

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA - UESB PROGRAMA DE PÓS – GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS DE QUEIJOS MUSSARELA ELABORADOS A PARTIR DE LEITES COM DIFERENTES CONTAGENS DE CÉLULAS SOMÁTICAS

VIVIANE FIGUEIREDO VIEIRA

ITAPETINGA-BA

2010



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA - UESB PROGRAMA DE PÓS – GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS DE QUEIJOS MUSSARELA ELABORADOS A PARTIR DE LEITES COM DIFERENTES CONTAGENS DE CÉLULAS SOMÁTICAS

VIVIANE FIGUEIREDO VIEIRA

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Área de Concentração: Engenharia de Processos de Alimentos

Orientadora: Prof^a. DSc. Sibelli Passini Barbosa Ferrão

Co-orientador: Prof. DSc. Fabiano Ferreira da Silva

ITAPETINGA-BA

2010

À amada Virgínia (in memorian), incansável incentivadora da minha carreira profissional, exemplo de luta e determinação

Dedico!

AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida e por todas as conquistas!

Ao meu filho *Felipe* e meu esposo *Joel* pelo amor, paciência e incentivo.

À minha mãe *Vandi* pelo amor incondicional e presença constante nesse trabalho.

À Kátia pela dedicação com que cuidou da minha casa nos meus momentos de ausência.

À professora Sibelli pela orientação e contribuição intelectual.

Ao professor Fabiano pela co-orientação, confiança e apoio.

Ao **Laticínio Pytty** por disponibilizar suas instalações para a realização dessa pesquisa e acima de tudo pela amizade dos seus proprietários, Elias, Nilzete e Hudson.

Ao Laticínio Rocha pela liberação para cursar as disciplinas em 2008.

Á CAPES pela concessão da bolsa de estudos em 2009.

Ao professor **Sérgio** pelo incentivo a esse trabalho.

Aos professores Marcondes, Alexilda, Genebaldo e Paulo Bonomo pelas orientações e amizade.

Aos *colegas e amigos* que me ajudaram na realização dos processamentos, das análises laboratoriais, estatísticas, sensoriais e até mesmo nas correções, *minha profunda gratidão*, sem vocês, não seria possível a conclusão desse trabalho.

À professora e amiga **Camila Maida** pelas orientações nas questões estatísticas e pelo companheirismo nos momentos mais difíceis dessa pesquisa.

Ao prof. **Aureliano** pela amizade, orientações oportunas e disponibilização do laboratório de Forragicultura para a realização das análises de proteína, NNC e NNP com especial agradecimento ao funcionário **Zé** que gentilmente acompanhou meus trabalhos.

À professora **Carmem Lúcia** pelo carinho e pela disponibilização do laboratório de Nutrição Animal para as análises de umidade, derretimento e cinzas.

Ao amigo **Josué** pela disponibilidade na realização de parte das análises do leite.

As professoras Lígia e Mara pelo apoio nas análises Microbiológicas.

Aos funcionários **Sr. Raimundo**, **Aristides**, **Lu e Dona Elza** pela dedicação com que executam suas funções nos permitindo estudar com conforto e segurança.

Aos funcionários **Bárbara e Luciano** pelo gentil atendimento.

Aos **colegas de mestrado** pela amizade e bons momentos de convívio.

Às Professoras **Soraia Matarazzo** (UESC) e **Silmara Carvalho** (UESB) que aceitaram participar e colaborar com esse trabalho, fazendo parte da banca.

RESUMO

VIEIRA, V. F. Características físico-químicas e sensoriais de queijos Mussarela elaborados a partir de leites com diferentes contagens de células somáticas. Itapetinga-Ba: UESB, 2010. 71p. (Dissertação – Mestrado em Engenharia de Alimentos).*

O presente estudo teve por finalidade avaliar o efeito de diferentes contagens de células somáticas (CCS) do leite in natura (níveis de 100.000-250.000, 400.000-750.000 e >750.000 CS/mL) sobre as características físicos-químicas e sensoriais do queijo Mussarela. O leite utilizado nos processamentos do queijo Mussarela foi analisado para pH, acidez titulável, índice crioscópio (IC), densidade, composição (proteína, gordura, lactose, sólidos totais (ST) e sólidos não gordurosos (SNG), CCS e contagem bacteriana total (CBT). Ao final da pasteurização o leite foi submetido às análises microbiológicas para coliformes a 35 °C, Escherichia coli e identificação das enzimas fosfatase alcalina e peroxidase para comprovação da eficiência do tratamento térmico. Após a elaboração, os queijos foram mantidos em câmara fria a 8 °C e avaliados aos 2, 15, 30, 45 e 60 dias após a fabricação, salvo para as análises sensoriais e microbiológicas, que foram aos 2, 30 e 60 dias. O soro resultante da fabricação dos queijos foi analisado para gordura, proteína, lactose e SNG. Os queijos foram produzidos em 3 repetições e foram analisados para pH, acidez, percentuais de gordura, umidade, cinzas, nitrogênio total (NT), nitrogênio não protéico (NNP), nitrogênio não caseinoso (NNC), índice de proteólise, cor (CIE L*a*b*), análise descritiva quantitativa (ADQ), capacidade de derretimento (CD) e análises microbiológicas para coliformes a 35 °C, E. coli e Staphylococus aureus. As faixas de CCS influenciaram o pH, acidez, umidade, componentes de cromaticidade a* e b*, CD e o atributo sensorial sabor ácido, em que as faixas mais altas afetaram negativamente essas características. O tempo de armazenamento influenciou (P<0,05) a coordenada L*, o componente de cromaticidade b*, a acidez e a CD, sendo observado que no decorrer da maturação os queijos tenderam a uma coloração amarela mais escura, a ficarem mais ácidos e com maior facilidade no derretimento. A interação CCS x tempo de armazenamento foi significativa (P<0,05) apenas para aroma ácido, sabor amargo e maciez, sendo que os dois últimos receberam as maiores notas para as faixas mais altas de CCS. Os resultados indicaram que contagens acima de 750.000 CS/mL afetaram negativamente a qualidade do produto final.

Palavras-chave: análise descritiva qualitativa (ADQ), mastite, qualidade.

^{*}O: . 1 G! II'D : . D 1 E ~ DG HEGD G : . . 1

^{*}Orientadora: Sibelli Passini Barbosa Ferrão, *DSc.*, UESB e Co-orientador: Fabiano Ferreira da Silva, *DSc.*, UESB.

ABSTRACT

VIEIRA, V. F. Physico-chemical and sensory characteristics of Mozzarella cheese made from milk with different somatic cell counts. Itapetinga-Ba: UESB, 2010.71p. (Dissertation – Master's degree in Food Engineering)*.

This study aimed to evaluate the effect of different somatic cell counts (SCC) of fresh milk on levels from 100000-250000, 400000-750000 and >750,000 CS/mL) on the physicalchemical characteristics and sensory of Mozzarella cheese. The milk used in the processing of Mozzarella cheese was analyzed for pH, acidity, cryoscope index (CI), density, composition (protein, fat, lactose, total solids (TS) and solids not fat (SNF)), SCC and bacterial counts total (BCT). At the end of pasteurization, the milk was submitted to microbiological testing for coliforms at 35 °C, Escherichia coli and identification of the enzymes alkaline phosphatase and peroxidase for proving the efficiency of thermal treatment. After completion, the cheeses were kept in a cold room at 8 °C and analyzed at 2, 15, 30, 45 and 60 days after manufacture, except for microbiological and sensory analysis, which were at 2, 30 and 60 days. The resulting serum from the manufacturing of cheese was analyzed for fat, protein, lactose and SNF. The cheeses were produced in 3 replicates and were analyzed for pH, acidity, percentage of fat, moisture, ash, total nitrogen (TN), nonprotein nitrogen (NPN), non-casein nitrogen (NCN), index of proteolysis, color (CIE L*a*b*), sensory evaluation, melting capacity (MC) and microbiological analysis for coliforms bacteria at 35 °C, Escherichia coli and Staphylococcus aureus. The tracks of SCC affected pH, acidity, humidity, chromaticity a* b*, MC and sour taste, where the highest tracks affected negatively these characteristics. The storage time influenced (P<0.05) the coordinate L*, the component of chromaticity b*, acidity and MC, it was observed that during the ripening cheeses tended to have a darker yellow color, to become more acid and a greater ease of melting. The interaction SCC x storage time was significant (P<0.05) only for the sensory attributes of aroma acid, bitter taste and tenderness, and the last two sensory attributes received the lowest scores in the highest ranges of SCC. Results indicated that counts over 750,000 CS/mL affected negatively the quality of the final product.

Keywords: qualitative descriptive analysis (QDA), mastitis, quality.

^{*}Adviser: Sibelle Passini Ferrão Barbosa, D.Sc., UESB and Co-adviser: Fabiano Ferreira da Silva, D.Sc., UESB.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição química do leite de vaca	15
Tabela 2 -	Requisitos físico-químicos para o leite cru refrigerado	17
Tabela 3 -	Valores médios e desvio padrão de pH, acidez, índice crioscópico	
	(IC), densidade, gordura, proteína, lactose, sólidos totais (ST) e	
	sólidos não gordurosos (SNG) do leite in natura, utilizado na	
	fabricação dos queijos Mussarela, de acordo com diferentes	
	contagens de células somáticas (CCS)	39
Tabela 4 -	Contagens de coliformes a 35 °C e E. coli do leite pasteurizado	
	utilizado na fabricação dos queijos Mussarela, de acordo com	
	diferentes contagens de células somáticas (CCS)	42
Tabela 5 -	Composição química média, do soro resultante da fabricação dos	
	queijos Mussarela	42
Tabela 6 -	Valores médios e desvio padrão da proteína, gordura e cinzas dos	
	queijos Mussarela de acordo com as faixas de CCS e os tempos de	
	armazenamento	44
Tabela 7 -	Valores médios e desvio padrão da umidade dos queijos Mussarela de	
	acordo com as faixas de CCS e os tempos de armazenamento	45
Tabela 8 -	Valores de pH e acidez do queijo Mussarela, de acordo com a	
	contagem de células somáticas (CCS) no leite in natura	46
Tabela 9 -	Valores médios e desvio padrão da proteólise, índice de extensão da	
	proteólise (IEP) e índice de profundidade da proteólise (IPP) de	
	acordo com a contagem de células somáticas (CCS) no leite in	
	natura e os tempos de armazenamento	47
Tabela 10 -	Valores médios e desvio padrão da capacidade de derretimento	
	(CD) de acordo com a contagem de células somáticas (CCS) no	
	leite in natura e os tempos de armazenamento	49
Tabela 11 -	Valores médios e desvio padrão dos componentes de cor sistema	
	CIE L*a*b* de queijos Mussarela de acordo com a contagem de	
	células somáticas (CCS) no leite in natura e tempos de	
	armazenamento	50

Tabela 12 -	Resumo da ANOVA dos escores de seis atributos sensoriais de		
	queijo Mussarela	53	
Tabela 13 -	Valores médios e desvio padrão dos atributos de uniformidade, cor		
	amarela e sabor ácido, avaliados na análise sensorial dos queijos		
	Mussarela de acordo com diferentes contagens de células somáticas		
	(CCS) no leite in natura e tempo de armazenamento	54	
Tabela 14 -	Valores médios e desvio padrão dos atributos aroma ácido, sabor		
	amargo e maciez, avaliados na análise sensorial dos queijos		
	Mussarela de acordo com diferentes contagens de células somáticas		
	(CCS) no leite in natura e tempo de armazenamento	55	
Tabela 15 -	Contagens de coliformes a 35 °C, E. coli e S. aureus dos queijos		
	Mussarela, de acordo com diferentes contagens de células		
	somáticas	58	

LISTA DE FIGURAS

Evolução da proteólise em queijos	
Fluxograma da produção do queijo Mussarela	
Etapas da análise de capacidade de derretimento: 1-corte; 2-medição	
da espessura da fatia; 3-corte da fatia; 4- Distribuição na placa de	
petri; 5-estufa à 107 °C	34
Ficha individual de avaliação por ADQ	37
Valores médios de CCS dos leites utilizado nos processamentos dos	
queijos Mussarela	40
Valores médios de CBT dos leites utilizado nos processamentos dos	
queijos Mussarela	40
Rendimento bruto dos queijos Mussarela elaborados com diferentes	
contagens de células somáticas	59
	Fluxograma da produção do queijo Mussarela Etapas da análise de capacidade de derretimento: 1-corte; 2-medição da espessura da fatia; 3-corte da fatia; 4- Distribuição na placa de petri; 5-estufa à 107 °C Ficha individual de avaliação por ADQ Valores médios de CCS dos leites utilizado nos processamentos dos queijos Mussarela Valores médios de CBT dos leites utilizado nos processamentos dos queijos Mussarela Rendimento bruto dos queijos Mussarela elaborados com diferentes

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIAÇÕES

AOAC Association of Official Analitycal Chemists

ADQ Análise descritiva qualitativa

APHA American Public Health Association

CCS Contagem de Células Somáticas

CD Capacidade de Derretimento

cm Centímetros

CS Células Somáticas

CV Coeficiente de Variação

Eq. Equação

EUA Estados Unidos da América

IC Índice Crioscópico

IDF International Dairy Federation

IEP Índice de extensão da proteólise

IPP Índice de profundidade da proteólise

kg Quilograma

L Litro

mL Mililitro

M Molaridade

NNC Nitrogênio Não Caseinoso

NNP Nitrogênio Não Protéico

NT Nitrogênio Total

pH Potencial Hidrogeniônico

SAS Statistical Analysis System

SNG Sólidos Não Gordurosos

ST Sólidos Totais

TCA Ácido Tricloroacético

UESB Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

UFC Unidade Formadora de Colônia

UHT Ultra High Temperature

v. Volume

v.v. Volume/volume

SUMÁRIO

RESUMO	5
ABSTRACT	6
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Aspectos gerais da composição e propriedades físico-químicas do leite	15
2.2 Características sensoriais do leite	17
2.3 Considerações gerais sobre a mastite.	18
2.4 Queijos.	20
2.4.1 Queijo Mussarela	20
2.4.2 Características físico-químicas e de rendimento	21
2.4.3 Características sensoriais.	21
2.4.4 Maturação dos queijos	23
2.4.5 Proteólise em queijos	23
2.4.6 Efeitos da mastite sobre a qualidade de produtos lácteos	25
3. MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1 Seleção dos fornecedores	28
3.2 Obtenção do leite	28
3.3 Tratamento térmico e análises do leite pasteurizado	29
3.4 Elaboração do queijo Mussarela	29
3.5 Análises físico-químicas do queijo Mussarela	30
3.5.1 Avaliação da composição	31
3.5.2 Avaliação da proteólise	31
3.5.3 Avaliação da cor	32
3.5.4 Capacidade de derretimento	33
3.5.5 Avaliação do rendimento	34
3.6 Avaliação sensorial do queijo Mussarela	34
3.6.1 Metodologia descritiva.	34
3.6.2 Preparo e apresentação das amostras	35
3.6.3 Recrutamento e pré-seleção de julgadores.	35
3.6.4 Levantamento de atributos e treinamento	36
3.6.5 Seleção de julgadores.	36
3.6.6 Avaliação das amostras	36

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
5. CONCLUSÃO	61
4.4.6 Características de rendimento	58
4.4.5 Características microbiológicas.	58
4.4.4 Análise sensorial descritiva quantitativa	52
4.4.3 Cor	50
4.4.2 Proteólise e capacidade de derretimento	47
4.4.1 Composição e parâmetros físico-químicos	43
4.4 Queijo Mussarela	43
4.3 Soro	42
4.2 Leite pasteurizado.	41
4.1 Leite in natura.	39
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
3.8 Análises estatísticas	38
3.7 Avaliação microbiológica	37

1. INTRODUÇÃO

A demanda mundial de alimentos vem crescendo continuamente nos últimos anos e no caso específico dos produtos lácteos, observa-se rápido desenvolvimento. Nos países de alta renda *per capta* o consumo cresce a uma taxa de 2% ao ano, devido principalmente a produtos de alto valor agregado. Na Europa Oriental, o consumo *per capta* de lácteos é de 15 kg por habitante/ano, no Japão de 7 kg e nos EUA de 5 kg, enquanto que na América Latina e África é de 3 e 2 kg, respectivamente (MARTINS, 2007).

A pecuária de leite tem passado por transformações importantes em todo o mundo. Em quase cinco séculos de existência, a pecuária leiteira desenvolveu-se sem grandes evoluções tecnológicas. Em 1960, o leite tipo B alcançou expressão nacional, entretanto, a pecuária leiteira cresceu qualitativamente apenas a partir de 1980, com a entrada do produto "longa vida" no mercado, tornando-se hoje o leite mais consumido no país. Por volta de 1990, iniciou-se a era do livre mercado, marcada pelo fim do tabelamento do leite no Brasil, promovendo a dispersão das bacias leiteiras e organização dos laticínios, que passaram a impor o preço do leite. Os reflexos negativos desta situação sobre a pecuária leiteira ainda ocorrem nos dias atuais, uma vez que os preços do leite são determinados pelo mercado (RUBEZ, 2009).

Para que o produto final apresente qualidade é necessário que se tenha um leite *in natura* com boas características sensoriais, físico-químicas e microbiológicas e que seja livre de qualquer tipo de resíduo antimicrobiano. Com a globalização da economia e a competitividade por ela estabelecida, a qualidade do leite passou a ser uma das principais preocupações da cadeia produtiva de leite, a fim de se obter bons resultados econômicos.

Entretanto, a qualidade insatisfatória do leite produzido no Brasil é um problema crônico, em que fatores de ordem social, cultural e econômica estão envolvidos. Ao se promover essa melhoria deve-se considerar que o controle inicia-se no processo de produção da fazenda por meio de aquisição e manutenção de animais saudáveis e um manejo higiênico-sanitário adequado. Nas etapas de industrialização, distribuição e comercialização são inúmeros os cuidados que devem ser tomados e o investimento em qualidade beneficia diretamente o produtor, a indústria e o consumidor.

A avaliação da qualidade do leite mais usada no mundo está baseada nos padrões de contagem de células somáticas (CCS). Nos EUA e Europa a CCS é extensivamente usada para monitorar a mastite e parece ser a ferramenta mais importante na formação do preço do leite ou na sua rejeição pelas indústrias (RENEAU e PACKARD, 1991).

Com o surgimento de métodos eletrônicos para a CCS, esta medida tornou-se amplamente difundida. Considera-se que CCS superior a 280.000 CS/mL no leite é um indicativo de mastite subclínica. Atualmente, a CCS do rebanho e do tanque é uma ferramenta extremamente valiosa na avaliação do nível de mastite subclínica, aquela que não pode ser diagnosticada visualmente, mas contribui para perdas de produção de leite e redução da qualidade do leite produzido na fazenda (FONSECA e SANTOS, 2000).

Ao se trabalhar com leite de melhor qualidade tem-se a vantagem de possuir maior concentração de sólidos totais, proteína e menor contagem de bactérias. Tal evidência promove rendimento industrial superior e também o maior tempo de prateleira dos produtos derivados. A industrialização do leite com altas contagens de células somáticas conduz à redução no rendimento dos queijos, aumento do conteúdo de água, baixa taxa de enrijecimento do coágulo, alterações negativas nas propriedades sensoriais, defeitos de textura e elevada perda de sólidos no soro. Deve-se ressaltar, porém, que a maioria desses dados são originários de trabalhos científicos realizados em outros países, utilizando queijos pouco consumidos no Brasil (MITCHELL *et al.*, 1986; KLEI *et al.*, 1998; MARINO *et al.*, 2005).

Objetivou-se com esse trabalho avaliar o impacto de três diferentes contagens de células somáticas do leite utilizado na fabricação do queijo Mussarela sobre suas características físico-químicas e sensoriais em diferentes tempos de armazenamento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais da composição e propriedades físico-químicas do leite

Da grande variedade de alimentos disponíveis à população para consumo, o leite destaca-se pela sua rica constituição, sendo inclusive usado, em muitos casos, como a única fonte de alimento para os recém-nascidos (REZENDE, 2000).

A composição média do leite de vaca pode ser visto na Tabela 1. O leite apresenta-se como uma emulsão líquida em que a fase contínua é formada de água e substâncias hidrossolúveis ao passo que a fase interna ou descontínua é formada, principalmente, de micelas de caseína e de glóbulos de gordura (SGARBIERI, 2005).

Tabela 1. Composição química do leite de vaca

Componentes	Conteúdo médio no leite (%)	Faixa de variação (%)	Conteúdo médio no extrato seco (%)
Água	87,1	85,3-88,7	-
Sólidos não gordurosos (SNG)	8,9	7,9-10,0	-
Lactose	4,6	3,8-5,3	36,0
Gordura	4,0	2,5-5,5	31,0
Proteína ¹	3,25	2,3-4,4	25,0
Caseína	2,6	1,7-3,5	20,0
Minerais	0,7	0,57-0,83	5,4
Ácidos orgânicos	0,17	0,12-0,21	1,3
Outros	0,15	-	1,2

¹Não se incluem os compostos nitrogenados não protéicos.

Fonte: Adaptado de WALSTRA (2001)

A lactose é o carboidrato característico do leite, um dissacarídeo composto por glicose e galactose. A matéria gorda está constituída fundamentalmente por triglicerídeos, e seus ácidos graxos apresentam cadeias carbônicas de 2 até 20 átomos de carbono com diferentes graus de saturação, e pequenas quantidades de outros lipídeos como fosfolipídeos, colesterol, ácidos graxos livres e diglicerídeos. Em torno de 80% das proteínas do leite são caseínas, que por sua vez estão constituídas por uma mistura de 10 tipos de proteínas diferentes e o restante corresponde às chamadas proteínas do soro. Além dessas, há outras em menor quantidade, as enzimas. Os minerais não equivalem exatamente ao conteúdo em sais e os principais são

potássio (K), sódio (Na), cálcio (Ca), magnésio (Mg), cloro (Cl) e fosfatos. Os sais se encontram na forma ionizada e os ácidos orgânicos se encontram como íons e como sais, sendo que o mais abundante é o citrato (WALSTRA, 2001).

Cabe ressaltar que a importância dos componentes não é determinada apenas pela proporção encontrada do leite. As vitaminas, por exemplo, encontradas em pequenas quantidades, têm importante papel do ponto de vista nutricional, as enzimas agem como catalisadores em reações, e outras contribuem decisivamente para o *flavor* do leite (WALSTRA, 2006).

De acordo com Wattiaux (2008), o leite é uma solução aquosa diluída, onde as substâncias polares se dissolvem mantendo a constante dielétrica elevada. Os íons presentes no leite são responsáveis por sua condutividade elétrica que varia em função da temperatura e dos teores de Na, Cl, K, fosfatos e nitratos.

A viscosidade do leite é maior do que a água devido à presença de gordura e micelas de caseína. O leite integral e o leite desnatado apresentam viscosidade aproximada de 1,631 e 1,404 centipoise, respectivamente (PEREIRA *et al.*, 2001).

O leite tem pH normal em torno de 6,7 e é muito dependente da temperatura, diminuindo com o aumento da mesma. Não há necessariamente uma correlação direta entre pH e acidez, mas quando ocorre produção de ácido, a redução do pH é proporcional ao aumento da acidez. O crescimento dos microrganismos não é inibido pelas propriedades do leite, que apresenta alta atividade de água, ao redor de 0,993. Sendo assim, o leite é um substrato ideal para o desenvolvimento de muitos microrganismos apesar de sua pressão de oxigênio não ser elevada (WALSTRA, 2001).

As proteínas do leite podem ser classificadas em quatro grupos de acordo com suas propriedades físico-químicas e estruturais: a) caseínas; b) proteínas do soro; c) proteínas das membranas dos glóbulos de gordura; d) enzimas e fatores de crescimento (SGARBIERI, 1996; LOURENÇO, 2000).

As proteínas do leite constituem ingredientes dos mais valorizados pelas suas excelentes propriedades nutritivas, tecnológicas e funcionais. Suas propriedades nutritivas e tecnológicas derivam da composição em aminoácidos que atendem à maioria das exigências fisiológicas do ser humano (Swaisgood, 1982) e de suas propriedades físico-químicas, que proporcionam propriedades funcionais de grande interesse tecnológico como: solubilidade, absorção e retenção de água e de gordura, capacidade emulsificante e estabilidade das

emulsões, formação de micropartículas, melhoria nas propriedades sensoriais e na aceitação dos produtos (WONG *et al.*, 1996; MODLER, 2000).

De maneira geral, as propriedades físico-químicas do leite podem ser avaliadas por meio de vários testes que afetam, direta ou indiretamente, o nível de aceitação e capacidade de processamento do produto, entre as quais se destacam, de acordo com Fonseca e Santos (2000), a densidade, crioscopia, pH e acidez titulável.

Segundo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado da Instrução Normativa 51 (BRASIL, 2002) o leite cru refrigerado deve apresentar os seguintes requisitos físico-químicos dentro da propriedade rural (Tabela 2).

Tabela 2 - Requisitos físico-químicos para o leite cru refrigerado.

Requisitos	Limites	
Gordura (g/100 g)	Teor original, com mínimo de 3,0 ¹	
Densidade relativa a 15 0 C (g/L) 2	1,028 a 1,034	
Acidez titulável (g de ácido lático/100 mL)	0,14 a 0,18	
Extrato seco desengordurado (g/100 g)	Mínimo de 8,4	
Índice crioscópico (máximo)	- 0.530^{0} H (equivalente a -0.512^{0} C)	
Proteínas (g/100 g)	Mínimo de 2,9	

¹proibida a realização de padronização ou desnate na propriedade rural, ²dispensada a realização quando o extrato seco desengordurado for determinado eletronicamente. FONTE: Adaptado de BRASIL (2002).

2.2. Características sensoriais do leite

De acordo com Early (1998) o *flavor* é um dos atributos mais importantes do leite de boa qualidade. A maior parte dos compostos responsáveis pelo aparecimento de sabores e odores estranhos no leite não podem ser eliminados, mas boa parte das substâncias voláteis formadas são mascaradas pelo aquecimento. O crescimento microbiano tanto antes quanto depois do aquecimento pode gerar diversos *flavors* desagradáveis, inclusive os pútridos, o que se deve geralmente à ação de microrganismos psicrotróficos. A atividade das enzimas naturais do leite pode dar lugar ao aparecimento de sabores amargos, como ocorre no leite *Ultra High Temperature* (UHT) por ação proteolítica da plasmina. Sabores rançosos também surgem por ação de lipases.

Venturini (2007) descreve que o leite apresenta características próprias de sabor, odor, e cor. O leite fresco possui um sabor levemente adocicado e agradável, devido essencialmente à alta quantidade de lactose. Além disso, os outros elementos do leite, inclusive as proteínas que são insípidas, participam de alguma forma da sensação de sabor. Pode ocorrer mudança no sabor do leite devido a várias causas, estando relacionadas fundamentalmente ao manejo dos animais e à forma de processamento. O teor de gordura exerce grande influência sobre o sabor do leite. O odor se apresenta suave, levemente ácido. Os principais elementos que influenciam o odor do leite são provenientes de alimentos, meio ambiente, utensílios que entram em contato com o mesmo e microrganismos. A cor característica do leite (branco-amarelada opaca) é devida principalmente à dispersão da luz pelas micelas de caseína, sendo que glóbulos de gordura dispersam a luz, mas pouco contribuem para a cor branca do leite. A cor amarelada é devida à substâncias lipossolúveis (caroteno e a riboflavina).

Alguns dos ácidos graxos são encontrados em quantidades muito pequenas, mas contribuem para o sabor único e desejável da gordura láctea e da manteiga. Por exemplo, o ácido mirístico (C 14:0) e o palmítico (C 16:0) hidroxilados na posição β formam lactonas espontaneamente mediante o aquecimento, o que acentua o sabor da manteiga (CAMPOS, 2008).

2.3 Considerações gerais sobre a mastite

O leite contido na glândula mamária de animais saudáveis é considerado totalmente estéril, entretanto vários pontos são considerados críticos no que diz respeito à obtenção do leite. Imediatamente após a ordenha, o leite contém poucos microrganismos, porém, após um certo tempo, a carga microbiana do leite pode aumentar devido à contaminação por microrganismos provenientes do ambiente e do homem (FONSECA e SANTOS, 2000).

Os microrganismos infecciosos, por sua vez, são agentes causadores de mastite, definida pela *International Dairy Federation* (IDF,1987) como uma inflamação da glândula mamária, a qual freqüentemente tem origem bacteriana (Costa *et al.*, 1995; Langoni *et al.*, 1998). Para Tronco (2003), esta é uma doença preocupante do rebanho leiteiro, capaz de proporcionar grandes prejuízos, não somente pela queda da produção láctea devido à perda da capacidade secretora da glândula mamária, mas também pelas alterações das características microbiológicas e físico-químicas do leite. Para Forsythe (2002) o risco de veiculação de microrganismos patogênicos e/ou suas toxinas por meio do leite atestam a importância das mastites e suas implicações em saúde pública, como salmoneloses, colibaciloses, listerioses,

campilobacterioses, micobacterioses, iersinioses e intoxicações alimentares causadas por toxinas produzidas por *Staphylococcus aureus*.

Células somáticas são derivadas do animal e estão presentes naturalmente no leite. Dentre essas, encontram-se células de descamação, devido ao processo natural de renovação do epitélio da glândula mamária e células brancas de defesa, derivadas da circulação sanguínea. Em um animal sadio, o principal tipo celular encontrado são as células epiteliais representando cerca de 80% do total. Quando ocorre uma infecção no úbere por patógenos a contagem de células aumenta, principalmente pela grande quantidade de células de defesa, como macrófagos, linfócitos e leucócitos polimorfonucleares, que migram do sangue para o úbere para combater os invasores e, nessa situação, elas passam a representar a maioria das células somáticas do leite. Assim, o aumento da CCS, acompanhado da alteração da proporção entre os tipos celulares, é utilizado como indicador da ocorrência de mastite, o processo inflamatório da glândula mamária (GIGANTE, 2008).

A CCS, além de revelar o estado de saúde da glândula mamária do animal, vem sendo usada há muito tempo por diferentes países como indicador da qualidade higiência do leite (SANTOS, 2009a). O limite legal para contagem de células somáticas no leite estocado em tanques nos Estados Unidos é de 750 mil CS/mL, no Canadá esse valor é de 500 mil CS/mL, na Nova Zelândia, Austrália e Europa o limite é de 400 mil CS/mL. Estudos estão sendo realizados para reduzir este limite nos EUA e Canadá para 400 mil CS/mL e na Nova Zelândia para 300 mil CS/mL (LARRY SMITH e HOGAN, 1998).

Recentemente, a legislação sobre a produção de leite no Brasil foi alterada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento por meio da Instrução Normativa nº 51 (BRASIL, 2002). As principais mudanças que esta nova Instrução trouxe foram a adoção de parâmetros de qualidade como a contagem padrão em placas, a contagem de células somáticas, a ausência de resíduos de antimicrobianos, entre outros. A adaptação dos produtores a esta nova lei vem sendo feita de forma gradual, e atualmente as regiões Sul, Sudeste e Centro Oeste obedecem a um limite de 750.000 e passarão a 400.000 CS/mL a partir de 01 de julho de 2011. Para as regiões Norte e Nordeste esse limite é de 1.000.000 CS/mL, passando a 750.000 em 01 de julho de 2010 e, finalmente se igualando às regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste em julho de 2012.

De acordo com Schällibaum (2001), há quatro formas em que a alta contagem de células somáticas pode afetar a qualidade do leite processado, sendo: alteração na composição do leite; alteração nas propriedades tecnológicas; impacto na qualidade dos produtos derivados do leite e impacto econômico no processamento do leite. Sendo assim, a mastite é

considerada a principal doença que afeta os rebanhos leiteiros no mundo, e aquela que proporciona as maiores perdas econômicas na produção de leite.

2.4 Queijos

A classificação dos queijos baseia-se em características decorrentes do tipo de leite utilizado, do tipo de coagulação, da consistência da pasta, do teor de gordura, do tipo de casca, do tempo de cura, entre outros. Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), por meio da Portaria 146/96 (BRASIL, 2002), entende-se por queijo o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro de leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado) ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, enzimas específicas de bactérias, ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para o uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes.

2.4.1 Queijo Mussarela

O queijo Mussarela é definido como o queijo que se obtém por filagem de uma massa acidificada (produto intermediário obtido por coagulação de leite por meio de coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas) complementada ou não pela ação de bactérias lácticas específicas, sendo um queijo de média (36 a 45,9%), alta (46 a 54,9%) ou muito alta (não inferior a 55%) umidade e extragordo (mínimo de 60%), gordo (45,0 a 59,9%) e semigordo (25 a 44,9% de gordura na matéria seca) (BRASIL, 1997).

Em razão de mudanças de hábitos alimentares, como o consumo crescente de alimentos tipo *fast food* e pizzas, o queijo Mussarela é atualmente um dos mais fabricados no Brasil e no mundo, atingindo cerca de 33% do mercado brasileiro de queijos em 2004, o que representou quase 145 mil toneladas/ano (SANTOS, 2009b).

Além dos problemas de alta contagem bacteriana do leite que podem afetar a qualidade do queijo Mussarela, a CCS é um fator importante relacionado com rendimento e qualidade, uma vez que o leite sofre alterações de composição e de aumento da atividade enzimática (ANDREATTA, 2006)

2.4.2 Características físico-químicas e de rendimento

Segundo Perry (2004), o queijo é um concentrado lácteo constituído de proteínas, lipídios, carboidratos, sais minerais, cálcio, fósforo e vitaminas A e B. É um dos alimentos mais nutritivos que se conhece: um queijo com 48% de gordura contém cerca de 23-25% de proteína o que significa que, em termos de valor protéico, 210g desse produto equivalem a 300g de carne. O líquido residual, cujo valor varia com o tipo de queijo, é chamado lactosoro, boa parte dele é eliminada durante o processo de fabricação e aproveitada como matéria-prima na produção de bebida láctea, ricota e outros produtos.

O rendimento dos queijos é afetado por vários fatores, sendo eles diretos e indiretos. A composição do leite através do teor de gordura e proteínas, a composição do queijo influenciada principalmente por seu teor de umidade e as perdas obtidas no corte da coalhada são considerados os fatores diretos. Já os fatores indiretos são a estocagem do leite sob refrigeração, que provoca mudanças físico-químicas no leite, a contagem de bactérias psicrotróficas, pois estas produzem enzimas termoresistentes, a atividade da plasmina que promove atividade proteolítica na caseína, o tipo de coalho utilizado, a pasteurização do leite e a contagem de células somáticas, que por meio de suas enzimas proteolíticas degradam a caseína e por meio de componentes antibacterianos inibem a atividade das culturas láticas. (O RENDIMENTO..., 2010).

2.4.3 Características sensoriais

De acordo com Stone e Sidel (2004) os métodos sensoriais descritivos, tais como perfil de sabor, perfil de textura e análise descritiva quantitativa são de grande utilidade na solução de diversos problemas associados ao controle de qualidade, estudos de vida-deprateleira, desenvolvimento de novos produtos ou na interpretação das preferências dos consumidores. Damásio e Costell (1991) relataram que estes métodos são cada vez mais utilizados, embora apresentando certas desvantagens, como a necessidade de grande número de sessões de treinamento. Mesmo com a padronização dos termos, os provadores apresentam muitas diferenças na percepção e na forma de descrever os alimentos, ocorrendo com muita freqüência discordância entre os membros da equipe. Os atributos de qualidade mensurados em laboratório procuram traduzir os atributos de qualidade percebidos pelo consumidor, sendo essas características medidas física ou quimicamente.

O queijo Mussarela tem como características sensoriais próprias, consistência semisuave ou suave, segundo o conteúdo de umidade, gordura e grau de maturação. A textura

deve ser fibrosa, elástica e fechada. O sabor e odor devem ser láctico pouco desenvolvidos. Não possuem crostas ou olhaduras e a cor varia entre branco a amarelado (BRASIL, 1997).

De acordo com Perry (2004), a cor dos queijos está intimamente ligada à gordura do leite e, por isso, sujeita a variações sazonais. A cor é um importante fator de qualidade que o consumidor associa no momento da compra, constituindo o critério básico para sua seleção, a não ser que outros fatores, como odor, sejam marcadamente deficientes.

A percepção da cor é um fenômeno fisiológico e que varia de acordo com a visão do observador e com a qualidade e intensidade da luz, bem como com as propriedades físicas e químicas do alimento. Além disso, a medição da cor requer que variáveis como a área do objeto, luminosidade suficiente com espectro visível e visão do homem sejam controladas. Não existe uma recomendação geral quanto ao procedimento de mensuração da cor, pois os equipamentos usualmente utilizados (colorímetros e espectrofotômetros) podem apresentar características distintas quanto ao diâmetro de abertura, tipo de iluminante e ângulo de observação, produzindo resultados semelhantes, mas não iguais. Um sistema de mensuração de cor muito utilizado em diversas áreas é o espaço L* a* b*, também conhecido como CIELAB. Neste espaço, L* indica luminosidade e a* e b* são coordenadas de cromaticidade, onde o eixo -a*_____+a* vai de verde a vermelho, e -b*_____+b* vai de azul a amarelo. Em cada uma dessas direções (eixos a e b), quando se caminha para as extremidades tem-se maior saturação da cor (MACDOUGALL, 1994).

Oliveira *et al.* (2002) trabalhando com iogurte produzido com alta CCS no leite verificaram menores notas no sabor, sendo o mesmo verificado por Andreatta (2006) avaliando queijo Minas Frescal com faixa de CCS acima de 800.000 CS/mL.

A indústria da pizza nos EUA apresentou um impressionante crescimento a partir da década de 70 e viu a consolidação das redes de pizzarias no final dos anos 80. Essas mudanças levaram as indústrias a produzirem mussarelas com novas características funcionais, entre elas destaca-se a capacidade de derretimento (KINDSTEDT, 2004).

O processamento industrial do queijo Mussarela tem importantes etapas que definem a sua qualidade e adequação aos diferentes tipos de usos. As características de fusão e textura são influenciadas por inúmeros fatores, dos quais um dos mais importantes é a composição da matéria-prima; assim sendo, influem nesta fundibilidade as concentrações de Ca e P presentes na coalhada, a umidade do queijo, o teor de cloreto de sódio (NaCl) e a caseína e estudos mais recentes, tem se preocupado com a gordura e sua interação com a caseína (VALLE *et al.* 2004).

A capacidade de derretimento está definida como a facilidade com que o queijo esparrama ao ser aquecido sobre a pizza, de maneira homogênea e sem formação exagerada de *blisters* (bolhas), sendo que fatores como a firmeza (resistência ao derretimento) também estão envolvidos na avaliação (FURTADO,1997).

2.4.4 Maturação dos queijos

A composição e a estrutura do queijo são determinadas pelo leite e pelo processo de fabricação, mas durante a maturação são definidas as características particulares de cada tipo de queijo. Além disso, outros fatores também contribuem nesta determinação, como a microbiota presente - principalmente oriunda do fermento, do leite e/ou pelos cultivos secundários. A intensidade e o produto da transformação dos constituintes da massa do queijo variam em função de cada tipo de queijo, além dos compostos que possam ser formados pelas enzimas presentes no queijo, sejam elas do próprio leite, do fermento e/ou do coalho. Assim, controlando o processo de maturação podem-se desenvolver importantes características no queijo. Algumas destas características levam tempo para serem obtidas, como o que ocorre com os queijos Parmesão, Gouda, Cheddar, etc., o que faz do processo de maturação um gargalo econômico para muitas indústrias. O desenvolvimento do sabor e da textura é fortemente dependente do perfil de pH, da composição do leite e do queijo, da salga, da temperatura de maturação e da umidade (TAMIME, 2006).

Na maturação, diferentes variedades de queijo adquirem suas características de sabor, aroma e textura próprias, por meio de mudanças físicas e químicas complexas. Segundo Rocha (2004), durante a maturação, as enzimas nativas do leite e as provenientes do coalho e de microrganismos catalisam as reações de decomposição dos três principais componentes do leite: lactose, gordura e proteína, retidos no queijo. Dessa decomposição resultam inúmeros metabólitos responsáveis pela variação nas características dos queijos.

2.4.5 Proteólise em queijos

Aproximadamente 50 tipos de atividades enzimáticas tem sido detectadas no leite de vaca. As principais enzimas são: xantina-oxidase, lactoperoxidase, catalase, lipase, fosfatase alcalina, lisozima e plasmina. O tratamento térmico influi na atividade dessas enzimas como no caso da fosfatase alcalina, que é inativada pela pasteurização. Entretanto, a fosfatase

alcalina e a plasmina podem apresentar um certo grau de reativação posterior ao tratamento térmico (WALSTRA e JENNESS, 1986).

Existem vários tipos de proteases presentes no leite bovino, sendo algumas originadas do desenvolvimento de microrganismos e outras derivadas do sangue do animal, da alimentação, do estágio de lactação e de doenças como a mastite (FONSECA e SANTOS, 2000). As principais proteases são a plasmina, plasminogênio, ativadores de plasminogênio, trombina, catepsina D, proteases ácidas do leite, aminopeptidases e proteases derivadas de leucócitos (células somáticas). Há proteases que são secretadas na forma de um precursor inativo. Sob condições fisiológicas, esses precursores são convertidos nas formas ativas por autólise (auto-ativação) ou por uma limitada proteólise por outra protease. Por exemplo, a plasmina é a forma ativa que é produzida a partir do zimógeno denominado plasminogênio. A conversão do plasminogênio em plasmina ocorre pela ação específica de ativadores do plasminogênio, os quais são também proteases, o resultado da atividade da plasmina é a quebra de cadeias de algumas proteínas lácteas especialmente a caseína (SILVA, 2004).

A proteólise é a quebra da proteína durante a maturação do queijo, que deve ser um processo controlado para resultar em compostos de sabor e odor desejáveis, a proteólise se dá em etapas, conforme etapas abaixo (Figura 1).

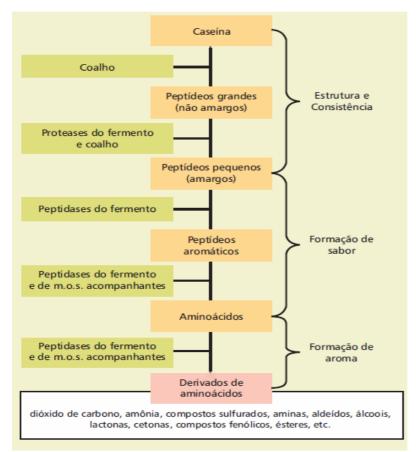


Figura 1. Evolução da proteólise em queijos.

Fonte: HANSEN (2006)

Na primeira etapa da proteólise ocorre a quebra das proteínas (caseínas) em peptídeos maiores, os quais serão posteriormente degradados em peptídeos menores, sendo que alguns podem ser amargos. Posteriormente, havendo uma quebra desses peptídeos menores o sabor amargo desaparece e há liberação de aminoácidos que contribuem para o sabor do queijo, mas pouco influenciam no aroma. Compostos aromáticos são formados a partir da degradação de aminoácidos, levando a formação de grande quantidade e variedade desses compostos (CHRISTIAN HANSEN, 2006).

A proteólise é uma reação crítica para a conversão da massa em um queijo bem maturado. É um processo gradual que começa com a ruptura da molécula protéica até a formação em polipeptídeos, oligopeptídeos e de aminoácidos, que podem, junto com outras substâncias geradas durante a glicólise e a lipólise, participarem por si mesmos do sabor e do aroma dos produtos. A degradação da caseína no queijo se deve a proteinases microbianas residuais, provenientes do fermento, e de proteínas nativas do leite como a plasmina (ORDÓÑEZ PEREDA, 2005).

Ainda de acordo com Ordóñez Pereda (2005), pode-se afirmar que a consistência e o sabor do queijo dependem muito da proteólise que ocorre durante sua maturação. Nas primeiras semanas de maturação o coalho hidrolisa a fração α-S1 da caseína, o que provoca o enfraquecimento da rede protéica da mesma. Em adição, a hidrólise da β-caseína e posterior hidrólise do peptídeo a peptídeos menores e aminoácidos ocorre, principalmente, devido à atividade proteolítica da plasmina, da quimosina e enzimas bacterianas do fermento lático.

Além dos desdobramentos primários, durante a cura de um queijo geralmente ocorrem reações metabólicas secundárias, sendo o ácido lático, peptídeos e ácidos graxos transformados na mais variada gama de produtos que contribuem para o refinamento do sabor, aroma e características típicas de um determinado tipo de queijo. A complexidade do mecanismo de cura de um queijo aumenta com o tempo, daí os segredos ainda existentes em termos de queijos finos de longa maturação (SABIONI, 2000).

2.5.6 Efeitos da mastite sobre a qualidade de produtos lácteos

Após a ordenha de vacas sadias os constituintes do leite fluido encontram-se em perfeito equilíbrio físico-químico, o que garante a estabilidade do produto. A variação da composição frente à mastite afeta a estabilidade do leite e suas características sensoriais e tecnológicas. De forma geral, estas mudanças estão relacionadas à alteração do perfil

enzimático. Por exemplo, defeitos de sabor como ranço e amargo são decorrentes da ação de enzimas proteolíticas e lipolíticas sobre a proteína e gordura do leite, e redução do rendimento em produtos de base protéica relaciona-se à degradação da caseína por enzimas proteolíticas (ANDREATTA, 2006).

Nornberg *et al* (2010) realizando trabalho na região Sul do Brasil isolou bactérias psicrotróficas do leite cru refrigerado coletado em tanques de expansão e caminhões graneleiros com contagens entre 4,9 e 7,8 log UFC/mL e 5,3-7,2 log UFC/mL, respectivamente. Apesar de 90% das bactérias isoladas apresentarem baixa atividade proteolítica, algumas espécies como *Burkholderia cepacia, Klebsiella oxytoca* e *Aeromonas sp.* mostraram-se altamente proteolíticas. Suas proteases resistiram ao tratamento térmico para leite UHT causando sua coagulação em apenas 5 dias de armazenamento em temperatura ambiente. Vidal-Martins *et al* (2005) também observou maior proteólise no decorrer do armazenamento do leite UHT e aumento da viscosidade aparente após 60 dias de estocagem, provavelmente relacionados à presença de proteases de bactérias psicrotróficas do leite cru.

Atividade residual de proteases de bactérias tem sido associada com as perdas no rendimento de queijo, a formação de *off-flavours*, geleificação do leite e coagulação das proteínas do leite UHT durante a estocagem (DATTA e DEETH, 2003).

Embora a literatura descreva o efeito da CCS em diferentes produtos lácteos, como leite pasteurizado, leite UHT, manteiga, leite em pó e creme de leite, a maior parte dos estudos concentra-se nos produtos de base protéica como queijo e iogurte. Nestes produtos, a transformação da matéria-prima em produto processado depende essencialmente da caseína, cuja síntese é reduzida e a hidrólise é favorecida durante a mastite (GIGANTE, 2008).

De forma simplificada, a mastite reduz a concentração de caseína do leite, embora em muitos casos a proteína total possa permanecer inalterada ou até aumentada devido à elevação proporcional de proteínas do soro provenientes do sangue e que são transferidas para o leite durante a mastite (FONSECA e SANTOS, 2000).

Os queijos semiduros quando elaborados com leite com altas contagens de células somáticas podem apresentar significativa redução no rendimento industrial, com valores entre 4% (Oliveira *et al.*, 2009) e 11% (SANTOS, 2009b).

As principais alterações ocorridas no queijo produzido com leite apresentando CCS elevadas são: a redução no rendimento industrial (GRANDISON e FORD, 1986); aumento do conteúdo de água no coágulo (MITCHELL *et al.*, 1986); alterações negativas nas propriedades sensoriais (MUNRO *et al.*, 1984; AULDIST *et al.*, 1996); aumento do tempo para formação do coágulo (KLEI *et al.*, 1998; ROGERS e MITCHELL, 1994); baixa taxa de

enrijecimento do coágulo e defeitos de textura (KLEI *et al.*, 1998; POLITIS e NG-KWAI-HANG, 1988) e elevada perda de sólidos no soro do queijo (BARBANO *et al.*, 1991).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Seleção dos fornecedores

O leite dos fornecedores selecionados para esse trabalho foi obtido na plataforma de um laticínio comercial no município de Itapetinga/BA, no período de maio a agosto de 2009. Após a chegada dos latões, com auxílio de um agitador manual de inox, o leite de cada latão foi agitado com 10 movimentos verticais e 40 mL transferidos para frasco identificado, contendo uma pastilha do conservante bronopol para análise de composição e células somáticas. Outro frasco esterilizado de igual volume foi preenchido com leite e adicionou-se 4 gotas do conservante azidiol para contagem bacteriana total (CBT). Depois de tampados, foram homogeneizados com movimentos suaves até completa dissolução dos conservantes. Foram coletadas amostras de 36 produtores nessa etapa.

Todas as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo reciclável a fim de que a temperatura não ultrapassasse 7 °C durante todo o período compreendido entre a coleta até a recepção a um dos Laboratórios da Rede Brasileira de Qualidade do Leite, onde as amostras foram analisadas.

A análise de composição centesimal foi realizada utilizando-se equipamento eletrônico Bentley 2000 (1998) que quantifica os macrocomponentes por ondas no infravermelho (Determination, 1996). A contagem de células somáticas foi realizada pelo método de citometria de fluxo (Enumeration, 1995) no equipamento Somacout 300 (unidade acoplada ao Bentley 2000). A CBT foi realizada em equipamento Bentley Bactocount 150 que apresenta o mesmo princípio de funcionamento do Somacount 300, a citometria de fluxo (BACTOCOUNT, 2002).

A partir da análise de CCS, foi efetuada a seleção dos produtores de leite em três categorias, com 100.000-250.000 CS/mL, 400.000-750.000 CS/mL e >750.000 CS/mL.

3.2 Obtenção do leite

Uma semana após a seleção dos fornecedores, 100 litros de leite de cada nível de CCS foram obtidos para o processamento do queijo Mussarela, independentemente do número de fornecedores. Essa coleta foi realizada na plataforma do laticínio de onde foram coletadas, em duplicata, amostras de 40 mL de leite para determinação de CCS, composição e CBT seguindo-se a mesma metodologia e cuidados citados no item 3.1. Ainda nos baldes, foram

coletadas, em duplicata, amostras de 500 mL e encaminhadas sob refrigeração, no mesmo dia, para o Laboratório de Processamento do Leite e Derivados da UESB, para análise de acidez titulável, pH, densidade e índice crioscópico (IC) de acordo com BRASIL (2006).

O leite coletado nos latões de 50 L foram levados imediatamente para a sala de produção de queijos e transferido para tanque inox com parede dupla, previamente higienizado para o início do processamento do queijo Mussarela.

3.3 Tratamento térmico e análises do leite pasteurizado

No tanque de fabricação, os leites sofreram tratamento térmico à temperatura de 65°C por 30 minutos, seguido de resfriamento imediato, para cerca de 34°C. Neste momento, foram coletadas, em duplicata, amostras de 100 mL para determinação de acidez titulável, pH (BRASIL, 2006) e análises microbiológicas (coliformes a 35 °C e *E. coli*) segundo a AOAC (1995). A eficiência do tratamento térmico foi avaliada pela análise das enzimas fosfatase alcalina e peroxidase (IAL, 1985).

3.4 Elaboração do queijo Mussarela

O queijo Mussarela foi fabricado separadamente para cada nível de CCS no leite e a produção realizada no mesmo dia, obedecendo aos critérios de elaboração descritos por Oliveira (1986). Este procedimento foi feito em 3 repetições. Durante a dessoragem amostras de soro, em duplicata, foram retiradas para análises de acidez titulável, pH (BRASIL, 2006) e composição em analisador de leite por ultra-som, Lactoscan LA, no Laboratório de Processamento do Leite e Derivados da UESB. O fluxograma da fabricação do queijo pode ser visto na Figura 2.

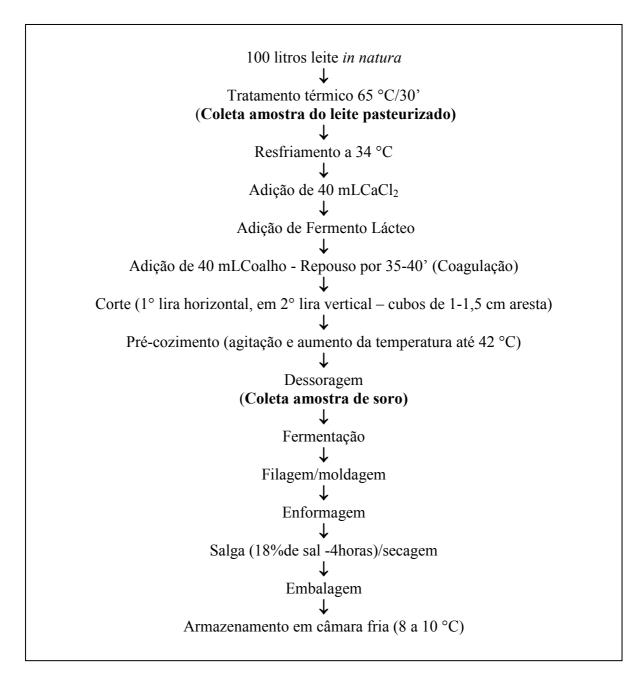


Figura 2. Fluxograma da produção do queijo Mussarela.

3.5 Análises físico-químicas do queijo Mussarela

Do total do queijo produzido foram colhidas aleatoriamente 5 amostras embaladas individualmente, de cada tratamento em cada repetição e armazenadas para avaliações físico-químicas aos 2, 15, 30, 45 e 60 dias após a fabricação. Para as análises sensoriais e microbiológicas foram colhidas 3 amostras de cada tratamento em cada repetição e as avaliações foram feitas apenas nos tempos 2, 30 e 60 dias.

3.5.1 Avaliação da composição centesimal

Para a composição dos queijos foram determinados o teor de umidade pelo método gravimétrico em estufa a 105 °C e percentual de cinzas em mufla a 550 °C no laboratório de Nutrição Animal (UESB). O percentual de gordura foi determinado pelo método Gerber, pH por método potenciométrico e a acidez titulável foram feitas no Laboratório do Processamento do Leite e Derivados (UESB). O teor de nitrogênio total (NT) obtido pelo método Kjeldahl, usando o fator de conversão de 6,38 para o cálculo da proteína total foi realizado no Laboratório de Forragicultura (UESB). Todas as determinações foram feitas em duplicata e de acordo com BRASIL (2006).

3.5.2 Avaliação da proteólise

Para a avaliação da proteólise dos queijos foi necessário determinar o nitrogênio total (NT), nitrogênio não protéico (NNP) e nitrogênio não caseinoso (NNC).

Para a determinação do NT foi utilizado o método de Kjeldahl, conforme metodologia descrita por BRASIL (2006), em tubo micro-kjeldahl colocou-se 2,5g de mistura catalítica (sulfato de potássio e sulfato de cobre penta hidratado), 0,25 g de queijo macerado, pesado em papel manteiga e 7 mL de ácido sulfúrico concentrado. Em seguida os tubos foram encaminhados para digestão, em bloco digestor até a temperatura de 400 °C por aproximadamente cinco horas. Retirados os tubos do bloco, os mesmos foram encaminhados para a destilação. Adicionou-se a cada tubo, aproximadamente, 10 mL de água destilada, lavando a parede do tubo. Em seguida, realizou-se a destilação, neutralizando a amostra com 20 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 50 %, e recolheu-se 100 mL de destilado em erlenmeyer contendo 20 mL de ácido bórico 4 % com 4 a 5 gotas de indicador (vermelho de metila e verde de bromocresol). A titulação foi efetuada com ácido clorídrico 0,1 M até mudança de cor e permanência da mesma. Os valores obtidos foram multiplicados por 6,38 para obtenção da porcentagem de proteína total.

A determinação do NNP foi efetuada por meio de maçeração de 0,25g da amostra de queijo em 8 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 12 % e precipitação das proteínas, seguido de centrifuação por 15 minutos. Após a centrifugação, o sobrenadante foi retirado e adicionado ao tubo micro-kjeldahl, que continha a 2,5 g de catalisador e encaminhado para o processo de digestão, por cinco horas. Os tubos foram retirados do bloco e mantidos em temperatura ambiente até o momento da destilação. A cada tubo foi adicionado 10 mL de

água destilada e encaminhado imediatamente à destilação, de acordo com método kjeldahl (AOAC, 1995).

A determinação do NNC também foi efetuada por meio da maçeração de 0,25 g de amostra de queijo. Entretanto, para esta análise foi utilizada para precipitação da caseína a solução tampão (pH=4,5) composta de água destilada, acetato de sódio e ácido acético, seguida de centrifugação por 15 minutos, digestão e destilação para obtenção do nitrogênio solúvel (AOAC, 1995).

A preparação da solução tampão seguiu os critérios estabelecidos por APHA (2006), conforme descrito abaixo:

- (a) Preparação da solução de acetato de sódio 1 M: foram dissolvidos 13,6 g de acetato de sódio trihidratado (CH₃COONa.3H₂O) em água destilada até um volume de 100 mL;
- (b) Preparação da solução de ácido acético 10% (v.v): foram pipetados 10 mL de ácido acético glacial (CH₃COOH) e esse volume diluído em água destilada até a marca de 100 mL.
- (c) Preparação da solução tampão: 10 mL de solução de acetato de sódio (a) e 10 mL da solução de ácido acético (b) foram transferidos para um balão volumétrico e misturados com água destilada até a marca de 100 mL. Em seguida o pH foi medido para confirmação do valor 4.5.

A proteólise foi estimada por meio da relação caseína (C) / proteína verdadeira (PV), expressa em termos de nitrogênio (N) - equivalente de proteína, cujos valores foram obtidos conforme descrito abaixo:

$$PV = (NT - NNP) \times 6,38$$

 $C = (NT - NNC) \times 6,38$
 $Proteólise = C/PV$

A proteólise também é indicada pelos índices de extensão e profundidade, e esses índices foram obtidos por meio dos cálculos descritos a seguir (ANDREATTA, 2006):

Índice de extensão da proteólise (%) (IEP) = (NNC / NT) x 100; Índice de profundidade da proteólise (%) (IPP) = (NNP / NT) x 100.

3.5.3 Avaliação da cor

A cor foi avaliada por meio de um colorímetro modelo Colorquest XE (Hunter lab) conectado a um computador provido de sistemas *software* universal.

O sistema utilizado foi o CIEL*a*b*, onde foram medidas as coordenadas: L*, representando a luminosidade em uma escala de 0 (preto) a 100 (branco); a* que representa

uma escala de tonalidade variando de vermelho (0+a) a verde (0-a) e b* que representa uma escala de amarelo (0+b) a azul (0-b).

3.5.4 Capacidade de derretimento

A capacidade de derretimento (CD) dos queijos Mussarela foi determinada por meio da adaptação do método de Schreiber's, para queijo processado, descrito por Pizaia *et al.* (2003). Com o auxílio de um cilindro de 36 mm de diâmetro a amostra foi cortada em fatias de 7 mm de espessura, a primeira e a última foram desprezadas. Cada fatia foi colocada no centro de uma placa de Petri, tampada e deixada à temperatura ambiente por 30 minutos, conforme esquema da Figura 3. As placas foram previamente marcadas com quatro linhas dispostas em ângulos de 45°. O diâmetro de cada amostra foi calculado como a média dos diâmetros, nas quatro direções, medidos antes e após o derretimento por 7 minutos em estufa a 107°C. Todas as análises foram feitas em duplicata.

A partir dos diâmetros médios, foi calculada a porcentagem de derretimento das fatias de queijo, segundo a equação:

% de derretimento =
$$\underline{A}f - \underline{A}i \times 100$$

Ai

Onde:

Af: área da fatia após o derretimento (calculada com o diâmetro médio).

Ai: área da fatia antes do derretimento (calculada com o diâmetro médio).

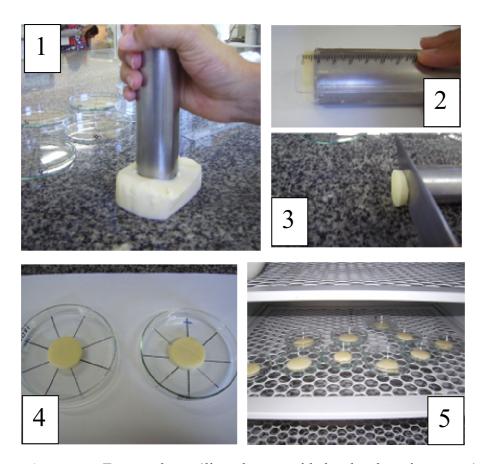


Figura 3 - Etapas da análise de capacidade de derretimento: 1-corte; 2-medição da espessura da fatia; 3-corte da fatia; 4-distribuição na placa de petri; 5-estufa à 107 °C

3.5.5 Avaliação do rendimento

O rendimento bruto da obtenção dos queijos nos diferentes tratamentos foi determinado pela fórmula $R(\%) = (Pq / Pf) \times 100$, onde:

R = rendimento bruto, Pq = peso do queijo terminado, Pf = peso da formulação (leite acrescido dos ingredientes) de acordo com Yunes e Benedet (2000).

3.6 Avaliação sensorial do queijo Mussarela

3.6.1 Metodologia descritiva

A análise sensorial dos queijos Mussarela foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial (UESB) no período de 28 de outubro a 20 de novembro de 2009.

O método de avaliação utilizado para levantar o perfil sensorial de cada amostra foi a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ), tendo por objetivo, descrever e quantificar o feito das diferentes CCS em 3 tempos de armazenamento (2, 30 e 60 dias). A metodologia utilizada foi descrita por Chaves e Sproesser (1996).

3.6.2 Preparo e apresentação das amostras

Nas avaliações foram utilizadas 9 diferentes amostras: queijos Mussarela produzidos com 3 contagens de CCS no leite, armazenados por 2, 30 e 60 dias em refrigerador à temperatura de 8 °C. As amostras foram retiradas 30 minutos antes de serem servidas. A avaliação de aroma, sabor e textura foi realizada em cabines individuais com utilização de luz vermelha, em cubos de aproximadamente 2 cm de aresta, dentro de copos plásticos descartáveis codificados com números aleatórios de três dígitos, tendo ficado à disposição dos provadores um copo com água que foi utilizado para enxaguar a boca entre as amostras. A avaliação da aparência foi feita logo após à avaliação de aroma e sabor, fora da cabine individual, com iluminação natural. As amostras foram servidas em fatias, em pratos plásticos descartáveis brancos codificadas com números aleatórios de 3 dígitos.

3.6.3 Recrutamento e pré-seleção de julgadores

Foram distribuídos 50 questionários entre alunos e professores do *Campus* da UESB de Itapetinga. O questionário recrutou voluntários de acordo com o interesse em participar da análise, disponibilidade de tempo, afinidade com o produto a ser avaliado, conhecimento de alguns atributos básicos e habilidade na utilização de escalas e definição de termos descritivos. Ao final dessa etapa 20 candidatos foram encaminhados para a pré-seleção.

A etapa de pré-seleção de julgadores foi feita por meio do Teste Triangular. Cada julgador recebeu 3 amostras codificadas e foi informado que duas eram iguais e uma diferente. Em seguida foi solicitado a provar e identificar a amostra diferente. O teste foi realizado em triplicata e foram selecionados os julgadores que obtiveram um mínimo de 60% de acertos no total dos testes realizados.

3.6.4 Levantamento de atributos e treinamento

Três marcas de queijo Mussarela foram apresentadas aos provadores e foi solicitado que eles listassem os atributos que percebessem ao avaliar cada amostra. Após obtida uma ampla lista de termos descritivos, foram identificados os termos sinônimos e por consenso chegou-se a uma lista definitiva de atributos que passou a fazer parte da ficha de avaliação final.

Nesta etapa de levantamento de atributos foram apresentadas aos julgadores amostras referências para exemplificar os atributos por eles levantados e apresentar as intensidades extremas que essas características poderiam aparecer nas amostras.

Após o período de treinamento, 9 provadores foram selecionados com base no seu poder discriminativo, na reprodutibilidade dos resultados apresentados por eles e na concordância destes resultados com os demais membros da equipe, para compor a equipe descritiva treinada de queijo Mussarela. Com este objetivo, as amostras dos três níveis de CCS em estudo, nos tempos 2, 30 e 60 dias foram avaliadas por cada indivíduo, em quatro repetições.

3.6.5 Avaliação das amostras

A apresentação das amostras foi feita de forma aleatória e garantiu que os julgadores avaliassem todas as combinações possíveis de amostras sem saturar o paladar. Os queijos foram apresentados três a três e avaliados em quatro repetições entre os dias 28 de outubro a 20 de novembro de 2009.

A aparência dos queijos foi avaliada com relação aos atributos de cor amarelada e uniformidade da massa. O aroma foi avaliado quanto ao atributo da acidez. O sabor com relação aos atributos gosto ácido e gosto amargo. A textura com relação ao atributo maciez.

A ficha de avaliação era composta de escala não estruturada medindo 9 cm, sendo a nota zero ancorada à esquerda e a nota 9 à direita (Figura 4).

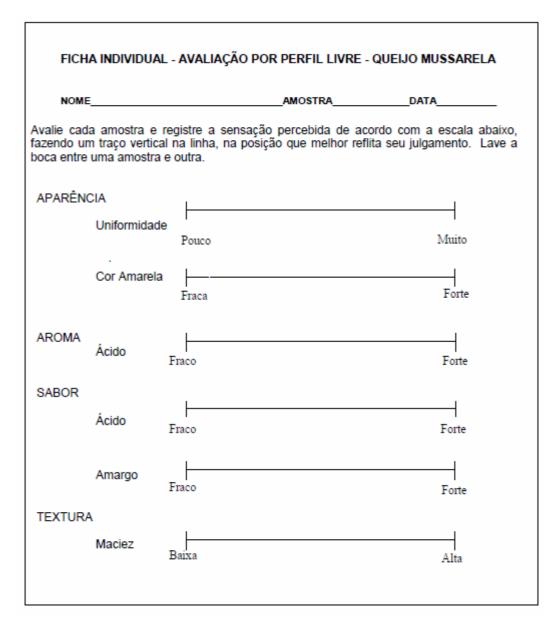


Figura 4 - Ficha individual de avaliação por ADQ

3.7 Avaliação microbiológica

A qualidade microbiológica dos queijos foi avaliada por meio de análises para coliformes a 35 °C, *E. coli e S. aureus* realizadas, em duplicata, nos tempos 2, 30 e 60 dias de armazenamento no Laboratório de Microbiologia da UESB.

Para cada análise, 10 g de queijo provenientes de embalagens abertas assepticamente foram homogeneizadas com 90 mL de água peptonada a 2% em bolsas nasco (saquinhos estéries), para obtenção da diluição 10^{-1} . A partir dessa diluição foram realizadas diluições subsequentes até 10^{-3} .

Para a análse de coliformes totais e *E. coli* foram utilizadas diluições de 10⁻² inoculado-se 1 mL em placas 3M PetrifilmTM EC incubando-se por 24 e 48 h respectivamente. Para as análises de *S. aureus* utilizou-se diluição de 10⁻² incubando-se 1 mL em PetrifilmTM - Rapid *S. aureus* (RSA) Count Plate por 27 h, de acordo com os procedimentos determinados pelo fabricante e indicadas para análises de queijos de acordo com metodologia descrita por APHA (2001). Todas as análises foram realizadas em duplicata e os resultados expressos em UFC/g.

3.8 Análises Estatísticas

O trabalho foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema com 3 repetições. Para as análises dos resultados físico-químicos o ensaio foi conduzido em esquema fatorial 3x5, sendo três faixas de CCS (100.000-250.000, 400.000-750.000 e > 750.000) e cinco tempos de armazenamento (2, 15, 30, 45 e 60 dias).

Com relação às análises sensoriais, os escores obtidos na ADQ foram utilizados para a realização da análise de variância adotando se o delineamento inteiramente casualizado, com os tratamentos dispostos no esquema de parcelas subdivididas em 3 repetições. Os tratamentos das parcelas constituíram um fatorial 3x9 (3 níveis de CCS e 9 julgadores), enquanto os três tempos de armazenamento foram as subparcelas.

Os resultados foram submetidos à análise de variância, considerando-se como fontes de variação a CCS, o tempo e a interação CCS e tempo, testados a 5% de significância. A interação foi desdobrada, ou não, de acordo com a significância. O efeito do tempo de armazenamento avaliado por análise de regressão, por meio de polinômios ortogonais, pela decomposição da soma de quadrado em efeito linear, quadrático e cúbico. As faixas de CCS foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. O programa estatístico utilizado foi SAS (1996).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Leite in natura

Avaliando os resultados das análises físico-químicas do leite *in natura* utilizados na fabricação dos queijos Mussarela com diferentes faixas de CCS (Tabela 3) observou-se que todos os componentes se encontram dentro da faixa de normalidade, de acordo com o estabelecido pelo Regulamento técnico de produção de leite (BRASIL, 2002).

Tabela 3 - Valores médios e desvio padrão de pH, acidez, índice crioscópico (IC), densidade, gordura, proteína, lactose, sólidos totais (ST) e sólidos não gordurosos (SNG) do leite *in natura*, utilizado na fabricação dos queijos Mussarela, de acordo com diferentes contagens de células somáticas (CCS)

		Faixas de CCS		
Parâmetros	100.000-250.000	400.000 - 750.000	> 750.000	CV
рН	$6,55 \pm 0,18$	$6,57 \pm 0,18$	$6,63 \pm 0,13$	2,50
Acidez (°D)	$19,3 \pm 1,53$	$18,7 \pm 2,08$	$18,33 \pm 1,53$	8,56
IC (°H)	$0,55 \pm 0,01$	$0,53 \pm 0,02$	$0,55 \pm 0,01$	2,43
Densidade (g/cm³)	$1,032 \pm 0,00$	$1,030 \pm 1,00$	$1,031 \pm 1,00$	0,08
Gordura (%)	$3,40 \pm 0,21$	$4,00 \pm 0,34$	$4,19 \pm 0,27$	8,83
Proteína (%)	$3,50 \pm 0,07$	$3,17 \pm 0,34$	$3,40 \pm 0,27$	7,65
Lactose (%)	$4,51 \pm 0,09$	$4,41 \pm 0,09$	$4,48 \pm 0,11$	2,20
ST (%)	$13,0 \pm 0,16$	$12,6 \pm 0,62$	$13,06 \pm 0,49$	3,60
SNG (%)	$9,01 \pm 0,08$	$8,6 \pm 0,29$	$8,9 \pm 0,23$	2,49

Em relação à variação da composição do leite *in natura* existem relatos na literatura de aumento, redução ou não alteração dos diversos componentes. Machado *et al.* (2000) analisando 920 amostras de leite de tanques em rebanhos de São Paulo e Minas Gerais não encontraram diferenças para sólidos totais relacionados a escores de CCS que variaram de 12 a 3.200.000 CS/mL, nesse mesmo trabalho o teor de gordura apresentou-se aumentado (3,58% a 4,15%) em leite de vacas com mastite, assim como no trabalho realizado por Shuster *et al* (1991), que variou de 3,7 a 4,8%. Por outro lado, Politis e Ng-Kwai-Hang (1988) e Auldist (1996) observaram redução nesse componente com o aumento da CCS. Fernandes *et al*. (2007) não encontraram diferença para gordura, proteína e sólidos totais em leites com CCS variando de 0 a 800.000 CS/mL.

Os resultados para CCS e Contagem Bacteriana Total (CBT) observados nas análises realizadas nos leites *in natura* estão apresentados nas figuras 5 e 6, respectivamente. Os valores médios de CCS nos três processamentos para as faixas de 100-250.000, 400.000-750.000 e > 750.000 foram 210.000, 540.000 e 1.113.000 CS/mL, respectivamente.

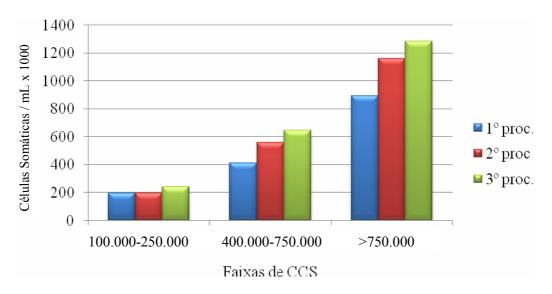


Figura 5 – Valores médios de CCS dos leites utilizado nos processamentos (proc.) dos queijos Mussarela

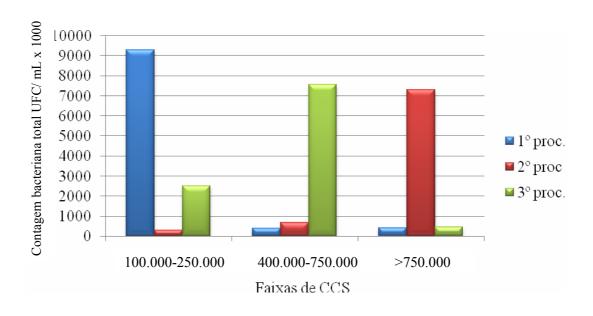


Figura 6 – Valores médios de CBT dos leites utilizado nos processamentos (proc.) dos queijos Mussarela

Os valores médios de CBT dos leites utilizados nos processamentos dos queijos Mussarela foram de 4.030.000, 2.888.000 e 2.722.000 UFC/mL para as faixas de 100-250.000, 400.000-750.000 e > 750.000, respectivamente.

Altos valores de CBT são constatações preocupantes da qualidade do leite no Brasil e estão relacionados à produção higiênica na fazenda, limpeza e desinfecção dos equipamentos de ordenha mecânica ou manual, temperatura durante o transporte e tempo decorrido da ordenha até o processamento. Barbosa *et al.* (2008) avaliando 2.948 amostras de leite na região Nordeste do Brasil, encontraram uma incidência de 46% de não conformidade com a IN 51 para a CBT. Mesquita (2006) analisando 117.010 amostras nas regiões Norte e Centro Oeste encontraram 38% de não conformidade para essa mesma característica. Fonseca *et al.* (2006) encontraram, analisando 1.176.000 amostras de leite *in natura* no estado de Minas Gerais no período de janeiro/2007 a julho/2008, apenas 18% de não conformidade para CBT. Já Souza *et al.* (2006), que avaliaram a região Sudeste como um todo, no mesmo período, encontraram 57% de não conformidade. No presente trabalho, amostras de 37 fazendas foram avaliadas para a seleção dos leites utilizados nos processamentos e 48% delas se encontravam com CBT acima do preconizado pela IN 51 (BRASIL, 2002) que estabelece para a região Nordeste valores de 1.000.000 de UFC/mL.

4.2 Leite pasteurizado

Os resultados das análises microbiológicas realizadas no leite após pasteurização, demostra que houve eficiência no tratamento térmico (Tabela 4), comprovada pelas análises das enzimas fosfatase alcalina, com resultado negativo, e da peroxidase, com resultado positivo, para todas as amostras. Para as bactérias analisadas todas as faixas estão com valores de acordo a legislação vigente (ANVISA, 2001), que preconiza 4 UFC/mL para coliformes a 35° e 2 UFC/mL para *E. coli*.

Muitas bactérias contaminantes do leite *in natura* produzem enzimas extracelulares (proteases e lipases) que não são inativadas durante o tratamento térmico e cuja atividade residual afeta a qualidade dos derivados, mesmo na ausência de células bacterianas viáveis (Arcuri, 2003). No presente trabalho, a eficiência do tratamento térmico foi capaz de reduzir contagem de microrganismos indicadores. No entanto, essas bactérias produzem enzimas que podem não ser inativadas, mesmo com tratamento eficiente, levando à alterações físico-químicas e sensoriais no produto final.

Tabela 4 - Contagens de coliformes a 35 °C e *E. coli* do leite pasteurizado utilizado na fabricação dos queijos Mussarela, de acordo com diferentes contagens de células somáticas (CCS)

	Faixas de CCS					
	100.000 - 250.000	400.000 - 750.000	> 750.000			
Coliformes a 35 °C (UFC/mL)	ausente	ausente	3			
E. coli (UFC/mL)	ausente	ausente	ausente			

4.3 Soro

Avaliando os resultados da análise físico-química do soro obtido dos três processamentos (Tabela 5) observou-se maior perda de gordura para o tratamento com CCS acima de 750.000 CS/mL.

Tabela 5 - Composição química média, do soro resultante da fabricação dos queijos Mussarela

	Faixas de CCS						
	100.000 - 250.000	400.000 - 750.000	> 750.000	CV			
Gordura (%)	0.86 ± 0.20	$0,89 \pm 0,13$	$1,26 \pm 0,03$	13,76			
Proteína (%)	$2,71 \pm 0,14$	$2,50 \pm 0,13$	$2,48 \pm 0,04$	4,29			
Lactose (%)	$3,86 \pm 0,17$	$3,58 \pm 0,16$	$3,58 \pm 0,04$	3,67			
SNG (%)	$7,29 \pm 0,33$	$6,74 \pm 0,32$	$6,69 \pm 0,09$	3,90			

As perdas de gordura, em percentagem, para os tratamentos 100.000 – 250.000, 400.000 – 750.000 e > 750.000 foram 25, 22 e 30%, respectivamente. Essas médias estão muito acima do que se considera normal no Brasil, onde as perdas de gordura no soro no momento do corte da coalhada estão entre 10 a 15%. Perdas de gordura através do soro se dão em função da temperatura de pasteurização do leite, teor de cálcio e proteínas, acidez, pH e temperatura de adição do coalho, que afetam a coagulação do leite. Além destes, há outros fatores como a rapidez do corte, o tamanho dos grãos, a intensidade da agitação feita imediatamente após o corte, contaminação bacteriana e altas contagem de células somáticas no leite possuem forte influência nas perdas de gordura e proteínas do soro (Ciência do leite, 2010). No presente trabalho, o procedimento de fabricação dos queijos foi padronizado, o que

sugere que a presença de teores mais elevados de gordura no soro na faixa maior que 750.000 CS/mL pode ter ocorrido em função desta contagem mais elevada.

Os resultados para gordura estão acima dos encontrados por Andreatta (2006) que foram de 18,7%, 15,9% e 16,8% para faixas de CCS variando entre 100.000-200.000, 400.000-500.000 e > 800.000 CS/mL, respectivamente.

Os diversos autores que compararam a composição e o rendimento de queijos obtidos a partir de leite com CCS alta e baixa demonstraram que o aumento nas proporções dos constituintes do soro foi resultado das perdas sofridas pelo queijo durante a fabricação. Quando a fabricação de queijo foi feita a partir de leite com CCS alta, observou-se no soro um aumento da quantidade de proteínas totais (GRANDISSON e FORD, 1986; BARBANO *et al.*, 1991; KLEI *et al.*, 1998; POLITIS e NG-KWAI-HANG, 1988; ROGERS e MITCHELL, 1994; COONEY *et al.*, 2000; MATIOLI *et al.*, 2000), mais especificamente um aumento em caseínas e finos (ROGERS e MITCHELL, 1994), um aumento do conteúdo de gordura (BARBANO *et al.*, 1991; ROGERS e MITCHELL, 1994; MATIOLI *et al.*, 2000) e um aumento da concentração de lactose (GRANDISSON e FORD, 1986).

4.4 Queijo Mussarela

4.4.1 Composição e parâmetros físico-químicos

Os resultados das análises de proteína, gordura e cinzas dos queijos Mussarela para as faixas de CCS e tempos de armazenamento são apresentados na Tabela 6. Não houve interação significativa (P>0,05) para os parâmetros avaliados. O tempo de armazenamento e as faixas de CCS não influenciaram essas características.

Os valores médios das características físico-químicas encontram-se dentro da composição média para queijo Mussarela no Brasil (FURTADO, 1997), que são de 48% de umidade, 22% de gordura, 5,2% de pH e 20,5% de proteína.

Tabela 6 Valores médios e desvio padrão da proteína, gordura e cinzas dos queijos Mussarela de acordo com as faixas de CCS e os tempos de armazenamento

CCS no leite	Tempo (dias)						
(x 1.000/mL)	2	15	30	45	60	Média	
		P	roteína (%)				
100 – 250	20.8 ± 1.4	$20,7 \pm 1,1$	$21,2 \pm 0,5$	$21,5 \pm 1,0$	$21,0 \pm 0,1$	21,0ª	
400 - 750	$19,0 \pm 3,4$	$20,8 \pm 2,0$	$22,3 \pm 1,4$	$20,5 \pm 1,7$	$22,3 \pm 2,8$	20,9 ^a	
> 750	$22,2 \pm 1,3$	$20,2 \pm 1,1$	$18,1 \pm 1,4$	$21,0 \pm 2,8$	$18,9 \pm 3,9$	20,1 ^a	
Média	20,6	20,6	20,5	21,0	20,7	Ŷ= 20,7	
CV (%) =	9,7						
		G	ordura (%)				
100 – 250	$28,4 \pm 1,2$	$27,2 \pm 1,1$	$27,4 \pm 0,3$	$28,9 \pm 1,8$	$27,1 \pm 2,1$	27,8ª	
400 - 750	$29,1 \pm 0,6$	$27,1 \pm 1,0$	$27,2 \pm 1,7$	$28,1 \pm 1,6$	$29,1\pm0,7$	28,1ª	
> 750	27.8 ± 0.3	$27,6 \pm 1,6$	$26,8 \pm 1,6$	$27,7 \pm 2,0$	$26,9 \pm 1,7$	27,3 ^a	
Média	28,4	27,3	27,2	28,2	27,7	Ŷ= 27,7	
CV (%) =	5,0						
		(Cinzas (%)				
100 – 250	$3,45 \pm 0,13$	$3,59 \pm 0,13$	$3,43 \pm 0,17$	$3,49 \pm 0,22$	$3,58 \pm 0,13$	3,50 ^a	
400 - 750	$3,64\pm0,08$	$3,36 \pm 0,10$	$3,29 \pm 0,05$	$3,55 \pm 0,16$	$3,49 \pm 0,22$	3,47 ^a	
> 750	$3,58 \pm 0,06$	$3,49 \pm 0,11$	$3,71 \pm 0,13$	$3,45 \pm 0,26$	$3,67 \pm 0,13$	3,58 ^a	
Média	3,56	3,48	3,48	3,50	3,58	Ŷ= 3,52	
CV (%) =	4,3						

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

Com relação à umidade, observou-se que não houve interação significativa (P>0,05), para as diferentes faixas de CCS e tempos de armazenamento (Tabela 7), porém houve efeito significativo (P<0,05) das faixas de CCS sobre essa característica.

Os resultados encontrados para umidade estão de acordo com a legislação para queijos Mussarela (BRASIL, 2006), sendo que os queijos fabricados se enquadram como queijos de alta umidade. Maiores teores de umidade foram verificados quando o processamento foi feito com leite com CCS acima de 750.000/mL, esse fato pode estar relacionado ao pH mais alto no leite com maior CCS, que é um parâmetro importante no processo de formação do

coágulo, na sinérese da massa e, consequentemente, a umidade e a textura do produto final. O aumento do pH do leite pode retardar a ação da renina, aumentando o tempo de coagulação em leites com CCS alta, comprometendo assim, a qualidade dos queijos pela formação de um coágulo mais fraco e úmido (AULDIST *et al.*, 1996).

Tabela 7 Valores médios e desvio padrão da umidade dos queijos Mussarela de acordo com as faixas de CCS e os tempos de armazenamento

CCS no leite	Tempo (dias)							
(x 1.000/mL)	2	15	30	45	60	Média		
		U	midade (%)					
100 – 250	$54,9 \pm 0,37$	$53,5 \pm 0,20$	$53,7 \pm 1,14$	54,0 ± 0,64	$54,6 \pm 0,46$	52,1 ^b		
400 - 750	$52,5 \pm 1,04$	$52,1 \pm 0,68$	$51,7 \pm 2,73$	$51,4 \pm 0,73$	$52,0 \pm 0,76$	51,9 ^b		
> 750	$52,3 \pm 0,84$	$51,0 \pm 1,74$	$51,9 \pm 2,41$	$53,3 \pm 0,89$	$52,0 \pm 1,54$	54,1 ^a		
Média	53,2	52,2	52,4	53,0	52,9	Ŷ= 52,6		
CV (%) =	2,4							

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

Froeder Arcuri *et al.* (1990) avaliaram o efeito de diferentes níveis de células somáticas sobre a qualidade do queijo Prato. Após 22 dias de maturação, os queijos fabricados a partir de leite acima de 500.000 CS/mL apresentaram teor de umidade significativamente maior e depreciação da pontuação sensorial para o sabor.

Os resultados dessa pesquisa corroboram com Vianna (2006) que avaliando queijo Prato obtido com leite com CCS abaixo de 200.000 CS/mL e acima de 700.000 CS/mL encontrou maiores teores de umidade para a faixa de maior CCS (44% e 47%). A obtenção de queijos com maior umidade, quando se utilizou leite com CCS alta, foi também observada por outros autores para queijo Prato (ARCURI *et al.*, 1990; MAZAL, 2007); Cottage (KLEI *et al.*, 1998) e Cheddar (GRANDISSON E FORD, 1986; POLITIS E NG-KWAI-HANG, 1988). De acordo com Furtado (1997), queijos mais úmidos tendem a se proteolisar mais rápido.

Com relação ao pH e acidez não houve interação significativa (P>0,05) para essas características. Observou-se que para a faixa de 400.000-750.000 o pH foi 6,27 % superior ao da faixa com CCS acima de 750.000. Já a acidez relativa a essa faixa, foi inferior (P<0,05) às demais (Tabela 8). O tempo de armazenamento influenciou a acidez (P<0,05) e a equação que

melhor se ajustou aos dados está representada na Tabela 8. Para cada aumento de um dia de armazenamento a acidez diminuiu 0,0365 °D, no intervalo de 2 a 60 dias.

Tabela 8 Valores médios e desvio padrão de pH e acidez do queijo Mussarela, de acordo com a contagem de células somáticas (CCS) no leite *in natura*

CCS no leite		Tempo (dias)							
(x 1.000/mL)	2	15	30	45	60	Média			
			pН						
100 - 250	5,58 ± 0,20	$5,42 \pm 0,50$	$5,55 \pm 0,38$	5,63 ± 0,22	$5,57 \pm 0,38$	5,55 ^{ab}			
400 - 750	5,78 ± 0,09	$5,78 \pm 0,03$	$5,80 \pm 0,02$	$5,72 \pm 0,08$	$5,73 \pm 0,08$	5,76 ^a			
> 750	$5,34 \pm 0,51$	$5,32 \pm 0,51$	$5,34 \pm 0,34$	$5,58 \pm 0,31$	$5,52 \pm 0,18$	5,42 ^b			
Média	5,57	5,51	5,57	5,64	5,61	Ŷ= 5,58			
CV (%) =	2,98								
		A	cidez (°D)						
100 – 250	$20,8 \pm 3,2$	18,7 ± 2,9	19,5 ± 2,8	19,5 ±2,3	18,0 ± 1,0	19,3ª			
400 – 750	18,3 ± 0,7	18,0 ± 1,3	18,3 ± 1,1	18,0 ± 1,0	17,7 ± 1,2	18,2ª			
> 750	$17,3 \pm 4,2$	16,33±3,06	10,83±1,61	13,33 ± 4,04	13,67±3,25	14,2 ^b			
Média	19,00	17,67	16,22	16,94	16,31	Eq ¹			
CV (%) =	15,47								
Eq^1 . $\hat{Y} = 18,343$	3 – 0,0365x	$R^2 = 0,$	67						

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem a 5% de significância pelo teste de Tukey.

Pizaia *et al.* (2003), ao estudarem queijos Mussarela obtidos por método tradicional e ultrafiltração, observaram que houve uma diminuição do pH (5,3) no primeiro mês de estocagem em função da degradação da lactose residual e que após este período houve aumento de pH (5,4) decorrente da liberação de aminoácidos básicos da proteólise secundária.

Narimatsu *et al.* (2003) avaliando queijo Prato fabricado por ultrafiltração e método tradicional verificaram em relação à composição que os queijos obtidos por ultrafiltração apresentaram maiores percentuais de acidez (0,71%), umidade (51,23%), proteína (21,38%) e menor teor de gordura (20,84%) em relação ao método tradicional para essas mesmas características, acidez (0,57%), umidade (48,4%), proteína (18,16%) e gordura (24,89%). Para acidez avaliada nos tempos, os valores para o método tradicional são inversos aos encontrados

nesse trabalho, sendo que a acidez aumentou para os três tratamentos avaliados até 45 dias de armazenamento.

4.4.2 Proteólise e capacidade de derretimento

Os resultados de proteólise, extensão e profundidade da proteólise do queijo Mussarela estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 Valores médios e desvio padrão da proteólise, índice de extensão da proteólise (IEP) e índice de profundidade da proteólise (IPP) de acordo com a contagem de células somáticas (CCS) no leite *in natura* e os tempos de armazenamento

CCS no leite	Tempo (dias)							
(x 1.000/mL)	2	15	30	45	60	Média		
]	Proteólise					
100 – 250	$1,02 \pm 0,02$	$1,00 \pm 0,03$	$1,01 \pm 0,01$	$1,00 \pm 0,00$	$1,01 \pm 0,00$	1,01 ^a		
400 - 750	$1,03 \pm 0,02$	$1,01 \pm 0,01$	$1,02 \pm 0,03$	$1,01 \pm 0,02$	$0,99 \pm 0,00$	1,01 ^a		
> 750	$1,00 \pm 0,02$	$1,01 \pm 0,02$	$0,99 \pm 0,02$	$1,01 \pm 0,03$	$1,01 \pm 0,03$	1,00 ^a		
Média	1,01	1,00	1,00	1,00	1,00	Ŷ= 1,00		
CV (%) =	1,82							
			IEP (%)					
100 – 250	$6,97 \pm 1,89$	$9,02 \pm 1,78$	$5,91 \pm 0,29$	$9,14 \pm 1,58$	$7,72 \pm 1,17$	7,75 ^a		
400 – 750	$7,51 \pm 1,57$	$6,84 \pm 1,15$	$7,08 \pm 0,75$	$7,78 \pm 0,73$	$8,02 \pm 1,78$	7,45 ^a		
> 750	$7,79 \pm 1,60$	$7,50 \pm 0,63$	$11,4 \pm 2,28$	$7,73 \pm 2,32$	$9,06 \pm 3,70$	8,68 ^a		
Média	7,42	7,78	8,11	8,21	8,26	Ŷ= 7,96		
CV (%) =	21,9							
			IPP (%)					
100 – 250	$8,36 \pm 0,47$	$9,35 \pm 0,93$	$6,84 \pm 1,31$	$9,10 \pm 1,67$	$8,90 \pm 1,01$	8,51 ^a		
400 – 750	$9,96 \pm 0,36$	$7,70 \pm 0,54$	$8,67 \pm 2,11$	$8,83 \pm 2,12$	$7,02 \pm 1,70$	8,44 ^a		
> 750	$7,55 \pm 0,94$	8,62 ± 1,45	$10,2 \pm 0,70$	$8,83 \pm 2,57$	$10,3 \pm 3,57$	9,09 ^a		
Média	8,62	8,55	8,58	8,92	8,71	Ŷ= 8,68		
CV (%) =	19,2							

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

Os índices de proteólise, extensão e profundidade da proteólise não sofreram interação (P>0,05) entre CCS e dias de armazenamento, nem efeito significativo dos fatores isolados. Estes resultados sugerem que a proteólise nos queijos Mussarela é decorrente do desenvolvimento do cultivo lácteo empregado, de enzimas naturais do leite e do poder do coagulante utilizado, sendo que o nível de CCS, no presente trabalho, apresentou pouca contribuição para este evento durante o armazenamento.

Narimatsu *et al.* (2003) encontraram valores de extensão de proteólise mais intensa (entre 10 e 20%), menores valores de profundidade de proteólise (entre 2,5 a 6,5%) e CD maior (50 a 250%) em queijos Prato obtidos de leite ultra filtrado em relação ao método tradicional.

Avaliando os percentuais de CD do queijo Mussarela (Tabela 10) verificou-se que a interação não foi significativa (P>0,05) entre CCS e tempo de armazenamento. Com relação ao tempo, observou-se que para cada aumento de um dia de armazenamento a CD aumenta 0,79% no intervalo de 2 a 60 dias.

A CD também diferiu entre os níveis de CCS (P<0,05) utilizados para fabricação dos queijos, sendo que os queijos com alta CCS apresentaram maior capacidade de derretimento que os demais (Tabela 10). Esse fato se dá pela maior quantidade de enzimas presente no leite com altas contagens de CCS que aceleram a quebra da proteína e aumentam a capacidade de derretimento da massa. Outro fato relevante é que os processamentos relativos aos queijos com mais altas contagens de CCS tiveram também maiores médias de gordura no leite e segundo Furtado (1997) maiores teores do gordura no leite favorecem o derretimento.

Tabela 10 Valores médios e desvio padrão da capacidade de derretimento (CD) de acordo com a contagem de células somáticas (CCS) no leite *in natura* e os tempos de armazenamento.

CCS no leite	Tempo (dias)						
(x 1.000/mL)	2	15	30	45	60	Média	
			CD (%)				
100 – 250	95,7±32,2	108,2±32,5	141,8±24,0	145,7±18,6	122,2±26,7	122,7 ^b	
400 - 750	102,5±43,6	118,9±53,9	156,4±37,5	150,2±16,6	214,8±23,2	148,6 ^{ab}	
> 750	142,5±42,8	182,5±19,9	170,3±42,9	160,3±14,8	155,3±20,6	162,2 ^a	
Média	113,5	136,5	156,17	152,0	164,1	Eq^2	
CV (%) =	22,2						
Eq^2 . $\hat{Y} = 120,4$	Eq ² . $\hat{Y} = 120,44 + 0,7909x$ $R^2 = 0,83$						

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

Oliveira (1986) explica que na fase inicial as proteínas apresentam alto peso molecular, tornando-as pouco solúveis, e após duas a três semanas essas proteínas são hidrolisadas, ficando mais solúveis, o que vai aumentando a CD da Mussarela, até a mesma apresentar-se excessiva e tornar o queijo impróprio para uso no preparo de pizzas (KINDSTED, 1993).

Andreatta (2006) também encontrou diferenças na capacidade de derretimento do queijo Mussarela com a maior CD em queijos processados com níveis de CCS acima de 800.000 CS/mL, entre os níveis essa variação foi de 20 a 80% do menor para o maior nível. Esse fato também foi observado em pesquisas realizadas por Kindsted (1993).

Comportamento diferente foi obtido por Pizaia *et al.* (2003) ao avaliarem queijo Mussarela obtido pelos métodos tradicional e de ultrafiltração, pois verificaram que a CD da Mussarela padrão foi constante até cerca de 30 dias de estocagem, tendendo depois a diminuir.

Esta propriedade funcional do queijo Mussarela é particularmente importante na confecção de alimentos prontos para consumo imediatamente após aquecimento, como pizzas e lasanhas, nos quais o queijo Mussarela é utilizado como ingrediente de cobertura. Deste modo, uma alta capacidade de derretimento, observada nos queijos com alta CCS, pode determinar uma maior fluidez do queijo derretido e, portanto, uma perda das características de espalhamento do queijo no produto, causando uma menor aceitação por parte do consumidor (ANDREATTA, 2006).

4.4.3 Cor

Com relação à cor não houve interação significativa (P>0,05) entre as faixas de CCS e os tempos de armazenamento para o sistema L*a*b* (Tabela 11).

Tabela 11 Valores médios e desvio padrão dos componentes de cor sistema CIE L*a*b* de queijos Mussarela de acordo com a contagem de células somáticas (CCS) no leite *in natura* e tempos de armazenamento

CCS no leite	Tempo (dias)						
(x 1.000/mL)	2	15	30	45	60	Média	
			L*				
100 – 250	$81,0 \pm 3,32$	$79,1 \pm 2,06$	$80,2 \pm 0,81$	$78,0 \pm 1,38$	$78,7 \pm 0,27$	79,4 ^a	
400 - 750	$81,5 \pm 1,42$	$80,0 \pm 1,29$	$78,1 \pm 1,94$	$77,5 \pm 0,76$	$76,8 \pm 1,52$	78,7 ^a	
> 750	$80,6 \pm 1,05$	$78,7 \pm 2,11$	$77,8 \pm 0,73$	$77,6 \pm 0,28$	$76,7 \pm 1,56$	78,3°	
Média	81,0	79,2	78,7	77,7	77,4	Eq ¹	
CV (%) =	1,9						
Eq ¹ . \hat{Y} = 81,136	62 - 0.117x +	$0,00092x^2$	$R^2 = 0$	0,97			
			a*				
100 – 250	$0,63 \pm 0,31$	$0,64 \pm 0,10$	$0,26 \pm 0,14$	$0,78 \pm 0,43$	$0,41 \pm 0,25$	0,55 ^b	
400 – 750	$0,79 \pm 0,56$	$0,70 \pm 0,60$	$0,98 \pm 0,76$	0.86 ± 0.53	$0,28 \pm 0,04$	0,72 ^{ab}	
> 750	$1,14 \pm 0,28$	$1,17 \pm 0,21$	$0,94 \pm 0,34$	$1,22 \pm 0,23$	$0,63 \pm 0,60$	1,02 ^a	
Média	0,85	0,83	0,73	0,95	0,44	Ŷ= 0,76	
CV (%) =	5,4						
			b*				
100 – 250	20,8±1,49	21,7±1,24	21,9±0,51	22,9±1,23	22,8±0,12	22,1 ^b	
400 – 750	20,8±1,45	21,5±1,38	23,5±2,33	22,6±1,28	22,5±0,81	22,2 ^b	
> 750	22,1±0,26	23,6±1,76	23,6±0,88	24,1±0,67	23,3±0,31	23,3°	
Média	21,2	22,3	23,0	23,0	22,8	Eq ²	
CV (%) =	5,3						
Eq ² . \hat{Y} = 21,033	Eq ² . \hat{Y} = 21,033 + 0,1004x - 0,0012x ² R^2 = 0,97						

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

As coordenadas de cromaticidade a* e b* foram influenciadas (P<0,05) pelas faixas de CCS, sendo que para a coordenada a* a faixa de CCS maior que 750.000 diferiu da menor. Já

para a coordenada b* a maior faixa foi superior às demais tendendo ao amarelo. O tempo de armazenamento influenciou L* e b* (P<0,05). Com relação a L* houve um efeito quadrático dos dias de armazenamento sobre a luminosidade do queijo, sendo o ponto de mínima dessa parábola aos 63 dias de armazenamento. Para b* o ponto de máxima se deu aos 42 dias de armazenamento dos queijos.

A cor nos queijos está intimamente ligada à gordura do leite e, portanto, passível de variações sazonais. O queijo Mussarela tem como característica cor levemente amarelada (Brasil, 1997) que concordam com as coordenadas encontradas na análise instrumental deste trabalho. A luminosidade não foi afetada pelas faixas de CCS, entretanto o que pode explicar o aumento nos valores da coordenada a* tendendo ao vermelho é a interação de bactérias encontradas no leite com maior CCS.

Durante a estocagem dos queijos a cor tendeu ao amarelo mais intenso, mas com menor luminosidade, esse fato pode ser explicado considerando a presença de compostos carotenóides formados durante a maturação do queijo.

A maturação do queijo consiste em um sistema dinâmico envolvendo processos químicos, bioquímicos e microbiológicos. Os carotenóides ocorrem em alimentos, na forma de misturas simples de alguns compostos ou como misturas muito complexas. As misturas mais simples são encontradas em produtos de origem animal, devido à limitada habilidade desses organismos de absorver e depositar carotenóides. A cor dos carotenóides é resultado da presença de um sistema de duplas ligações conjugadas. Para que a coloração amarela apareça são necessários, no mínimo, sete ligações conjugadas (ARAÚJO, 2004).

Bockelmann (1997) demonstrou que a adição de culturas de *Arthrobacterno* ao leite desenvolvia uma cor mais amarelada, mas quando caseína hidrolisada foi adicionada ao leite a estirpe desenvolveu uma cor vermelha-amarronzada. Este autor também verificou que o desenvolvimento de pigmentos vermelho-marrom não poderiam ser reproduzidos através da única adição de aminoácidos ao meio. Carreira *et al.* (1998), estudando a descoloração da superfície marrom de um queijo de leite de ovelha, demonstrou que algumas cepas de *Yarrowia lipolytica* produziram um pigmento marrom extracelular.

Assim como a indústria busca estirpes de bactérias para melhorar a aparência dos queijos curados, leites contendo variedades de estirpes de bactérias, como é o caso do leite com maior contagem de CCS podem também atuar na modificação dessas colorações, mesmo que discretas como foi o caso dessa pesquisa. Estes poucos estudos demonstram a importância das interações diretas ou indiretas entre as bactérias, leveduras e formação das cores em produtos lácteos.

4.4.4 Análise Sensorial

Para avaliar a existência de diferenças sensoriais significativas entre os queijos produzidos com diferentes contagens de CCS em três tempos de armazenamento foi realizada a análise de variância (ANOVA) dos escores dos seis atributos sensoriais dos queijos Mussarela (Tabela 12).

Tabela 12 - Resumo da ANOVA dos escores de seis atributos sensoriais de queijo Mussarela.

				Prob	.>F
Atributo	FV	GL	QM	Teste com Resíduo	Teste com Interação
Uniformidade	TCCS	2	1,104	0,447	0,625
	Julg.	8	52,450	<0,0001	<0,0001
	TCCS*Julg.	16	2,280	0,078	Ź
	Resíduo (a)	54	1,352	ŕ	
	Tempo	2	1,113	0,092	
	Tempo*TCCS	4	0,721	0,185	
	Resíduo (b)	156	0,460	ŕ	
Cor amarela	TCCS	2	1,291	0,376	0,7029
	Julg.	8	32,446	<0,0001	0,0001
	TCCS*Julg.	16	3,582	0,0027	,
	Resíduo (a)	54	1,296	,	
	Tempo	2	14,249	< 0.0001	
	Tempo*TCCS	4	1,247	0,0560	
	Resíduo (b)	156	0,529	,	
Aroma ácido	TCCS	2	0,855	0,587	0,878
	Julg.	8	20,664	<0,0001	0,024
	TCCS*Julg.	16	6,553	<0,0001	-,
	Resíduo (a)	54	1,590	-,	
	Tempo	2	0,046	0,782	
	Tempo*TCCS	4	0,908	0,001	
	Resíduo (b)	156	0,188	0,001	
Sabor ácido	TCCS	2	8,970	0,001	0,113
	Julg.	8	24,027	<0,0001	0,001
	TCCS*Julg.	16	3,586	0,002	,,,,,
	Resíduo (a)	54	1,264	-,	
	Tempo	2	0,410	0,167	
	Tempo*TCCS	4	0,186	0,513	
	Resíduo (b)	156	0,226	2,2 -2	
Sabor amargo	TCCS	2	3,683	0,112	0,466
2 2	Julg.	8	31,328	<0,0001	<0,0001
	TCCS*Julg.	16	4,606	0,002	0,0001
	Resíduo (a)	54	1,616	-,	
	Tempo	2	40,733	<0,0001	
	Tempo*TCCS	4	2,994	0,010	
	Resíduo (b)	156	0,873	0,010	
Maciez	TCCS	2	2,573	0,161	0,588
1,140102	Julg.	8	36,568	<0,0001	<0,0001
	TCCS*Julg.	16	4,701	<0,0001	-0,0001
	Resíduo (a)	54	1,366	-0,0001	
	Tempo	2	60,548	<0,0001	
	Tempo*TCCS	4	2,079	0,033	
	Resíduo (b)	156	0,775	0,055	

Com relação ao perfil sensorial dos queijos analisados para as características uniformidade, cor amarela e sabor ácido (Tabela 13) observou-se que interação entre CCS e tempo de armazenamento não foi significativa (P>0,05) e esses atributos também não foram influenciados (P>0,05) pelas faixas de CCS. Em relação ao tempo de armazenamento para a cor amarela houve efeito significativo (P>0,05) e a equação que melhor se ajustou aos dados se encontra na Tabela 13.

Tabela 13 - Valores médios e desvio padrão dos atributos de uniformidade, cor amarela e sabor ácido, avaliados na análise sensorial dos queijos Mussarela de acordo com diferentes contagens de células somáticas (CCS) no leite *in natura* e tempo de armazenamento

	natura e temp	o de dimazena	TICITO	
CCS no leite				
(x 1.000/mL)		Tempo (dias)		Média
	2	30	60	
		Unifor	midade	
100-250	$5,11 \pm 1,81$	$5,49 \pm 1,77$	$5,39 \pm 1,89$	5,33 ^a
400-750	$4,98 \pm 2,26$	$5,31 \pm 2,19$	$5,02 \pm 2,19$	$5,10^{a}$
> 750	$5,20 \pm 2,00$	$5,14 \pm 1,97$	$5,43 \pm 1,78$	5,25 ^a
Média	5,09	5,31	5,28	$\hat{Y} = 5,23$
CV (%) = 28,9				
		Cor a	marela	
100-250	$4,38 \pm 2,51$	4,71±1,43	$4,74 \pm 1,30$	4,61 ^a
400-750	$4,22\pm1,67$	$4,99 \pm 1,71$	$4,95 \pm 1,67$	4,72 ^a
> 750	$4,14\pm1,55$	$5,21 \pm 1,33$	$5,24 \pm 1,26$	$4,86^{a}$
Média	4,25	4,9	4,98	Eq^1
CV (%) = 19.8				
		Sabo	r ácido	
100-250	$1,22 \pm 1,13$	$1,22 \pm 1,04$	$1,37 \pm 1,25$	1,27 ^a
400-750	$1,73 \pm 1,59$	$2,00 \pm 1,77$	$1,92 \pm 1,65$	1,88 ^a
> 750	$1,33 \pm 1,33$	$1,35 \pm 1,26$	$1,39 \pm 1,24$	1,35 ^a
Média	1,42	1,52	1,56	$\hat{Y} = 1,50$
CV (%) = 29,5				
Eq. 1: $\hat{Y} = 4,170$	0+0.040x-0.0	$00044x^2 R^2 =$	1,0	

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

Verificou-se efeito quadrático para a cor amarela com relação ao tempo de armazenamento. A maior intensidade na percepção dos julgadores quanto à esse atributo se deu aos 46 dias, ponto de máxima dessa parábola.

A percepção da cor é um fenômeno fisiológico e que varia de acordo com a visão do observador e com a qualidade e intensidade da luz, bem como com as propriedades físicas e químicas do alimento (MACDOUGALL, 1994), neste trabalho os provadores não detectaram modificações na cor mesmo em condições favoráveis de iluminação com relação aos

diferentes níveis de CCS. Munro et al. (1984) relataram que o iogurte obtido a partir de leite com alta CCS apresentaram alteração de cor, caracterizada como levemente amarelo, mas outras características sensoriais não foram afetadas pela CCS.

Para os atributos aroma ácido, sabor amargo e maciez a interação entre CCS e tempo de armazenamento foi significativa (P<0,05) indicando que esses atributos apresentaram um comportamento diferenciado em relação aos tempos de armazenamento e as faixas de CCS (Tabela 14).

Tabela 14 -Valores médios e desvio padrão dos atributos aroma ácido, sabor amargo e maciez, avaliados na análise sensorial dos queijos Mussarela de acordo com diferentes contagens de células somáticas (CCS) no leite in natura e tempo de armazenamento

	I				
CCS no leite)				
(x 1.000/mL))	Tempo (dias)			Equação
	2	30	60	_	
		Aro	ma ácido		
100-250	$1,82^a \pm 1,28$	$1,50^a \pm 1,02$	$1,79^a \pm 1,26$	1,70	Eq ¹
400-750	$1,84^{a} \pm 1,69$	$1,88^{b} \pm 1,64$	$1,84^{a} \pm 1,52$	1,85	$\hat{Y} = 1.85$
> 750	$1,72^{b} \pm 1,59$	$2,11^{c} \pm ,88$	$1,88^{a} \pm 1,55$	1,90	Eq^2
Média	1,79	1,83	1,84		
CV (%) =	38,3				
		Sabo	or amargo		
100-250	$1,85^{a}\pm1,41$	$2,43^{b}\pm1,67$	$3.08^{b} \pm 1.96$	2,45	Eq^3
400-750	$1,79^{a}\pm1,65$	$2,63^{b}\pm1,95$	$2,67^{\rm b} \pm 1,90$	2,36	Eq^4
> 750	$1,65^{a}\pm1,41$	$2,93^a \pm 1,94$	$3,73^{a} \pm 2,04$	2,77	Eq ⁴ Eq ⁵
Média	1,76	2,67	3,16		
CV (%) =	33,7				
		N	Maciez		
100-250	$5,61^a \pm 1,61$	$6,23^a \pm 1,41$	$6,73^a \pm 1,45$	6,19	Eq ⁶
400-750	$4,75^{\rm b} \pm 2,03$		$6,74^{a} \pm 1,86$	5,86	$\mathrm{Eq}_{\mathrm{o}}^{7}$
> 750	$4,77^{b} \pm 2,28$	$6,19^a \pm 1,66$	$6,77^{a} \pm 1,66$	5,91	Eq^8
Média	5,04	6,17	6,74		-
CV (%) =	23,6				

Eq¹: $\hat{Y} = 1.8609 - 0.0226x + 0.0004x^2$

$$Eq^{6}: \hat{Y} = 5.598 + 0.019x R^{2} = 0.99$$

Eq⁷:
$$\hat{Y} = 4,815 + 0,034x$$
 R² = 0,95

$$Eq^8 : \hat{Y} = 4,858 + 0,034x \quad R^2 = 0,93$$

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

 $Eq^2: \hat{Y} = 1,6678 + 0,025x - 0,0004x^2$ $Eq^3: \hat{Y} = 1,0828 + 0,0212x$ $R^2 = 0,99$ $R^2 = 1.0$

Eq⁴: $\hat{Y} = 1,7003 + 0,458x - 0,0005 x^2$ Eq⁵: $\hat{Y} = 1,6736 + 0,0358x$ $R^2 = 0,99$ $R^2 = 1.0$

As faixas de CCS não influenciaram o atributo sabor amargo no tempo 2 dias, certamente porque os peptídeos ainda não estavam clivados o suficiente para gerar peptídeos menores, de sabor amargo característico. Nos tempos 30 e 60 dias após a fabricação, a faixa com maior CCS diferiu das demais apresentando sabor amargo mais pronunciado.

Em relação ao tempo de armazenamento para o sabor amargo houve efeito significativo para as três faixas de CCS (P<0,05) como destacado na Tabela 14.

Verificou-se que na maior faixa de CCS as notas para sabor amargo foram mais altas caracterizando um sabor amargo mais forte nos queijos. A formação do gosto amargo é um dos problemas mais complexos que podem surgir durante a maturação ou estocagem de queijos.

Bastian e Brown (1996), encontraram a maior quantidade de plasmina no leite com alta CCS, esta enzima e seus ativadores são incorporados ao coágulo (Fox *et al.*, 2000) e participam da proteólise no queijo durante a maturação. A plasmina tem alta especificidade por ligações peptídicas contendo resíduos lisina na porção N-terminal da cadeia. Ela é ativa sobre todas as caseínas, mas especialmente sobre a α -S₂ e β -caseínas. A plasmina quebra a β -caseína com formação de γ -caseínas e proteose peptona e cliva a α caseínas produzindo peptídeos hidrofóbicos potencialmente amargos.

Embora com menor intensidade, a plasmina também atua sobre a α S₁-caseína (CRUDDEN, *et al.* 2005).

O gosto amargo é devido à formação e acúmulo de peptídeos, geralmente de baixo peso molecular (menos de 3.000 daltons), insolúveis e apolares durante o processo de decomposição protéica que caracteriza a maturação do queijo. A maioria destes peptídeos amargos são hidrofóbicos e apresentam aminoácidos apolares nas cadeias laterais. Muitos apresentam de 3 a 6 peptídeos, com peso molecular entre 600 e 1.400 daltons aproximadamente. A presença desses peptídeos é normal durante a cura e o gosto amargo só aparece quando eles se acumulam no queijo. O coalho produz principalmente peptídeos de peso molecular entre 3.000 e 16.000 daltons, mas pode liberar peptídeos de peso molecular mais baixo, no que é auxiliado por proteinases de algumas bactérias lácteas, que são classificadas excepcionalmente como formadoras de amargor por possuírem forte atividade proteolítica sobre a caseína. Contudo a flora láctica tem um papel de redução do gosto amargo, convertendo esses compostos em aminoácidos que isoladamente não são amargos, através das suas aminopeptidases, carboxipeptidases, desaminases e descaboxilases (FURTADO, 2005).

Pesquisa realizada por Law (2007), usando painel sensorial, confirmou que preparações comerciais contendo protease neutra de *Bacillus subtilis* podem acelerar o desenvolvimento de aroma de queijo Cheddar durante a maturação, sem aumentar o sabor amargo típico.

Por razões diversas, queijos como Prato, Gouda e similares (geralmente mais suceptíveis a amargar), nem sempre são maturados por períodos mais prolongados o que faz com que o gosto amargo não seja visível (PERRY, 2004)

Para o atributo maciez, as faixas de CCS influenciaram apenas no tempo 2, em que a faixa de 100.000-250.000 CS/mL apresentou maior maciez, diferindo das demais (P<0,05). O tempo de armazenamento influenciou a maciez (P<0,05) de forma linear crescente.

Este comportamento reflete o desenvolvimento esperado da maturação de queijos. Após a fabricação, o queijo é insípido e de textura borrachuda. A hidrólise da α -S₁-caseína pelo coalho residual retido na massa e pela plasmina promove a mudança da textura na matriz protéica, proporcionando o amaciamento do queijo. Os produtos desta hidrólise são pequenos peptídeos e aminoácidos, precursores dos compostos que contribuirão para o sabor do produto (Fox *et al.*, 2000).

Com relação ao atributo aroma ácido, as faixas de CCS influenciaram nos tempos 2 e 30 (P<0,05). Observou-se que os julgadores detectaram maior desenvolvimento desse atributo, no tempo 30 dias de armazenamento, para os queijos oriundos de leite com maiores CCS (> 750), sendo que com relação ao tempo de armazenamento o efeito foi quadrático com ponto de máxima aos 31 dias, para a faixa com maior CCS (> 750). Esse aumento foi discreto mas pode estar relacionado com maior intensidade da atividade enzimática em leites com alta CCS. Essa lipólise mais acentuada eleva o percentual de ácidos graxos livres que são precursores das metilectonas, importantes compostos aromáticos.

A elevada CCS resulta em diminuição da vida de prateleira do leite pasteurizado e dos seus derivados, afetando negativamente a sua qualidade sensorial. Isso ocorre, parcialmente, pela ação das lipases sobre os triacilglicerídeos, resultando no aparecimento de defeitos sensoriais, como a rancidez. O leite com alta CCS, mesmo após a pasteurização, apresenta aumento da atividade lipolítica. Contudo, as causas dessa atividade lipolítica, durante a mastite, não estão esclarecidas, visto que esse aumento poderia ter origem nas próprias células somáticas, do sangue e da lipase lipoprotéica presente no leite (SANTOS *et al.*, 2003).

4.4.5 Características microbiológicas

Os resultados microbiológicos se encontram na Tabela 15. Tais valores estão de acordo com os padrões legais vigentes (ANVISA 2001) que estabelece o Regulamento Técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. Para queijos de alta umidade (acima de 46%), como o Mussarela a contagem máxima para coliformes a 35 °C é de 5 x 10³ UFC/g, 1 x 10³ UFC/g para coliformes a 45 °C e 1 x 10³ UFC/mL para estafilococus coagulase positiva. Os resultados encontrados para todas as faixas de CCS demostram que os queijos estavam próprios para o consumo e por esse motivo foram servidos ao painel de análise sensorial.

Tabela 15 - Contagens de coliformes a 35 °C, *E. coli* e *S. aureus* dos queijos Mussarela, de acordo com diferentes contagens de células somáticas (CCS)

	•	Faixas de CCS	
	100.000-250.000	400.000 - 750.000	> 750.000
Coliformes a 35 °C (UFC/g)	$<1x10^{2}$	$<2x10^2$	$<3x10^{2}$
E. coli (UFC/g)	$<1x10^2$	$<1x10^2$	$<1x10^2$
S. aureus (UFC/g)	$<1x10^2$	$<3x10^2$	$<3x10^2$

4.4.6 Características de rendimento

Nos processamentos com níveis de CCS entre 100.000-250.000 CS/mL, cuja média foi de 209.000 CS/mL, foram necessários 9,29 kg de leite para cada 1 kg de queijo produzido. Nos processamentos cujas faixas variaram entre 400.000-750.000 CS/mL, com média de 539.000 CS/mL de CCS, foi obtida uma média 10,25 kg de leite para 1 kg de queijo produzido, significando uma perda de rendimento da ordem de 10,3% em relação à menor faixa. Para os processamentos com níveis de CCS acima de 750.000 CS/mL e média de 1.113.000 CS/mL esse valor elevou-se para 10,74 kg de leite para cada 1 kg de queijo produzido, representando em relação a menor e à faixa mediana 15,6 e 4,8% de perda de rendimento respectivamente.

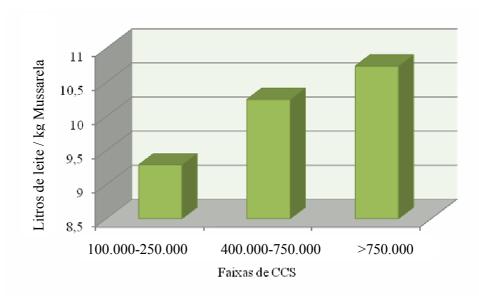


Figura 7 - Valores de rendimento bruto dos queijos Mussarela elaborados com leites contendo diferentes contagens de células somáticas.

Valores semelhantes, foram encontrados por Oliveira (2010) avaliando o rendimento do queijo Mussarela nas faixas de CCS abaixo de 400.000, entre 400.000 e 700.000 e acima de 700.000 CS/mL, obtendo média de 9,52, 10,69 e 10,93 kg de leite para produção de 1 kg de queijo, respectivamente.

Outros autores observaram menores rendimentos na fabricação de queijos utilizando leites contendo > 500.000 CS/mL quando comparadas a faixas menores de CCS em queijo Minas Frescal, 5% (MATIOLI et al., 2000), em queijo Cheddar, 8,3% (GRANDINSON, *et al.*,1986; BARBANO e LYNCH, 1991) e queijo cottage estudado por Klei et al. (1998), os quais verificaram que o incremento na CCS de 83.000 CS/mL para 872.500 CS/mL influenciou o rendimento, onde a eficiência foi inferior para queijo cottage fabricado de leite com alta CCS.

No trabalho realizado por Andreatta *et al.* (2009) com queijos Minas Frescal, não foram encontradas diferenças significativas para rendimento quando comparou-se faixas de CCS entre 100.000 a 800.000 CS/mL, o que os autores relacionaram ao fato do leite com altos níveis de CCS ter sido obtido de diferentes rebanhos com fornecimento de alimentação distinta, acarretando em maiores níveis de sólidos totais.

Um fator importante para as diferenças encontradas nos diversos trabalhos está relacionado, sobretudo às etapas de tratamento da massa durante a fabricação dos queijos e a composição do leite. De acordo com Siqueira *et al.* (1986), o teor de gordura do leite tem um importante efeito no rendimento e na composição do queijo, verificado pela correlação

significativa e positiva entre a gordura e o rendimento. Porém, apesar dessa importância, a gordura do leite, sozinha, não pode explicar todas as variações de rendimento dos queijos. O rendimento depende da transição dos componentes sólidos do leite para o queijo, especialmente, proteína e gordura (LUCEY e KELLY, 1994).

5. CONCLUSÃO

As características físico-químicas e microbiológicas do leite *in natura* e pasteurizado não foram afetadas pela CCS.

Os queijos de CCS alta apresentaram maior umidade, menor pH e acidez quando comparados aos queijos de CCS baixa. As demais características físico-químicas não foram influenciadas pela CCS. O tempo de armazenamento influenciou apenas a acidez, de forma que houve redução entre 2 e 60 dias.

Os índices de proteólise, extensão e profundidade da proteólise não foram afetados pelas faixas de CCS e pelo tempo de armazenamento.

Os queijos com alta CCS apresentaram maior capacidade de derretimento que os demais. Com relação ao tempo de armazenamento a CD aumentou 0,79% no intervalo de 2 a 60 dias.

A avaliação sensorial indicou que os queijos de CCS baixa apresentaram maior aceitação geral por parte dos provadores.

Para os processamentos com níveis de CCS acima de 750.000 CS/mL o rendimento bruto do queijo Mussarela apresentou uma perda de 15,6 e 4,8% em comparação com as faixas de 100-250.000 e 400.000-750.000 CS/mL, respectivamente.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREATTA, E. Avaliação da qualidade dos queijos Minas Frescal e tipo Mussarela produzidos com leite contendo diferentes níveis de células somáticas. 110 p. Tese de Doutorado em Zootecnia – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

ANDREATTA, E.; FERNANDES, A. M.; SANTOS, M. V.; MUSSARELLI, C.; MARQUES, M. C.; GIGANTE, M. L.; OLIVEIRA, C. A. F. Qualidade de queijo minas frescal preparado com leite com diferentes quantidades de células somáticas. **Revista Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, n.3, p. 320-326, mar. 2009

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC 12 de 2 de janeiro de 2001. **Diário official da união**, 10 de janeiro de 2001.

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, I. **Official Methods of Analysis.** 16th ed.: Arlington, VA. 1995.

APHA. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4ed. Washington: American Public Heath Association, 2001. 676 p.

APHA. **Standard methods for the examination of dairy products.** 17ed. Washington, American Public Heath Association, 2004. 570 p.

ARAÚJO, J.M.A. **Química de alimentos: teoria e prática.** 3ª edição. Viçosa: UFV, 2004. 478p.

ARCURI, E. F.; VARGAS, O. L.; SOUZA, H. M. de.; SANTOS, E. C. dos.; CARVALHO, A. F. Conseqüências de diferentes níveis de células somáticas no leite sobre a qualidade do queijo Prato. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 45, n. 267/272, p. 68-76, jul/ago. 1990.

ARCURI, E. F. Influência de bactérias psicrotróficos na qualidade do leite e produtos lácteos. In: DIAGNÓSTICO DA QUALIDADE DO LEITE, IMPACTO PARA A INDÚSTRIA E A QUESTÃO DOS RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS. Juiz de Fora: Templo Gráfica e Editora Ltda. 2003. p.105-115.

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

BACTOCOUNT 150. Operator's Manual. Chaska: Bentley Instrents Inc., 2002. 49 p

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

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

BARBOSA, S. B. P., JATOBÁ, R.B., BATISTA, A.M.V.B. (2006). A Instrução Normativa 51 e a Qualidade do Leite na Região Nordeste e nos Estados do Pará e Tocantins. III CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIADE DO LEITE, 3, 2008, Recife. Anais... Recife: CCS Gráfica e Editora, 2008. p. 25-33.

BENTLEY 2000. Operator's Manual. Chaska: Bentley Instrents Inc., 1998. 79 p.

BOCKELMANN, W.; HOPPE-SEYLER T. The surface flora of bacterial smear-ripened cheeses from cow's and goat's milk. **International Dairy Journal**, Oxford, v. 11, p.307–314. Jul. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RISPOA)**. Brasilia: MAPA, 1980. p. 113.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 364 de 4 de setembro de 1997. **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade do queijo mozzarella (muzzarella ou mussarela)**. Brasília: MAPA, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. **Regulamento Técnico de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, do leite tipo B, do leite tipo C, do leite pasteurizado e do leite cru refrigerado e o regulamento técnico da colete de leite cru refrigerado e seu transporte a granel**. Brasília: MAPA, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº68, de 12 de dezembro de 2006. **Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos para controle de Leite e Produtos Lácteos**. Brasília: MAPA, 2006.

CAMPOS, L. **Química do leite 2: gordura**. 2008. Disponível em: < http://www.lacteabrasil.org.br/pagina.asp?idS=21&idN=264. Acesso em 01 de fevereiro de 2010.

CARREIRA, A., L. PALOMA, V. L. Pigment producing yeasts involved in the brown surface discoloration of ewes' cheese. **International Journal Food Microbiology**, v. 41, p.223–230. Jun.1998.

CHAVES, J. B. P.; SPROESSER, R. L. **Práticas de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas.** Viçosa: Imprensa Universitária, 1996. 81p.

CIÊNCIA DO LEITE. O Rendimento na fabricação de queijos: métodos para avaliação e comparação. Parte I Disponível em: http://www.cienciadoleite.com.br/rendimentofabricacao.htm. Acesso em 29 de janeiro de 2010.

COONEY, S.; TIERNAN, D.; JOYCE, P.; KELLY, A.L. Effect of somatic cell count and polymorphonuclear leucocyte content of milk on composition and proteolysis during ripening of Swiss-type-cheese. **Journal of Dairy Research**, London, v. 67, n. 2, p. 301-307, 2000.

COSTA, E. O.; BENITES, N. R.; MELVILLE, P. A.; PARDO, R. B.; RIBEIRO, A. R.; WATANABE, E. T. Estudo etiológico da mastite bovina. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v.17, p.156-158, 1995.

CRUDDEN, A.; FOX, P. F.; KELLY, A. L. Factors affecting the hydrolytic action of plasmin in milk. **International Dairy Journal**, Oxford, v. 15, n. 4, p. 305-313, Dec.2005.

DAMÁSIO, M. H.; COSTELL, E. Análisis sensorial descriptivo: generación de descriptores y selección de catadores. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, v. 31, n. 2, p. 165-178, 1991.

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

DETERMINATION of milkfat, protein and lactose content in whole milk-Guide for the operation of mid-red instruments. International IDF Standard, n. 141B, 1996.

EARLY, R. **The technology of dairy products.** 2 ed. Londres: Blackie Academic & Professional, 1998. Disponível em: http://books.google.com/books?id=BuR28Y-S4SMC&printsec=frontcover&dq=the+tecn%C3%B3logy+of+dairy+products&hl=pt-BR&cd=1#v=onepage&q=&f=false. Acesso em 18 de dezembro de 2009.

ENUMERATION of somatic cells in milk. International IDF Standard, n.148A, 1995.

FERNANDES, A. M.; OLIVEIRA, C. A. F.; LIMA, C. G. Effects of somatic cell counts in milk on physical and chemical characteristics of yogurt. **International Dairy Journal**,Oxford, v.17, p. 111-115, Feb. 2007.

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

FONSECA, L.M.; RODRIGUES, R.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; *et al.*. Situação da qualidade do leite cru em Minas Gerais. In: **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil.** Organizado por Mesquita, A.J., Dürr, J.W., Coelho, K.O. Goiânia: Talento, 2006, 352p.

FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da Segurança Alimentar.** Porto Alegre: Artmed, 2002. 424p.

FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M.; McSWEENEY, P.L.H. Fundamentals of cheese science. Gaithersburg: Aspen, 2000. 587p.

FROEDER ARCURI, E.; LOPEZ VARGAS, O.; DE SOUZA, H. M.; DOS SANTOS, E.C.; CARVALHO, A.F. Consequências de diferentes níveis de células somáticas no leite sobre a qualidade do queijo Prato. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 45, n. 267-272, p. 68-76, 1990.

FURTADO, M. M. Manual Prático da Mussarella (Pizza Cheese). Campinas: Master Graf, 1997. 70p.

FURTADO, M. M. **Principais problemas dos queijos: causas e prevenções.** São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 2005.

GIGANTE, M. L. Influência das Células Somáticas nas Propriedades Tecnológicas do Leite e Derivados. In: III CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2008. Recife. Leite: Segurança Alimentar e Saúde Pública. p. 161-174.

GRANDISON, A. S.; FORD, G. D. Effects of variation in somatic cell count on the rennet coagulation properties of milk and on the yield, composition and quality of cheddar cheese. **Journal of Dairy Research**, v.53, p.645-655, 1986.

HANSEN CHRISTIAN. Maturação de queijos. **Biotec,** Valinhos, n.92. p.6-10, mar/abr. 2006.

IDF - INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Bovine Mastitis - definition and guidelines for diagnosis. **Bulletin of International Dairy Federation**, Brussels, v.211, p.7, 1987.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v.1. 3 ed. São Paulo: IAL, 1985.

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

KINDSTEDT, P.S. Mozzarela and pizza cheese. In: FOX, P.F. Cheese: chemistry, physics and microbiology. London: Elsevier Applied Publ. Science, 1993, p.337-362.

KINDSTEDT, P.S. Mozzarella cheese: 40 years of scientific advancements. **International Journal of Dairy Technology**, v.57, n.3, p.85-90, 2004.

KLEI, L.; YUN, J.; SAPRV, A.; LYNCH, J.; BARBANO D.; SEARS, P.; GALTON, D. Effects of milk somatic cell count on cottage cheese yield and quality. **Journal Science**, v. 81. p.1204-1213, 1998.

LACTOSCAN LA **Operation Manual**. Bulgária: Milkotronic, 2009. 108 p.

LANGONI, H.; DOMINGUES, P.F.; SILVA, A.V.; CABRAL, K.G. Aspectos etiológicos na mastite bovina. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v.20, p.204-210, 1998.

LARRY SMITH, K.; HOGAN, J.S. Milk quality – A wordwide perspective. In: NATIONAL MASTITIS COUNCIL ANNUAL MEETING, 37, 1998, St. Louis. **Proceedings**... National Matitis Council, 1998. p. 3-9.

LAW, B.A.; WIGMORE, A. S. Microbial proteinases as agent for accelerated cheese ripening. **International Journal of Dairy Tecnology,** Malden, v.35, n.2, p. 75-76, ago. 2007

LOURENÇO, E. J. **Tópicos de proteínas de alimentos.** Jaboticabal: Funep, 2000. p. 179-231.

LUCEY, J.; KELLY, J. Cheese yield. **Journal of the Society of Dairy Technology**, Huntingdon Cambs, v. 47, n. 1, p. 1-14, 1994

MACDOUGALL, D. B. Colour of meat. In: PEARSON, A. M.; DUTSON, T. R. Eds. **Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish products**. Advances in meat research series, New York: Elsevier Science Publisher, 1994, v.9, p.79-93.

MACHADO, P. F.; PEREIRA, A.R.; SARRÍES, G.A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.9, n.6, p. 1883-1886, 2000.

MACHADO, P. F., CASSOLI, L. D. **Diagnóstico da qualidade do leite na Região Sudeste**. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Organizado por Mesquita, A.J., Dürr, J.W., Coelho, K.O. Goiânia: Talento, 2006. 352p.

MARINO, R.; CONSIDINE, T.; SEVIA, A.; McSWEENEY, P. L. H.; KELLY, A. L. Contribution of protealytic activy associated with somatic cells in milk to cheese ripening. **International Dairy Journal**, Porto, v.15, n. 10, p. 1026-1033, 2005.

MARTINS, P. C. A Competitividade do Brasil no mercado mundial de lácteos. In: 8⁰ INTERLEITE, 2007, Uberlândia. **Anais**. Agripoint, 2007. p.13-32.

MATIOLI, G.P. PINTO, S.M.; ABREU, L.R. de; XAVIER, L.; TEIXEIRA, L.A.M. Effect of milk from cows with mastitis on the production of fresh Minas cheese. **Revista do Instituto de Laticínio Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.54. p.38-45, Jul. 2000.

MAZAL, G.; VIANNA, P.C.B.; SANTOS, M.V.; GIGANTE, M.L.Effect of somatic cell count on prato cheese composition. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.630-636, 2007.

MESQUITA, A.J., Neves, R.B.S., Coelho, K.O. A qualidade do leite na região Centro-Oeste. In: **PERSPECTIVAS E AVANÇOS DA QUALIDADE DO LEITE NO BRASIL,** 2006 Goiânia. 352p.

MITCHELL, G. E.; FEDRICK, I. A.; ROGERS, S. A. The relationship between somatic cell count, composition and manufacturing properties of bulk milk.2. Cheddar cheese from farm bulk milk. **Australian Journal Dairy Tecnology**, North Melbourne, v.41, p.12-14, 1986.

MODLER, H. W. Milk processing. In: NAKAI, S.; MODLER, W. Eds. Food proteins: processing applications. Wiley: VCH, Inc., 2000. p.1-21.

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

NARIMATSU, A; DORNELLAS, J.R.F.; SPADOTI, L. M.; PIZAIA, P. D.; ROIG, S. M. Avaliação da proteólise e do derretimento do queijo Prato obtid por ultrafiltração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, p. 177-182, dez. 2003.

NÖRNBERG, M. F. B. et al. Proteolytic activity among psychrotrophic bacteria isolated from refrigerated raw milk. **International Journal of Dairy Technology,** Reino Unido, v. 63, n. 1, p. 41-46, 2010.

OLIVEIRA, C.A.F.; FERNADES, A.M.; CUNHA NETO, O.C.; FONSECA, L.F.L.; SILVA, E.O.T.; BALIAN, S.C. Composition and sensory evaluation of whole yogurt produced from milk with different somatic cell counts. The Australian Journal of Dairy Technology. v. 57, n.3, p.192-196, 2002.

OLIVEIRA, C.A.F.; FONSECA, L.F.L.; GERMANO, P.M.L. **Aspectos relacionados à produção, que influenciam a qualidade do leite.** Disponível em: http://www.bichoonline.com.br/artigos/ha0012.htm. Acesso em 05 de março de 2009.

OLIVEIRA, J. S. Queijo: Fundamentos Tecnológicos. 2.ed. Campinas: UNICAMP, 1986.

OLIVEIRA, W. P. S.; OLIVEIRA, A. N.; SOARES E. N. *et al.* Impacto da contagem de células somáticas elevada no rendimento de queijo mussarela. Disponível em: http://www.terraviva.com.br/IICBQL/p010.pdf Acesso em 23 de janeiro 2010.

- ORDÓÑEZ PEREDA, J. A. **Tecnologia de Alimentos Origem Animal I**. São Paulo: Artmed, 2005. 279 p.
- O RENDIMENTO da fabricação de queijos: métodos para avaliação e comparação. http://www.milknet.com.br/chrhansen/ed43 44.html . Acesso em: 29 de setembro de 2009.
- PEREIRA, D.B.C., SILVA, P.H.F., COSTA Jr, L.C.G., OLIVEIRA, L.L. **Físico-química do Leite e Derivados Métodos Analíticos**. 2ª ed. Juíz de Fora: EPAMIG, 2001. 234 p.
- PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, São Paulo, v.27, n. 2, 293-300. 2004.
- PIZAIA, P. D.; SPADOTI, L. M.; NARIMATSU, A.; DORNELLAS, J. R. F.; ROIG, S. M. Composição, proteólise, capacidade de derretimento e formação de "blisters" do queijo mussarela obtido pelos métodos tradicional e de ultrafiltração. **Ciência e Tecnologia de. Alimentos**, Campinas, v.23, n.3, p.485-491, 2003.
- POLITIS, I.; NG-KWAI-HANG, K. F. Effects of somatic cell counts and milk composition on cheese composition and cheesemaking efficiency. **Journal of Dairy Science**, v.71, p.1711-1719, 1988.
- PONSANO, E. H. G. *et al.* Correlação entre as técnicas de NMP e Petrifilm EC na determinação de coliformes em leite pasteurizado e queijo tipo mussarela. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 54, n. 316, p. 22-26, 2000.
- RENEAU, J. K.; PACKARD, V. S. Monitoring Mastitis, milk quality and economic losses in Dairy fields. **Dairy, Food an Environmental Sanitation**, v.11, p. 4-11, 1991.
- REZENDE, N. C. M.; ROSSI JÚNIOR, O. D.; NADER FILHO, A.; AMARAL, L. A. do. Ocorrência de microrganismos indicadores em leite UHT ("ultra-high temperature") integral. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, Rio de Janeiro. v.7, n.1, p. 58-60, 2000.
- ROCHA, A. M. P. Controle de fungos durante a maturação de queijos Minas padrão, 2004, 96f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) Universidade Federal de Santa Maria UFSM, Santa Maria-RS.2004
- ROGERS, S. A.; MITCHELL, G. E. The relationship between somatic cell count, composition and manufacturing properties of bulk milk. 6. Cheddar cheese and skim milk yogurt. **Australian Journal of Dairy Technology**, v.49, p.70-74, 1994.
- RUBEZ, J. O leite nos últimos 10 anos. http://www.leitebrasil.org.br/artigos/jrubez_093.htm. Acesso em: 31 julho de 2009.
- SABIONI, J. G. Contribuição da atividade lipolítica e proteolítica na formação de flavor em queijos e no desenvolvimento de produtos aromáticos de origem láctea. **Informativo da Escola de Nutrição.** Ouro Preto: UFOP, 2000.

SANTOS, M.V.; MA, Y.; CAPLAN, Z. Sensory threshold of off-flavors caused by proteolysis and lipolysis in milk. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.1601-1607, 2003.

SANTOS, M. V. Aspectos não microbiológicos afetando a qualidade do leite: DURR, J. W.; CARVALHO, M. P.; SANTOS, M. V. **O Compromisso com a qualidade do leite no Brasil.** Passo Fundo, 2004, p. 269-283.

SANTOS, M. V. Efeito da Mastite sobre a qualidade do leite e dos derivados lácteos - Parte 1. Disponível em: http://www.milkpoint.com.br/efeito-da-mastite-sobre-a-qualidade-do-leite-e-dos-derivados-lacteos-parte-1_noticia_16229_61_180_.aspx 2002. Acesso em 15 de março de 2009a.

SANTOS, M. V. Leite com CCS elevada tem menor rendimento para a fabricação de queijo Mussarela. Disponível em: http://www.milkpoint.com.brnoticiaID=35209&actA=7&areaID=61&secaoID=180. Acesso em 10 de janeiro de 2009b.

SAS Institute. SAS User's guide: statistics. Cary, USA: SAS Inst., 1996

SCHÄLLIBAUM, M. Impact of SCC on the Quality of fluid Milk and Cheese. **National Mastitis Council – Annual Meeting Proceedings**, 2001. p.38-46.

SGARBIERI, V. C. Propriedades estruturais e físico-químicas das proteínas do leite. **Brasilian Journal Food Technology**, São Paulo, v.8, n.1, p. 43-56, 2005.

SGARBIERI, V. C. Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações. São Paulo: Editora Varela, 1996. 517 p.

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

SILVA, P. H. F. Leite UHT: fatores determinantes para sedimentação e geleificação. Juiz de Fora, 2004. 128p.

SIQUEIRA, J. F. M.; COELHO, D. T.; CHAVES, J. B. P.; FURTADO, M. M. Efeito da variação do teor de gordura do leite no rendimento do queijo minas padronizado. **Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes,** Juiz de Fora, v.41, p. 21-26, 1986.

SOUZA, G.N., Brito, M. A. V. P., Lange, C. C. *et al.*. **Qualidade do leite de rebanhos bovinos localizados na região Sudeste: Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, julho/2005 a junho/2006**. In: **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Organizado por Mesquita, A.J., Dürr, J.W., Coelho, K.O. Goiânia: Talento, 2006. 352p.

SOUZA, L., J. **Nova Legislação de Produtos Lácteos.** São Paulo: Revista Indústria de Laticínios, 2002.

STONE, H.; SIDEL, J. L. Sensory evaluation practices. London. Academic Press, 2004. Disponível em: http://books.google.com/books?id=iQ2cbxbi1qsC&printsec=frontcover&dq=Sensory+evaluation+practices&hl=pt-BR&cd=1#v=onepage&q=&f=false. Acesso em: 20 de janeiro de 2010.

SWAISGOOD, H. E. Chemistry of milk proteins. In: Fox P.F. (Ed.). **Developments in dairy chemistry. I. Proteins.** New York: pp. 1-60, Applied Scienc

TAMIME, A. Y. **Brined Cheese**. Lowa: Blackwell Publishing, 2006. Disponível em: http://books.google.com/books. Acesso em 26 de janeiro de 2010.

TRONCO, V. M. **Manual para Inspeção da Qualidade do Leite.** 2.ed. Santa Maria: Ed. UFSM, 2003.

VALLE, J. L. E. Influência de parâmetros físicoquímicos na fermentação e filagem do queijo Mozarela. São Paulo, 1991, 88p. Tese de Doutorado, USP/FCF.

VALLE, J. L. E.; CAMPOS, S. D. S.; YOTSUYANAGI, K.; SOUZA, G. Influência do teor de gordura nas propriedades funcionais do queijo tipo mozarela. **Ciência e Tecnologia. Alimentos**, Campinas, v.24, n.4, p.669-673, 2004.

VALLE, J.L.E. do; LEITÃO, M.F. de F.; SOUZA, G. Aspectos tecnológicos da filagem do queijo Mozarela. Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos, v. 26, n. 1, p. 71-79, 1996.

VENTURINI, K. S., SARCINELLI, M. F., SILVA, S. C. *et al.* Características do leite. **2007**. Disponível em: http://www.prac.ufpb.br/anais/xenex_xienid/xi_enid/monitoriapet/ANAIS/Area7/7CCHSADTRMT01.pdf. Acesso em 20 de janeiro de 2010.

VIANNA, P. C.B. Efeito da contagem de células somáticas do leite sobre a microbiota de maturação e características sensoriais do queijo prato. 2006. 83p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2006.

VIDAL-MARTINS, A. M. C., ROSSI Jr., O.D., REZENDE-LAGO, N.C. Microrganismos heterotróficos mesófilos e bactérias do grupo de *Bacillus cereus* em leite integral submetido a ultra alta temperatura. 2005. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27638.pdf. Acesso em: 18 de dezembro de 2009.

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.

WALSTRA, P.; JENNESS, R. Química y física lactológica. Zaragoza: Acribia, 1986. 423p.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J. T. M.; GEURTS, T. J. Dairy Science and Tecnology. Boca Raton: CRC Press, 2006. 756p.

WATTIAUX, M. A. **Milk Composition and nutritional value**. Madison: University of Wisconsin. Disponível em: www.babcock.cals.wisc.edu. Acesso em 25 de agosto de 2008.

WONG, D. W. S.; CARMIRAND, W. M.; PAVLAT, A. E. Structures and functionalities of milk proteins. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition,** v. 36, n. 8, p. 807-844, 1996.

YUNES, V. M., BENEDET, H. D. Desenvolvimento experimental de queijo fresco de leite da espécie bubalina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.20, n.3, p.285-290, 2000.