensoriais. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal Fluminense. 78p. Niterói, Rio de Janeiro, 2006.

OLIVEIRA, M.N.; DAMIN M.R. Efeito do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação, firmeza e viabilidade de bactérias do iogurte e probióticas em leite fermentado. **Ciência Tecnologia Alimentos**, Campinas, v.23, supl., p.172-176, dez. 2003.

PINHEIRO, M. V. S. Caracterização de iogurtes fabricados com edulcorantes, fermentados por culturas lácticas probióticas. 2003. 196 p. **Dissertação de Mestrado** Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2003.

PINTADO, M. E.; MACEDO, A. C.; MALEATA, F. X. Review: technology, chemistry and microbiology of whey cheeses. **Food Science Technology International**, London, v.7, n.2, p.105-116, 2001.

PRUDÊNCIO, E.S., MAGENIZ, R.B., FALCÃO, L.D., LUIZ, M.T.B. Comportamento do leite de búfala (*bubalus bubalis*) desnatado e pasteurizado durante o processo de ultrafiltração. **Boletim Ceppa**, Curitiba, v.24, n.1, p.99-114, jan./jun. 2006.

RIBEIRO JÚNIOR, J. J. I. **Sistemas de Análises Estatística e Genéticas**. SAEG. Viçosa –MG, 2001, 301p.

SAMPAIO, I. B. **Estatística aplicada a experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia. 1998. 221p.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Dispõe sobre as normas técnicas de produção e classificação dos produtos de origem animal e as relativas às atividades de fiscalização e inspeção dos produtos de origem animal. **Resolução nº 24, capítulo 7, artigo 134** de 01 de agosto, 1994. Disponível em <<http://cda.sp.gov.br/legislacao/>>. Acessado em 20/12/2007.

SILVA S.V. Desenvolvimento de iogurte probiótico com prebiótico. **Dissertação de Mestrado**. 107p. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria. 2007.

SIVIERI, K; OLIVEIRA, M. N. Avaliação da Vida-de-Prateleira de Bebidas Lácteas Preparadas com “Fat Replacers” (Litesse E Dairy-Lo). **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.22, p.24-31, jan-abr. 2002.

TAMINE, A. Y. ROBINSON, R. K. **Iogur Ciência e Tecnologia**. Zaragoza: Acribia, 1991. 368p.

TEIXEIRA, L.V.; FONSECA, L. M. Perfil físico-químico do soro de queijos mozzarella e minas-padrão produzidos em várias regiões do estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.60, n.1, p.243-250, 2008.

THAMER, K.G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.3, p.589-595, jul-set. 2006.

VERRUMA, M. R; SALGADO, J. M. Análise Química do Leite de Búfala em Comparação ao Leite de Vaca. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.1, n.51, p.131-137, out-dez. 1994.

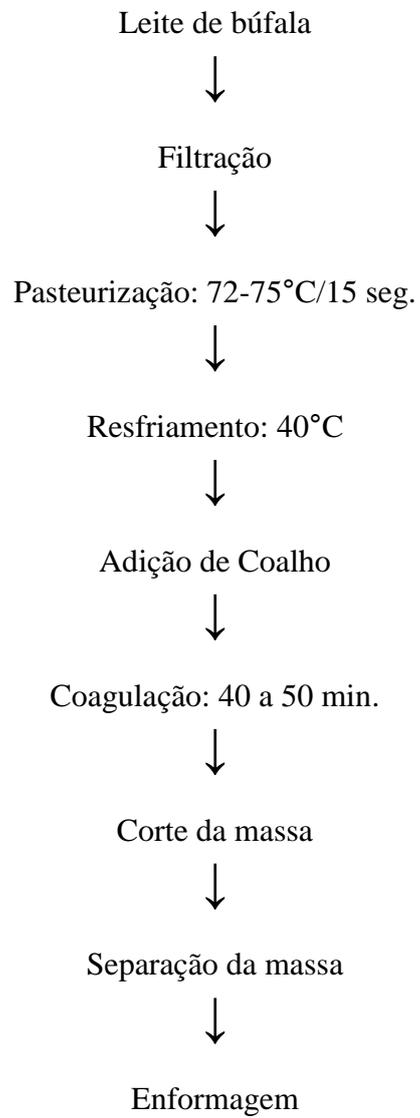
VINDEROLA, C. G., BAILO, N., REINHEIMER, J. A. Survival of probiotic in Argentina yogurts during refrigerate storage. **Food Research International**, Barking, v.33, n.2, p.97-102, 2000.

WALSTRA, P.; GEURTS, T. J.; NOOMEN, A.; JELLEMA; VAN BOEKEL, M. A. J. S. **Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos**. Zaragoza: Acribia, 2001. 730p.

ZADOW, J.G. Utilization of milk components: whey. In: **Advances in milk processing**. London: Chapman & Hall, 1994. 485p.

ANEXOS

ANEXO A- Fluxograma de produção do queijo tipo “Minas Frescal”



ANEXO B- Fluxograma de produção do iogurte

