

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA**  
**PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO LEITE E DERIVADOS**  
**MESTRADO PROFISSIONAL EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO LEITE E DERIVADOS**

**GUSTAVO LUIZ AMARAL DE OLIVEIRA**

**“Efeito da contagem de células somáticas do leite na fabricação e nas características do queijo  
Parmesão”**

**JUIZ DE FORA**

**2019**

**GUSTAVO LUIZ AMARAL DE OLIVEIRA**

**“Efeito da contagem de células somáticas do leite na fabricação e nas características do queijo  
Parmesão”**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados, Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial a obtenção do grau de Mestre.**

**Orientadora: Prof. Dra. Renata Golin Bueno Costa**

**Co-orientadora: Prof. Dra. Vanessa Aglaê Martins Teodoro**

**JUIZ DE FORA**

**2019**

## GUSTAVO LUIZ AMARAL DE OLIVEIRA

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Oliveira, Gustavo Luiz Amaral de.

Efeito da contagem de células somáticas do leite na fabricação e nas características do queijo Parmesão / Gustavo Luiz Amaral de Oliveira. -- 2019.

109 f. : il.

Orientadora: Renata Golin Bueno Costa

Coorientadora: Vanessa Aglaê Martins Teodoro

Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia e Bioquímica. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, 2019.

1. Mastite. 2. Rendimento. 3. Caseína. 4. Proteólise. 5. Textura. I. Costa, Renata Golin Bueno, orient. II. Teodoro, Vanessa Aglaê Martins, coorient. III. Título.

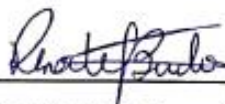
GUSTAVO LUIZ AMARAL DE OLIVEIRA

“Efeito da contagem de células somáticas do leite na fabricação e nas características do queijo Parmesão”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados, Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito para a obtenção do grau de Mestre.

Aprovada em 19 / 08 / 2019.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dra. Renata Golin Bueno Costa - Orientadora  
EPAMIG – ILCT



Prof. Dra. Vanessa Aglaê Martins Teodoro – Co-orientadora  
UFJF



Prof. Dra. Elisângela Michele Miguel  
EPAMIG – ILCT



Prof. Dr. Junio Cesar Jacinto de Paula  
EPAMIG - ILCT

Dedico este trabalho aos meus pais,

**Marta e Benedito**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por me dar forças, por me amparar nos momentos difíceis e por me guiar durante toda esta jornada. Ele sempre esteve ao meu lado.

A minha família, em especial a minha esposa Maria Luiza, aos meus pais Marta e Benedito Cândido e ao meu irmão Augusto César, que sempre me deram todo apoio necessário para que eu pudesse alcançar os meus objetivos e realizar os meus sonhos nesta vida. Aos meus sogros, Ângela e Odair, agradeço carinhosamente por todo respaldo.

A minha orientadora Prof. Dra. Renata Golin Bueno Costa, pelo qual tenho muita admiração. Certamente, nada disso seria possível sem o seu apoio, orientação e ensinamentos. Obrigado por tudo.

A minha co-orientadora Prof. Dra. Vanessa Aglaê Martins Teodoro e aos professores doutores participantes da banca, Elisângela Michele Miguel e Junio Cesar Jacinto de Paula, pela contribuição neste trabalho. Agradeço também a todos os professores do ILCT, UFJF e Embrapa Gado de Leite por todo ensinamento.

Aos funcionários do ILCT, em especial a Alcy Laender e aos alunos bolsistas por todo apoio prestado no laboratório do ILCT.

E a todos aqueles que fizeram parte direta ou indiretamente deste trabalho.

“Sonhos não morrem, apenas adormecem na alma da gente  
e basta só uma frase para eles renascerem outra vez”  
(Chico Xavier).

## RESUMO

O queijo Parmesão é classificado como um queijo semigordo, de baixo teor de umidade, consistência dura, textura compacta e granulosa que deve ser maturado por tempo mínimo de seis meses. A qualidade sensorial, a composição e o rendimento do queijo estão intimamente ligados às características físico-químicas e microbiológicas do leite, bem como pelo processo de fabricação. Portanto, o objetivo principal desse trabalho foi avaliar a influência de três diferentes níveis de contagem de células somáticas (CCS) do leite (alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL; média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL e baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL de leite) nas propriedades físico-químicas, no rendimento, na proteólise e no perfil de textura do queijo Parmesão em quatro estágios de maturação (2 dias, 2, 4 e 6 meses) e três repetições, com exceção da análise sensorial, que foi realizada apenas após 6 meses. Os teores de lactose e extrato seco desengordurado (ESD) dos leites com diferentes CCS diferiram entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ), sendo menores no leite de alta CCS quando comparado ao de baixa CCS. No queijo, a CCS não influenciou as características físico-químicas entre os tratamentos, inclusive na umidade ( $P > 0,05$ ), devido ao tempo maior de fabricação dos queijos ( $P < 0,05$ ). O tempo foi significativo em todas as propriedades físico-químicas, com redução do teor de umidade. A CCS influenciou no rendimento ( $P < 0,05$ ), sendo que os queijos produzidos do leite com alta CCS apresentaram rendimento inferior quando comparados aos fabricados com baixa CCS. A recuperação de proteína do leite para o queijo e para o soro também diferiu entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ), sendo que os queijos produzidos com leite de baixa CCS apresentaram maior recuperação de proteína e menor perda desta para o soro, quando comparado ao de alta CCS. Já a recuperação de gordura do leite para o queijo e o soro não apresentaram diferenças entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ). O índice de extensão da proteólise foi mais intenso nos queijos produzidos com leite de alta CCS ( $P < 0,05$ ). No entanto, não houve diferença no índice de profundidade da proteólise ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos, mas o tempo foi significativo nos dois índices. Em relação à análise do perfil de textura, os parâmetros dureza, adesividade, coesividade, elasticidade e mastigabilidade comportaram de forma semelhante em todos os tratamentos ( $P > 0,05$ ). Entretanto, o tempo foi significativo para esses parâmetros ( $P < 0,05$ ). Com relação à aceitação sensorial, foram observadas diferenças para todos os atributos, com exceção do aroma. A CCS do leite interfere nos teores de lactose e ESD do leite, como também no tempo de fabricação, rendimento, na proteólise e na aceitação sensorial do queijo Parmesão.

Palavras-chave: Mastite bovina. Caseína. Rendimento. Proteólise. Perfil de textura. Análise sensorial.



## ABSTRACT

Parmesan cheese is classified as a semi-low, low moisture cheese, hard consistency, compact and granular texture that should be matured for a minimum of six months. The sensorial quality, composition and yield of the cheese are closely linked to the physical-chemical and microbiological characteristics of the milk, as well as the manufacturing process. Therefore, the main objective of this study was to evaluate the influence of three different levels of somatic cell counts (SCC) of the milk (high SCC: 1,150,000 to 1,200,000 cells / mL, mean SCC: 550,000 to 600,000 cells / mL and low CCS: 200,000 to 250,000 cells / mL of milk) on the physicochemical properties, yield, proteolysis and texture profile of Parmesan cheese at four maturation stages (2 days, 2, 4, and 6 months) and three replicates, with the exception of three replicates of the parmesan cheese of the sensory analysis, which was performed in a single time (6 months). The levels of lactose and dried dry extract (DDE) of milk with different SCC differed between treatments ( $P < 0.05$ ), being lower in the milk of high SCC when compared to the low SCC. In the cheese, SCC did not influence the physical-chemical characteristics of the treatments, including humidity ( $P > 0.05$ ), due to the longer cheese production time ( $P < 0.05$ ). The time was significant in all the physical-chemical properties, with reduction of the moisture content. The SCC influenced the yield ( $P < 0.05$ ), and the cheeses produced from milk with high SCC obtained lower yield when compared to those manufactured with low SCC. The milk protein recovery for the cheese and for the serum also differed between the treatments ( $P < 0.05$ ), and the cheeses produced with low SCC milk showed a higher recovery of protein and less loss of protein to the whey when compared to high SCC. On the other hand, the recovery of milk fat for cheese and whey did not show differences between treatments ( $P > 0.05$ ). The proteolysis extension index was more intense in cheeses produced with high SCC milk ( $P < 0.05$ ), however, there was no difference in the proteolysis depth index ( $P > 0.05$ ) among the treatments, but the time was significant in both indices. In relation to the analysis of the texture profile, the parameters hardness, adhesiveness, cohesiveness, elasticity and chewing behavior were similar in all treatments ( $P > 0.05$ ), however, the time was significant for these parameters ( $P < 0, 05$ ). Regarding sensory acceptance, differences were observed for all attributes, except aroma. The SCC of the milk interferes in the lactose and DDE contents of the milk, as well as the time of manufacture, yield, the proteolysis and the sensorial acceptance of Parmesan cheese.

Key words: Bovine mastitis. Casein. Yield. Proteolysis. Texture profile. Sensory analysis.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma do processamento do queijo Parmesão. Fonte: SANTOS (2015) .....	41
Figura 2. Tecnologia de fabricação do queijo Parmesão. Fonte: Furtado; Lourenço Neto (1994)....	50
Figura 3. Modelo da ficha-resposta do teste de aceitação (escala hedônica de nove pontos) para o queijo Parmesão .....	55
Figura 4. Tempo médio de fabricação dos queijos Parmesão elaborados com leites em três diferentes níveis de CCS .....	61
Figura 5. Teor de umidade dos queijos Parmesão ao longo da maturação .....	66
Figura 6. Atividade de água dos queijos Parmesão ao longo da maturação .....	68
Figura 7. Teor médio de gordura dos queijos Parmesão ao longo da maturação.....	71
Figura 8. Teor médio de proteína total dos queijos Parmesão ao longo da maturação.....	73
Figura 9. pH médio dos queijos Parmesão ao longo da maturação.....	75
Figura 10. Índices médios de extensão da proteólise dos queijos Parmesão ao longo da maturação (n=3).....	77
Figura 11. Índices médios de profundidade da proteólise dos queijos Parmesão ao longo da maturação (n=3) .....	78
Figura 12. Recuperação média de proteína para o queijo e para o soro para cada tratamento (n=3).	82
Figura 13. Recuperação de gordura para o queijo e o soro para cada tratamento (n=3).....	83
Figura 14. Dureza dos queijos ao longo da maturação .....	85
Figura 15. Coesividade dos queijos ao longo da maturação .....	88
Figura 16. Elasticidade dos queijos ao longo da maturação .....	89
Figura 17. Mastigabilidade dos queijos ao longo da maturação .....	90

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Requisitos microbiológicos, de contagem de contagem de células somáticas e contagem padrão em placas para o leite cru refrigerado .....	21
Tabela 2 - Composição média do leite de vacas da raça holandesa .....	25
Tabela 3 - Frações das proteínas do leite em relação ao total de proteína verdadeira do leite (%)...27	
Tabela 4 - Composição dos ácidos graxos da gordura do leite de vacas holandesas .....	29
Tabela 5 - Concentração dos sais (nM) no leite desnatado de vacas Ayrshire no início, meio e final de lactação e de vacas com mastite subclínica.....	32
Tabela 6 - Composição de vitaminas presentes no leite cru .....	33
Tabela 7 - Comparação entre o Parmigiano Reggiano e o Grana Padano .....	36
Tabela 8 - Composição média dos queijos Parmigiano Reggiano e Grana Padano com cerca de um ano de maturação .....	39
Tabela 9 - Estabilização e maturação do queijo.....	42
Tabela 10 - Número de repetições e análises realizadas no leite cru e pasteurizado/padronizado ....	45
Tabela 11 - Número de repetições e análises realizadas no soro .....	46
Tabela 12 - Número de repetições, tempos avaliados e análises realizadas no queijo .....	47
Tabela 13 - Análises físico-químicas do leite cru refrigerado (média ± DP).....	57
Tabela 14 - Análises físico-químicas do leite pasteurizado e padronizado (média ± DP).....	60
Tabela 15 - Teor de umidade (%) das massas (média ± DP) .....	63
Tabela 16 - Análises físico-químicas do soro após primeiro corte da coalhada (média ± DP).....	64
Tabela 17 - Teor de umidade dos queijos dentro de cada tratamento (média ± DP) .....	65
Tabela 18 - Atividade de água dos queijos dentro de cada tratamento (média ± DP) .....	67
Tabela 19 - Teor de cloretos nos queijos Parmesão em cada tratamento aos dois dias de maturação (média ± DP).....	69
Tabela 20 - Teor de gordura (%) dos queijos Parmesão entre os tratamentos (média ± DP) .....	70
Tabela 21 - Teor de GES dos queijos Parmesão entre os tratamentos (média ± DP) .....	72
Tabela 22 - Teor de proteína (%) dos queijos Parmesão nos tratamentos (média ± DP).....	72
Tabela 23 - pH dos queijos Parmesão nos tratamentos (média ± DP) .....	74
Tabela 24 - IPP dos queijos Parmesão nos tratamentos (média ± DP) .....	78
Tabela 25 - Rendimento e rendimento ajustado (RAJ) dos queijos com dois dias de maturação (média ± DP).....	80

Tabela 26 - Dureza (N) dos queijos Parmesão produzidos com leite em três diferentes níveis de CCS (média ± DP) .....	84
Tabela 27 - Adesividade (J) dos queijos Parmesão produzidos com leite em 3 diferentes níveis de CCS durante a maturação (média ± DP) .....	86
Tabela 28 - Coesividade dos queijos Parmesão produzidos com leite em três diferentes níveis de CCS (média ± DP) .....	87
Tabela 29 - Elasticidade (mm) dos queijos Parmesão produzidos com leite em três diferentes níveis de CCS (média ± DP).....	88
Tabela 30 - Mastigabilidade (J) dos queijos Parmesão produzidos com leite em três diferentes níveis de CCS (média ± DP).....	90
Tabela 31 - Análise microbiológica dos queijos aos 4 meses de maturação.....	91
Tabela 32 - Avaliação sensorial dos queijos Parmesão fabricados com leite em diferentes níveis de CCS (média ± DP) .....	92

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância
ANSA	Associação Nacional dos Servidores da Agricultura
Aw	Atividade de Água
BOD	Demanda Bioquímica de Oxigênio
C	Carbono
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CBT	Contagem Bacteriana Total
CCS	Contagem de Células Somáticas
Cél/mL	Célula por mililitro
CMT	Califórnia Mastite Teste
CPP	Contagem Padrão em Placas
CS	Contagem de Células
DP	Desvio Padrão
EA	Escore de Autenticidade
EPAMIG	Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais
Esalq	Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz
ESD	Extrato Seco Desengordurado.
EST	Extrato Seco Total.
GES	Gordura no Extrato Seco
IEP	Índice de Extensão de Proteólise
Ig	Imunoglobulina
ILCT	Instituto de Laticínios Cândido Tostes
IN 07	Instrução Normativa nº 07
IN 37	Instrução Normativa nº 37
IN 62	Instrução Normativa nº 62
IN 76	Instrução Normativa nº 76
IN 77	Instrução Normativa nº 77
IN 78	Instrução Normativa nº 78
IN51	Instrução Normativa nº 51
IPP	Índice de Profundidade da Proteólise

MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MERCOSUL	Mercado Comum do Sul
N	Nitrogênio
NaCl	Cloreto de Sódio
NaOH	Hidróxido de Sódio
NPN	Nitrogênio dos Compostos não Proteicos
NS	Nitrogênio solúvel
NT	Nitrogênio total
PCAS	Porcentagem da Proteína na Forma de Caseína.
PNQL	Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite
RAJ	Rendimento Ajustado
RBQL	Rede Brasileira de Laboratórios de Controle de Qualidade de Leite
RG	Recuperação de Gordura
RP	Recuperação de Proteína
RT	Recuperação Total
Spp	Sub-espécie
TPA	Análise do Perfil de Textura
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
USP	Universidade de São Paulo

## LISTA DE SÍMBOLOS

%	Percentual
°C	Graus Celsius
°D	Graus Dornic
µg	Micrograma
cm	Centímetro
g	Gramma
kg	Quilograma
L	Litro
m/m	Massa/massa
m/v	Massa/volume
ml	Mililitros
mm	Milímetro
nm	Nanômetro
pH	Potencial hidrogeniônico

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>18</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	18
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>19</b>
3.1 QUALIDADE DO LEITE.....	19
3.2 CÉLULAS SOMÁTICAS .....	22
3.3 COMPOSIÇÃO DO LEITE E CÉLULAS SOMÁTICAS .....	24
3.3.1 Proteínas .....	26
3.3.2 Gordura .....	28
3.3.3 Lactose .....	30
3.3.4 Minerais .....	31
3.3.5 Vitaminas .....	32
3.4 CCS E FABRICAÇÃO DO QUEIJO .....	33
3.5 QUEIJO .....	35
3.6 QUEIJO PARMESÃO .....	36
3.6.1 Características físico-químicas do queijo Parmesão.....	38
3.6.2 Produção do queijo Parmesão.....	39
3.6.3 Maturação do queijo Parmesão.....	42
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>44</b>
4.1 LOCALIZAÇÃO .....	44
4.2 DESENHO EXPERIMENTAL.....	44
4.3 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS .....	48
4.3.1 Análises físico-químicas do leite cru e pasteurizado/padronizado .....	48
4.3.2 Análises físico-químicas do soro .....	48
4.3.3 Tecnologia de fabricação do queijo Parmesão .....	49
4.3.4 Amostragem dos queijos durante a estocagem .....	51
4.3.5 Análises físico-químicas do queijo Parmesão .....	51
4.3.6 Rendimento.....	52
4.3.7 Análise do perfil de textura do queijo.....	53
4.3.8 Análises microbiológicas.....	53



4.3.9 Análise sensorial .....	54
4.3.10 Análise estatística .....	56
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>57</b>
5.1 EFEITO DA CCS SOBRE OS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DO LEITE CRU REFRIGERADO E DO LEITE PASTEURIZADO E PADRONIZADO .....	57
5.2 EFEITO DA CCS DO LEITE NA FABRICAÇÃO DO QUEIJO PARMESÃO .....	61
5.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO SORO .....	63
5.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DOS QUEIJOS PARMESÃO .....	65
5.4.1 Teor de umidade dos queijos ao longo da maturação .....	65
5.4.2 Atividade de água (Aw) dos queijos ao longo da maturação .....	67
5.4.3 Teor de cloretos dos queijos .....	69
5.4.4 Teor de gordura dos queijos .....	70
5.4.5 Teor de gordura no extrato seco (GES) dos queijos .....	71
5.4.6 Teor de proteína total (%) dos queijos ao longo da maturação .....	72
5.5 pH DOS QUEIJOS AO LONGO DA MATURAÇÃO .....	74
5.6 PROTEÓLISE .....	76
5.6.1 Índice de extensão da proteólise (IEP) .....	76
5.6.2 Índice de profundidade da proteólise (IPP) .....	77
5.7 RENDIMENTO, RENDIMENTO AJUSTADO E RECUPERAÇÃO DE COMPONENTES DO LEITE PARA O SORO E QUEIJO .....	79
5.7.1 Rendimento e rendimento ajustado .....	79
5.7.2 Recuperação de componentes do leite para o soro e queijo .....	82
5.8 ANÁLISE DO PERFIL DE TEXTURA .....	84
5.8.1 Dureza .....	84
5.8.2 Adesividade .....	86
5.8.3 Coesividade .....	87
5.8.4 Elasticidade .....	88
5.8.5 Mastigabilidade .....	89
5.9 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS .....	91
5.10 ANÁLISE SENSORIAL .....	92
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>94</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>95</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A contagem de células somáticas (CCS) do leite constitui um parâmetro mundialmente utilizado para avaliar a sanidade da glândula mamária e a qualidade do leite cru. É relevante para toda cadeia láctea e está relacionada à ocorrência de mastite subclínica, sinalizando perdas significativas na produção e na qualidade do leite e de seus derivados. O aumento da CCS também tem sido associado a alterações nas características físico-químicas do leite. Neste caso, há diminuição na concentração de caseína, gordura, cálcio, fósforo e lactose, aumento dos ácidos graxos livres de cadeia curta e incremento na atividade proteolítica e lipolítica do leite.

O efeito da mastite sobre as características de produção de queijo resulta do aumento da lactoperoxidase e plasmina, enzimas antimicrobianas que podem inibir a multiplicação dos microrganismos da cultura láctea. Além disso, a matriz proteica do gel no processo de produção fica extremamente frágil, o que possibilita a perda de caseína, gordura e extrato seco para o soro, reduzindo a firmeza da coalhada. As modificações no leite devido à ocorrência de mastite podem determinar o menor rendimento de fabricação e defeitos de textura em queijos, fatores capazes de inviabilizar a produção e a comercialização do produto.

Frente a este problema, empresas do setor têm buscado, cada vez mais, alternativas que visem à melhoria da qualidade do leite, não apenas para o atendimento à legislação brasileira, mas também com o foco no rendimento da produção de derivados lácteos, bem como as propriedades sensoriais e tempo de prateleira dos produtos, resultando em maior aceitabilidade por parte dos consumidores, lucratividade e permanência da empresa no mercado. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de três diferentes níveis de CCS no leite utilizado na fabricação do queijo Parmesão sobre o seu rendimento e a qualidade do produto.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito de três diferentes níveis de contagem de células somáticas no leite utilizado na fabricação do queijo Parmesão sobre o rendimento e a qualidade do produto.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a composição físico-química e a contagem de bactérias mesófilas aeróbias do leite com diferentes concentrações de células somáticas;
- Avaliar a composição físico-química dos queijos Parmesão produzidos com leite com três diferentes níveis de CCS ao longo da maturação;
- Determinar o rendimento dos queijos Parmesão produzidos com leite com três diferentes níveis de CCS;
- Avaliar a proteólise, a atividade de água e o pH dos queijos Parmesão ao longo da maturação;
- Avaliar o perfil de textura dos queijos durante a maturação;
- Avaliar as contagens microbiológicas dos queijos Parmesão fabricados no experimento;
- Avaliar a aceitabilidade dos queijos Parmesão, produzidos com três diferentes níveis de CCS no leite, pelo consumidor.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 QUALIDADE DO LEITE

O leite é considerado um alimento de alto valor biológico na alimentação humana, sendo definido como uma emulsão de coloração branca, ligeiramente amarelada, de odor suave e sabor adocicado (CRUZ, 2016). Segundo o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) entende-se por leite cru, sem outra especificação, o “líquido branco opalescente homogêneo de odor característico, produzido em propriedades rurais, refrigerado e destinado aos estabelecimentos de leite e derivados sob serviço de inspeção oficial, devendo o estabelecimento garantir que a temperatura de recepção do leite não seja superior a 7 °C, e a temperatura de conservação e expedição do leite, bem como sua conservação na usina de beneficiamento ou fábrica de laticínios antes da pasteurização, não exceda 4 °C” (BRASIL, 2018a).

Nas últimas décadas, os avanços no setor lácteo brasileiro foram enormes, sobretudo após a desregulamentação, ocorrida em 1991, que marca o fim do tabelamento de preços, decorrente de mudanças políticas e econômicas no país. Com isso, abre-se o mercado para a economia internacional, mais globalizado e competitivo, ocasionando o início do desenvolvimento do setor no país (CARVALHO, 2010).

Com a publicação dos padrões de identidade e qualidade dos produtos lácteos para países integrantes do MERCOSUL, tornou-se ainda mais importante a busca pelo diagnóstico dos principais problemas da cadeia láctea brasileira, no que se refere à qualidade do leite (BRASIL, 1996). Desse modo, foi analisado todo o processo, desde o setor primário até o consumidor final, sendo então proposto o Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNQL), com o objetivo de criar condições de produção de leite e seus derivados, com padrões de qualidade a nível internacional, a fim de competir com países desenvolvidos no setor.

A cadeia agroindustrial do leite no Brasil passou por uma importante transformação nos anos noventa, com a intensificação da coleta de leite a granel, onde os latões foram gradativamente substituídos por tanques isotérmicos, processo conhecido como granelização, que por sua vez, permitiu a otimização da logística de captação, contribuindo para melhoria da qualidade do leite (RODRIGUES, 2015). Ainda na mesma década, o MAPA iniciou uma extensa discussão nacional em busca de soluções para melhoria da qualidade de leite e seus

derivados, tendo como resultado deste esforço, a publicação da Instrução Normativa nº 51 (IN51), de 18 de setembro de 2002, que reuniu novas normas de produção, identidade e qualidade dos leites tipo A, B, C, pasteurizado e cru refrigerado, como também a regulamentação da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel (BRASIL, 2002b). Além disso, a IN51 estabeleceu limites máximos para a Contagem de Células Somáticas (CCS), Contagem Bacteriana Total (CBT), bem como a ausência de resíduos de antibiótico no leite (BRASIL, 2002b). No entanto, a entrada em vigor destas novas exigências somente ocorreria em 2005, 3 anos após a data de sua publicação.

Para monitorar a qualidade do leite, e dar suporte a IN 51, foi criada pelo MAPA, por meio da Instrução Normativa nº 37 (IN 37) de 18 de abril de 2002 (BRASIL, 2002a), a Rede Brasileira de Laboratórios de Controle de Qualidade do Leite (RBQL), que atualmente, é composta por 10 laboratórios credenciados e um oficial, distribuídos em sete estados do Brasil (BRASIL, 2017). Devido a grande diferença entre características de produção, nas diversas regiões do país, algumas modificações em relação aos prazos e padrões de qualidade do leite cru refrigerado foram necessárias desde a implantação da IN 51, em 2002 (NERO *et al.*, 2009).

Deste modo, a IN 51 foi modificada pela Instrução Normativa nº 62 (IN 62) em dezembro de 2011 (BRASIL, 2011), no qual foram estabelecidos novos requisitos para CCS e CBT, passando a vigorar a partir de 01 de janeiro de 2012, uma vez que grande parte dos produtores não se adaptou às exigências impostas pela legislação, no tempo previsto (BELLI *et al.*, 2017).

Tabela 1 - Requisitos microbiológicos, de contagem de contagem de células somáticas e contagem padrão em placas para o leite cru refrigerado.

<b>Índice medido (por propriedade rural ou por tanque comunitário)</b>	<b>A partir de 01.07.2008 Até 31.12.2011 Regiões: S / SE / CO A partir de 01.07.2010 até 31.12. 2012 Regiões: N / NE</b>	<b>A partir de 01.01.2012 até 30.06.2014 Regiões: S / SE / CO A partir de 01.01.2013 até 30.06.2015 Regiões: N / NE</b>	<b>A partir de 01.07.2014 até 30.06.2016 Regiões: S / SE / CO A partir de 01.07.2015 a 30.06.2017 Regiões: N / NE</b>	<b>A partir de 01.07.2016 Regiões: S / SE / CO A partir de 01.07.2017 Regiões: N / NE</b>
Contagem Padrão em Placas (CPP), expressa em UFC/mL (mínimo de 01 análise mensal, com média geométrica sobre período de 03 meses).	Máximo de 7,5 x10 <sup>5</sup>	Máximo de 6,0 x10 <sup>5</sup>	Máximo de 3,0 x 10 <sup>5</sup>	Máximo de 1,0 x10 <sup>5</sup>
Contagem de Células Somáticas (CCS), expressa em CS/mL (mínimo de 01 análise mensal, com média geométrica sobre período de 03 meses).	Máximo de 7,5 x10 <sup>5</sup>	Máximo de 6,0 x10 <sup>5</sup>	Máximo de 5,0 x10 <sup>5</sup>	Máximo de 4,0 x10 <sup>5</sup>

Fonte: BRASIL (2011).

Em 2016, o MAPA publicou a Instrução Normativa nº 07 (IN 07) de 03 de maio de 2016 (BRASIL, 2016), que altera a IN 62/2011, estendendo os prazos para atender aos limites de CCS e CBT (CASSOLI, 2016).

Em 2018, após consulta pública, novas regras para produção e padrão de qualidade do leite cru foram publicadas em 30 de novembro de 2018 pelo MAPA, as Instruções Normativas (INs) 76 (BRASIL, 2018a), 77 (BRASIL, 2018b) e 78 (BRASIL 2018c), apresentando alterações que revogou todas as normas anteriores. Modificações importantes foram estabelecidas como a temperatura do leite cru refrigerado no ato de sua recepção pelo estabelecimento, passando de 10 °C para 7 °C, e a CPP de até 900.000 UFC/mL antes do processamento. Em relação à qualidade do leite cru refrigerado, foi mantida a contagem bacteriana máxima de 300.000 UFC/mL e 500.000 CS/mL, extinguindo as diferentes contagens por região e os diferentes prazos para atender aos requisitos (SINDILAT, 2018).

No nível de comparação, o primeiro limite legal de CCS foi de 1.500.000 células/mL de leite, adotado em 1970 nos EUA. Esta legislação sofreu alteração em 1986, passando para 1.000.000 células/mL, sendo que em 1991 foi estabelecido o limite de 750.000 células/mL. Vale ressaltar que, nos EUA, cada estado pode definir limites diferenciados de CCS, o que levou o estado da Califórnia a adotar o limite máximo de 600.000 células/mL, para leite cru (SANTOS, 2014). Mesmo com o limite atual de 750.000 células/mL, em 2013, o rebanho norte americano alcançou a média de 178.000 células somáticas/mL (98% dos rebanhos estão sob controle de CCS), e apenas 1,5% apresentaram CCS acima do limite de 750.000 células/mL (SANTOS, 2014). Este fato mostra que o sucesso para redução da CCS dos rebanhos não é a legislação em si, mas sim o interesse do produtor em melhorar a saúde da glândula mamária, resultando em aumento de produção e lucratividade, bem como a demanda por leite de alta qualidade e incentivo via pagamento diferenciado por parte das indústrias (ROMA JÚNIOR *et al.*, 2009).

Roma Júnior *et al.* (2009) avaliando 2.970 amostras de leite oriundas de tanques refrigeradores no estado de São Paulo, observaram que a sazonalidade interfere na qualidade e composição do leite, onde no outono, os teores de gordura e proteína alcançaram maiores valores, sendo 3,65 e 3,21%, respectivamente. Para contagem de células somáticas e contagem bacteriana, o aumento ocorreu nas estações do verão e primavera, respectivamente. Observaram também que houve influência da época do ano sobre o preço do leite pago dentro de um programa de valorização pela qualidade, onde o valor da bonificação máxima foi de 7,9% para o outono. Neste programa a CCS foi um dos itens mais importantes relacionados com a penalização, concluindo que o seu nível e a época do ano devem ser considerados na elaboração de tabelas de programas de pagamento por qualidade de leite.

### 3.2 CÉLULAS SOMÁTICAS

A qualidade do leite *in natura* pode ser influenciada por diversos fatores, sendo estes ligados diretamente aos animais, como a sanidade, a alimentação e a genética, como também relacionadas à obtenção da matéria prima, como o manejo de ordenha dos animais, resfriamento e estocagem do leite. Dentre outros fatores, a infecção da glândula mamária constitui uma das causas que desempenham influência negativa sobre qualidade do leite, resultando no aumento de CCS, constituídas principalmente por células de defesa, bacterianas e descamação do epitélio glandular (HARTMANN *et al.*, 2009).

Células somáticas são derivadas do animal e encontram-se presentes naturalmente no leite. Dentre essas, estão as células de descamação, oriundas do processo natural de renovação do epitélio da glândula mamária e as células brancas de defesa, derivadas da medula óssea. No animal sadio, o tipo celular predominante encontrado são as células epiteliais, podendo representar cerca de 80% da CCS (GARGOURI, 2008). As células somáticas oriundas da circulação sanguínea incluem 75% leucócitos, como neutrófilos, macrófagos, linfócitos e eritrócitos principalmente, sendo que os macrófagos são predominantes no leite de vacas sadias e constituem entre 30 e 74% do total da população celular no leite de quartos sadios (SHARMA; SINGH; BHADWAL, 2011).

Na ocorrência de uma infecção intramamária por patógenos, a contagem de células aumenta, principalmente pela grande quantidade de células de defesa ou glóbulos brancos que migram do sangue para o úbere com a finalidade de combater os microrganismos patogênicos e, com isso, passam a representar a maioria das células somáticas no leite. Desta forma, com o aumento da CCS, acompanhado da alteração entre os tipos celulares, é diagnosticada a ocorrência de mastite, ou seja, o processo inflamatório da glândula mamária (GARGOURI, 2008).

A mastite clínica apresenta sinais evidentes, tais como: edema, aumento de temperatura, endurecimento, dor na glândula mamária, grumos, pus ou qualquer alteração das características do leite. Na forma subclínica não se observam alterações macroscópicas e sim alterações na composição do leite, portanto, não apresenta sinais visíveis de inflamação do úbere (RIBEIRO, 2003).

A mastite pode ser subdividida em duas grandes categorias (contagiosa e ambiental), com base na origem do inóculo infeccioso. No caso de mastite contagiosa, as principais bactérias envolvidas são *Streptococcus agalactiae* (*S. agalactiae*), *Corynebacterium bovis* (*C. bovis*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e *Mycoplasma* spp. O modo mais importante de transmissão desses microrganismos envolve a transferência de leite contaminado de uma vaca para a outra. Os patógenos ambientais causadores de mastite clínica incluem as espécies de *Streptococcus uberis* (*S. uberis*) e *Streptococcus dysgalactiae* (*S. dysgalactiae*), que são mais prevalentes, sendo o *Streptococcus equinus* (*S. equinus*) o menos prevalente. No grupo dos coliformes ambientais encontram-se as bactérias Gram-negativas: *Escherichia coli* (*E. coli*), *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., e as Gram-positivas: *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) e *Enterococcus faecium* (*E. faecium*). Existem também patógenos incomuns que podem acarretar em casos graves de mastite, mas que acomete poucas vacas e



de forma esporádica, como os de origem fúngica (*Trichosporon* spp.) e viral (PINTO, 2001; RADOSTITS, 2000).

Entre os microrganismos patogênicos isolados com maior frequência em vacas com mastite, destacam-se: *S. aureus*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis* e *E. coli* (WHIST *et al.*, 2009).

Quanto ao diagnóstico da mastite subclínica, alguns testes são empregados, para tal finalidade, como o California Mastitis Test (CMT) e a CCS individual nos quartos do animal. Contadores eletrônicos mensuram anticorpos, enzimas associadas a células e o aumento da condutividade elétrica do leite. O CMT estima o conteúdo de células somáticas no leite e é interpretado subjetivamente, estabelecendo-se escores que, na maioria dos casos, variam de 1 a 5. O escore 1 indica uma reação negativa e os de 2 a 5 indicam graus crescentes de resposta inflamatória do úbere, sendo normalmente considerados como indicativos de mastite subclínica (RADOSTITS, 2000).

Embora as perdas sejam aparentemente maiores no caso de mastite clínica, a prevenção e o controle da mastite subclínica devem merecer especial atenção dos produtores de leite, pois, por sua ocorrência não ser tão evidente como a da mastite clínica, pode resultar em prevalências mais altas, acarretando grandes ônus para o sistema de produção (MAGALHÃES *et al.*, 2006).

Rebanhos com um controle de mastite eficaz têm constantemente contagens abaixo de 100.000 células/mL. Ao contrário, contagens de células somáticas maiores que 500.000 células/mL indicam que um terço das glândulas mamárias estão infectadas e a perda de leite devido a mastite subclínica é de pelo menos 10% (TOZZETTI *et al.*, 2008).

A mastite causa alterações na composição do leite, determinando mudanças nas concentrações tanto dos principais componentes, como a proteína, gordura e lactose, quanto de outros componentes como os minerais e as enzimas (SHARMA; SINGH; BHADWAL, 2011).

### 3.3 COMPOSIÇÃO DO LEITE E CÉLULAS SOMÁTICAS

O leite constitui o primeiro alimento dos neonatos das variadas espécies mamíferas, nos primeiros dias ou semanas de vida e sua síntese ocorre nas células epiteliais que revestem o interior do alvéolo, que formam lóbulos, que, por sua vez, formam lobos, que compõem o tecido secretor de leite no interior do úbere (BLOWEY; EDMONDSON, 2010).

Com a domesticação da espécie bovina e o melhoramento genético ao longo dos anos, objetivando a produção e a persistência da lactação de vacas leiteiras, possibilitou alcançar maior produção de leite para o suprimento da alimentação humana e fabricação de derivados lácteos. Atualmente, uma proporção significativa de alimentos consumidos em todo o mundo possui em suas composições o leite de vaca (KELLY, 2010).

Estima-se que o leite bovino possui um número da ordem de 100.000 componentes químicos em sua composição que, por sua vez, são agrupados de acordo com propriedades químicas, bioquímicas e físico-químicas, constituindo-se em um produto de alto grau de complexidade (CRUZ, 2016).

A composição do leite pode variar de acordo com fatores ambientais, ocorrência de doenças, período de lactação, alimentação, estação do ano, idade e espécie animais, ou até mesmo entre diferentes raças dentro de uma mesma espécie.

Tabela 2 - Composição média do leite de vacas da raça holandesa.

<b>Componente</b>	<b>Valor médio (%)</b>
Água	87,5
Extrato Seco Total	12,5
Lactose	4,8
Gordura	3,6
Proteína	3,3
Caseína	2,9
Imunoglobulinas	1,0
Cinzas	0,7
Cálcio	0,12
Fósforo	0,09
Vitamina E (µg/g gordura)	20
Vitamina D (µg/g gordura)	15
Vitamina A (µg/g gordura)	8

Fonte: Adaptado de Blowey; Edmondson, (2010).

A água é o constituinte que corresponde à maior fração, aproximadamente 87,5% do leite de vaca, onde os demais constituintes encontram-se dissolvidos, emulsionados ou em suspensão coloidal (KOBBLITZ, 2011).

O extrato seco total refere-se aos componentes não aquosos do leite, sólidos a temperatura ambiente, contendo gordura e outros grupos que constituem os sólidos não gordurosos, como as proteínas, a lactose e os sais minerais. Com a subtração do teor de gordura do extrato seco total, obtêm-se o extrato seco não gorduroso (CRUZ, 2016).

### 3.3.1 Proteínas

Proteínas são um grupo bioquímico, no qual estão presentes os elementos químicos carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio, entre outros elementos como enxofre, fósforo e ferro, que também podem constituir o grupo. A cadeia proteica é formada pela ligação peptídica entre aminoácidos, que por sua vez são compostos contendo um grupo carboxila, um grupo amina, hidrogênio e uma cadeia carbônica ligados a um carbono (CRUZ, 2016).

As proteínas do leite são sintetizadas nas células epiteliais da glândula mamária, a partir de aminoácidos transportados através da corrente sanguínea, sendo divididas em dois grupos: as caseínas e as soroproteínas (Tabela 3). Das proteínas produzidas pelo tecido mamário, um valor superior a 90% consiste principalmente em quatro diferentes variáveis genéticas de caseína ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  e  $\kappa$ ) e dois tipos de soroproteína ( $\beta$ -lactoglobulina e  $\alpha$ -lactalbumina) (HECK *et al.*, 2009a). A caseína é uma fosfoproteína relativamente hidrofóbica encontrada na forma de micelas com tamanho entre 10-300 nm. As micelas são formadas principalmente por caseínas, além de cálcio, fósforo, ácido cítrico e magnésio, e ao contrário das proteínas do soro, as caseínas sofrem precipitação a um pH igual a 4,6 (LAPIERRE *et al.*, 2012). Dentre as principais soroproteínas, quatro se destacam: a  $\beta$ -lactoglobulina e a  $\alpha$ -lactalbumina, (sintetizadas na glândula mamária), e a albumina e imunoglobulina, classificadas como proteínas séricas, de origem sanguínea. Além destas, também são encontradas no soro, as proteínas lactoferrina e transferrina, e algumas enzimas como plasmina, lipase lipoprotéica e fosfatase alcalina (HECK *et al.*, 2009a).

Tabela 3 - Frações das proteínas do leite em relação ao total de proteína verdadeira do leite (%).

Fração da proteína	% da proteína verdadeira no leite
<b>Caseína</b>	83,85
Caseína $\alpha$ 1	33,93
Caseína $\alpha$ 2	8,82
Caseína $\beta$	31,45
Caseína k	9,65
<b>Soro</b>	16,25
Lactalbumina $\alpha$	3,51
Lactoglobulina $\beta$	9,1
Albumina	1,09
IgG1	1,55
IgG2	0,22
IgA	0,27
IgM	0,24
Lactoferrina	0,27

Fonte: Adaptado de Lapierre *et al.*(2012).

No período inicial da lactação, são mobilizados aminoácidos para dar suporte à síntese do leite, sendo a quebra muscular a maior fonte. No entanto, a degradação de proteínas da pele, da involução uterina e do miométrio também podem contribuir com a mobilização (KOKKONEN, 2014). A capacidade genética do animal contribui significativamente para o teor e composição da proteína no leite, além de fatores fisiológicos, como estágio de lactação (FORSBACK *et al.*, 2010a). Já o conteúdo de energia da dieta tem importante efeito sobre o teor de caseína do leite e, por outro lado, a proteína de origem dietética exerce pouca influência sobre o teor de proteína do leite (BLOWEY; EDMONDSON, 2010).

A CCS exerce influência significativa sobre o teor de caseína, ou seja, à medida que aumenta a CCS, diminui o teor de caseína no leite. Entretanto, aumentam os níveis de albumina e globulina oriundos do sangue (LEITNER *et al.*, 2006; FORSBACK *et al.*, 2009; FORSBACK *et al.*, 2010b, c). A elevação da CCS correlaciona-se negativamente com a caseína devido à destruição do parênquima secretor e menor secreção de caseína pelas células da glândula mamária (LITWINCZUK *et al.*, 2011). Além disso, conforme Fernandes *et al.*

(2008), a elevada CCS no leite pode aumentar a proteólise e conseqüentemente a degradação da caseína.

Na ocorrência de mastite, os níveis de proteínas séricas aumentam e de caseína diminuem. No entanto, essas concentrações dependem do grau de infecção e do estágio da doença no animal (ZHANG *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2010; COELHO *et al.*, 2012; GUARIGLIA *et al.*, 2015).

A infecção na glândula mamária ocasiona alteração na permeabilidade da membrana que separa o sangue do leite, ocorrendo o influxo de albumina e imunoglobulina, elevando os seus teores no leite em 252% e 316%, respectivamente, levando a um aumento na concentração de proteína total do leite (PEREIRA *et al.*, 1999). Ng-kwai-hang *et al.* (1993), reportaram um aumento de 0,099% na concentração de proteína total para cada aumento de unidade logarítmica de contagem de células somáticas.

### 3.3.2 Gordura

A composição dos ácidos graxos do leite é formada pela mistura de ácidos graxos sintetizados na glândula mamária e ácidos graxos absorvidos da corrente sanguínea, oriundos da dieta ou mobilizados das reservas corpóreas. Os ácidos graxos do leite de cadeias de 4 a 14 carbonos derivam da síntese de novo na glândula mamária, enquanto os de cadeias maiores ou iguais a 18 carbonos se originam da extração do plasma sanguíneo, derivados da dieta ou mobilização corporal. Os ácidos graxos de maior proporção, C16, derivam de ambas as fontes (PALMQUIST, 2010; BOERMAN; LOCK, 2014).

A gordura do leite consiste de 95 a 98% de triacilgliceróis e apenas 1 a 2% de fosfolípidos, variando de acordo com a espécie animal, dieta e estágio de lactação, sendo o componente do leite que apresenta maior oscilação, geralmente com percentual que pode variar de 3 a 5% (KELLY, 2010). A composição dos ácidos graxos da gordura do leite é apresentada na Tabela 4.

Tabela 4 - Composição dos ácidos graxos da gordura do leite de vacas holandesas.

<b>Ácido Graxo</b>	<b>g/100g de gordura total</b>
Butírico (C4)	3,32
Capróico (C6)	2,34
Caprílico (C8)	1,19
Cáprico (C10)	2,81
Láurico (C12)	3,39
Mirístico (C14)	11,41
C 14:1	2,63
Palmítico (C16)	29,53
Palmitoléico (C16:1)	3,38
Esteárico (C18:0)	9,84
Oléico (C18:1)	27,39
Linoléico (C18:2)	2,78

Fonte: Adaptado de PALMQUIST *et al.*(1993).

O teor de gordura no leite aumenta no terço final da ordenha. Com isso, se faz necessário coletar todo o leite produzido pelos quartos mamários, para realização de análises composicionais e CCS. Ou seja, a concentração de gordura no leite é dependente do esgotamento do quarto mamário devido o maior percentual estar presente no leite residual, sendo assim, o teor de gordura aumenta no decorrer da ordenha (TANCIN *et al.*, 2007).

A mastite pode elevar os níveis de ácidos graxos livres no decorrer da secreção do leite, como também os níveis de ácidos graxos não esterificados, e por isso a produção de gordura pode variar de acordo com a intensidade da infecção na glândula mamária. No entanto, o declínio na quantidade de gordura do leite é primeiramente resultado da redução da síntese e da capacidade de secreção da glândula mamária (FORSEBACK, 2009a).

No leite com alta CCS, além da enzima plasmina, ocorre também o aumento do nível da enzima lipase. Isso conduz a degradação dos ácidos graxos, no qual se caracteriza pelo sabor rançoso do leite e seus derivados (SANTOS; FONSECA, 2007). Em casos de quartos mamários diagnosticados com mastite subclínica, tem sido detectada a enzima lipase lipoprotéica. Contudo, esta não é a única responsável por toda lipólise do leite, uma vez que algumas bactérias psicrotóxicas podem produzir lipases (KELLY, 2010).

### 3.3.3 Lactose

A síntese de lactose ocorre no aparelho de Golgi, no interior da célula epitelial dos alvéolos da glândula mamária, a partir da combinação de uma molécula de glicose e outra de galactose. A glicose é sintetizada no fígado, a partir do propionato oriundo da fermentação ruminal, e, após ser transferida para a glândula mamária, parte é convertida em outro açúcar simples, a galactose (BLOWEY; EDMONDOSON, 2010).

A lactose é o carboidrato mais comum e o principal determinante da função osmótica do leite, ou seja, fator que regula a concentração dos componentes em solução, determinando o quanto de água é carregada ao leite (KELLY, 2010). Além disso, é o componente mais estável do leite em vacas sadias, apresentando-se constante durante as estações do ano (HECK *et al.*, 2009b). Forsback *et al.* (2009), ao avaliarem três grupos de vacas com diferentes concentrações de CCS nos quartos mamários, observaram que não há efeito do estágio lactacional sobre o teor de lactose. Já Forsback *et al.* (2010a), observaram que a concentração de lactose no leite não sofre variação devido a fatores associados a dieta animal.

O decréscimo no teor de lactose é frequentemente correlacionado com distúrbios no processo de secreção do leite, ocasionados pela infecção intramamária (BERGLUND *et al.*, 2007; FORSBACK *et al.*, 2009; FORSBACK *et al.*, 2010a, b, c; SHARMA; SINGH; BHADWAL, 2011). A mastite causa danos ao tecido secretor, levando ao aumento da permeabilidade devido ao enfraquecimento das junções celulares e falha na barreira sangue-leite, o que possibilita perdas de lactose do leite para o sangue. Com isso, há influxo de sódio e cloro para o lúmen alveolar, e diminuição na concentração de potássio. Sendo esta uma das causas do gosto amargo e ligeiramente salgado do leite com alta concentração de células somáticas. Essas características podem ser utilizadas para auxiliar na avaliação de mastite, por condutividade elétrica, já que o sódio e o cloro são condutores elétricos (BLOWEY; EDMONDOSON, 2010).

A lesão tecidual ocasionada pela mastite interfere de forma significativa a produção de leite, o que pode ser comprovado pela redução da capacidade de síntese e presença de elevadas concentrações de lactose no sangue e urina de vacas com elevado teor de células somáticas no leite (BERGLUND *et al.*, 2007).

### 3.3.4 Minerais

Além dos principais componentes, como a água, lactose, gordura e proteína, também são encontrados no leite substâncias de baixo peso molecular, denominadas por sais minerais. Muitos desses sais presentes no leite auxiliam na manutenção da estrutura das micelas de caseína, além disso, alguns deles encontram-se ligados as proteínas do soro, sejam na forma ionizada ou não.

Dentre os principais sais aniônicos destacam-se, o potássio, o cálcio, o sódio e o magnésio, enquanto os principais cátions incluem o cloreto, o sulfato, o carbonato, o fosfato e o citrato. Apesar do baixo teor dos minerais no leite, mudanças na sua concentração causadas pela mastite podem influenciar significativamente as características funcionais do leite para o processamento (FORSBACK, 2010a).

O cálcio e o fósforo se associam às micelas de caseína, formando o complexo fosfocaseinato de cálcio, desempenhando papel importante na estabilidade proteica. A síntese de caseína é prejudicada na presença de mastite, uma vez que os minerais incorporados a ela apresentam baixa concentração. Outras variações também ocorrem com a concentração de potássio, que diminui por passar do leite para o sangue, e do sódio e do cloro, que aumentam por passar do sangue para o leite, na presença da infecção intramamária (KELLY, 2010). Além da mastite, a concentração dos sais pode sofrer alteração ao longo do período da lactação (Tabela 5).



Tabela 5 - Concentração dos sais (nM) no leite desnatado de vacas Ayrshire no início, meio e final de lactação e de vacas com mastite subclínica.

Componente	Leite de rebanho	Início da lactação	Meio da lactação	Final da lactação	Mastite
Cálcio total	30,1	33,2	29,4	32,1	29,4
Cálcio solúvel	9,5	12,8	9,4	8,0	9,1
Magnésio total	5,1	5,7	5,0	5,4	4,9
Magnésio solúvel	3,3	3,9	3,2	3,3	3,2
Fosfato inorgânico total	20,9	19,4	20,9	18,4	19,0
Fosfato inorgânico solúvel	11,2	10,5	11,7	7,0	9,2
Citrato total	9,8	9,8	9,1	8,5	8,8
Citrato solúvel	9,2	9,1	8,9	7,8	8,3
Sódio total	25,5	29,7	24,8	48,8	34,5
Potássio total	36,8	41,8	40,3	26,9	36,1
Cloreto total	30,3	36,7	29,7	46,5	40,5

Fonte: HOLT (1997).

### 3.3.5 Vitaminas

Todas as vitaminas estão presentes no leite, algumas em pequenas concentrações, como a vitamina C. As vitaminas A e B são encontradas em altas concentrações, tornando o leite uma das principais fontes destas duas classes de vitaminas (FORSBACK, 2010a).

As vitaminas constituem em média, 0,1% do leite bovino e são divididas em duas categorias com base na solubilidade: as vitaminas hidrossolúveis e as vitaminas lipossolúveis (Tabela 6). Convencionalmente, 13 compostos são reconhecidos como vitaminas (PEREIRA, 2014).

Tabela 6 - Composição de vitaminas presentes no leite cru.

<b>Vitamina</b>	<b>Concentração (µg) em 100 ml</b>
<b>Lipossolúveis</b>	
A	27 – 60
D	0,3
E	100 – 120
K	1-5
<b>Hidrossolúveis</b>	
C	1700 – 2000
Ácido pantotênico	350
Riboflavina	163 – 175
Niacina	76 – 90
Tiamina	40 – 45
B6	35 – 50
Biotina	2,6 - 3,5
Folato	5 - 5,5
B12	0,42 - 0,45

Fonte: Adaptado de PEREIRA (2014).

### 3.4 CCS E FABRICAÇÃO DO QUEIJO

A qualidade e composição do queijo estão estreitamente ligadas às características físico-químicas e microbiológicas do leite, bem como pelo processo de fabricação no qual incluem a escolha do coalho e da cultura láctica, etapas de tratamento da massa, agitação, ponto de corte, temperatura de aquecimento, etc. Este conjunto de fatores é determinante para o rendimento de fabricação e para as características do produto final.

Sendo o queijo um produto de base proteica, a transformação da matéria-prima em produto processado depende essencialmente da caseína, cuja síntese é reduzida e a hidrólise é favorecida na presença de mastite. Em outras palavras, as células somáticas, por meio de suas enzimas proteolíticas, degradam a caseína reduzindo sua concentração no leite, embora o teor de proteína total possa permanecer inalterada ou até mesmo aumentada devido à elevação proporcional de proteínas do soro, que são transferidas do sangue para o leite durante a mastite (VIANNA *et al.*, 2008; MAZAL *et al.*, 2007).

Cunha *et al.* (2008) observaram um aumento de 6,2% no percentual de proteína quando comparados aos leites, com CCS de 100.000 e 3.000.000 células/mL. No entanto, este aumento no teor de proteína não é favorável à qualidade do leite, pois se deve à alteração da permeabilidade dos capilares sanguíneos que permitem o influxo de proteínas séricas do sangue para o lúmen alveolar, através da rota paracelular, causando assim o aumento de proteína bruta no leite e a diminuição do teor de caseína (LE MARÉCHAL *et al.*, 2011).

O leite cru com elevada CCS utilizado na fabricação de queijos pode prejudicar o rendimento do produto final, devido às alterações decorrentes da proteólise, que promove a desestabilização das micelas de caseína, apresentando, aproximadamente, três vezes mais lipólise da gordura e duas vezes mais hidrólise da caseína quando comparado com o leite contendo baixa CCS (FERNANDES, 2008).

A perda de rendimento industrial se deve, principalmente, a menor quantidade de caseína recuperada durante o processo de fabricação, onde a relação entre caseínas solúveis e caseínas micelares aumenta no leite com alta CCS, devido, sobretudo, à passagem em grandes proporções da  $\beta$ -caseína da fração micelar para a fração solúvel. Isso ocorre também com as frações  $\kappa$  e  $\alpha$ -caseína, porém, em menores proporções (ROSA *et al.*, 2010). A caseína solúvel é mais susceptível à proteólise, portanto, uma menor quantidade de caseína será incorporada a coalhada durante a sua formação, ocasionando menor do produto (MAZAL *et al.*, 2007).

De modo geral, a CCS é inversamente correlacionada com a produção de leite e seus níveis de caseína e lactose são correlacionados positivamente com o pH do leite, os níveis de proteínas do soro, a atividade de muitas enzimas, bem como associadas a mudanças no equilíbrio mineral do leite. No entanto, é comum associar os níveis de CCS do leite com o rendimento do queijo, sendo que o alto teor de células somáticas no leite interfere negativamente na coagulação, gerando um queijo com alta umidade devido à redução da sinérese. As alterações de qualidade e rendimento do queijo são graduais e progressivas com o aumento das células somáticas, ou seja, quanto maiores os teores células somáticas no leite, menores serão a qualidade e rendimento do queijo (McSWEENEY, 2007).

A alta CCS está associada a alterações severas nas concentrações dos constituintes do leite, no grau de hidrólise de seus componentes, bem como nas propriedades de fabricação de queijos (KALIT *et al.*, 2002; FRANCESCHI *et al.*, 2003; JAEGGI *et al.*, 2003; MAZAL *et al.*, 2007). Este aumento na CCS está associado à redução nos teores de lactose, gordura e caseína do leite. Por outro lado, ocorre aumento nos níveis de cloreto, pH, proteínas do soro e nitrogênio não proteico do leite, aumento no teor de umidade do queijo, aumento nas taxas de

proteólise durante a maturação, aumento no tempo de coagulação e redução na resistência da coalhada (BARRY; TAMIME, 2010).

Summer *et al.* (2015), ao avaliarem o rendimento do queijo Parmigiano Reggiano produzido com leite em diferentes níveis de CCS, observaram uma perda significativa de rendimento quando o valor de CCS no leite estava acima de 300.000 células/mL, chegando a diferença de 15% a menos no rendimento, quando comparado ao queijo produzido de leite com CCS abaixo de 300.000 células/mL, ao final da maturação de 24 meses.

Vianna *et al.* (2008) observaram que queijos Prato obtidos a partir de leite contendo CCS superior a 700.000 células/mL, apresentaram maior umidade quando comparados aos queijos produzidos de leite com CCS inferior a 200.000 células/mL. E quanto à análise sensorial, que foi avaliada pelos atributos de firmeza, sabor e gosto residual amargo, os queijos de baixa CCS apresentaram maior aceitação pelos provadores. Segundo Mazal *et al.* (2007), o queijo Prato produzido a partir de leite com CCS maior que 500.000 células/mL apresentou menor teor de caseína e maior taxa de proteólise.

De acordo com Andreatta *et al.* (2009), o leite destinado à fabricação de queijo Mussarela deve apresentar CCS até 500.000 células/mL, de maneira a evitar alterações na qualidade dos queijos ao longo do período de armazenamento. Coelho (2007), ao avaliar o rendimento do queijo Mussarela processado com leite de vaca contendo CCS superior a 600.000 células/mL, observou um decréscimo de 13,4% em relação ao queijo elaborado com leite contendo CCS inferior a 600.000 células/mL.

### 3.5 QUEIJO

O queijo é um alimento consumido há milhares de anos em todo o mundo. Historiadores acreditam que o queijo tenha surgido por acaso há mais de seis mil anos, onde um mercante ao levar uma bolsa feita de estômago de carneiro com leite de cabra no seu interior durante uma longa viagem percebeu ao parar para se alimentar que no lugar do leite havia um líquido fino e esbranquiçado, sendo o soro e uma massa pastosa. O estômago do ruminante contém enzimas que coagulam o leite e, sob temperatura elevada e agitação, produziu o queijo (MONTEIRO *et al.*, 2011).

Entende-se por queijo o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro de leite ou leite reconstituído, ou de soros lácteos, coagulados pela ação de produtos químicos, com ou sem adição de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou

condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes, desde que aptos à alimentação humana (BRASIL, 1996).

A classificação dos queijos baseia-se em características decorrentes do tipo de leite utilizado para produção, tipo de coagulação, tratamento térmico da massa, teor de gordura, conteúdo de umidade, maturação, entre outros fatores (DUTRA, 2017a).

### 3.6 QUEIJO PARMESÃO

O queijo Parmesão tem origem italiana, no vale do Pó, região localizada ao norte do país às margens dos rios Reno e Pó, desde 1.200 d.C. (DUTRA, 2017a). Na Itália, são conhecidos pela denominação geral de queijos Grana, sendo divididos em dois grandes tipos de queijos duros, ambos elaborados com leite bovino e de renome mundial: o Grana Padano e o Parmigiano Reggiano, queijos bastante similares, mas com algumas características próprias que os diferenciam (Tabela 7).

Tabela 7 - Comparação entre o Parmigiano Reggiano e o Grana Padano.

<b>Parâmetro</b>	<b>Parmigiano Reggiano</b>	<b>Grana Padano</b>
Região típica	Reggio Emilia, Modena, Bologna, Mantua	Mais ao norte, Milão, Bergamo, Cremona, Brescia, Trentino, Piemonte
Fábricas	Média de 6 mil litros / dia	Média 17 mil litros /dia
Vacas alimentadas com silagem	Não é permitido	Permitido
<i>Affioramento</i>	Uma vez/dia, 10-15 horas, tanques de 200 litros, 6-10 cm de altura	Duas vezes ao dia, 5 a 7 horas, tanques de 1.000 litros, 15 a 25 cm de altura
Lisozima	Proibido seu uso no <i>affioramento</i>	Uso permitido no <i>affioramento</i>
Fabricação	Uma vez/dia, leite da véspera e do <i>affioramento</i> , mais leite integral da manhã	Duas vezes/ dia, com leite da manhã e da tarde, depois dos respectivos <i>affioramento</i>
Remoção da gordura do leite	Entre 55 e 70%	Entre 40 e 45 %
Leite resultante do <i>affioramento</i>	Cerca de 1,7% de gordura	Cerca de 2,3% de gordura
Leite no tanque de fabricação	De 2,5 a 2,6% de gordura	De 2,3 a 2,4% de gordura
Cozimento da massa	55 a 57°C	53 a 55°C
Maturação	18 a 24 meses	12 a 18 meses

Fonte: Mucchetti; Neviani (2006).

A denominação Parmigiano certamente deu origem aos termos: Parmesão, Parmesan, Parmesano, entre outros, que se tornaram de uso corrente no mundo inteiro, já que as denominações Parmigiano Reggiano, bem como Grana Padano, gozam de proteção internacional, e só podem ser usadas dentro dos estritos limites geográficos determinados pela lei italiana, em consonância com outras exigências legais referentes ao processo de elaboração (FURTADO, 2011a).

Chamado também de Parmeggiano, Parmesan, dentre outras denominações, o Parmesão vem sendo produzido por vários séculos, na região da Lombardia, no norte da Itália.

Devido à grande onda migratória de italianos para diferentes partes do mundo, o processo de elaboração se espalhou por meio das colônias que se estabeleceram por diversos países. Na América Latina, a Argentina é líder na fabricação de Parmesão, onde o queijo é conhecido por Reggianito, seguido da Venezuela, onde a produção é também expressiva (FURTADO, 2017).

O queijo Parmesão produzido no Brasil consiste de uma adaptação dos queijos tipo “Grana” italianos, Parmigiano Reggiano e Grana Padano, e que embora seja fabricado em grande escala no país, com raras exceções, distanciou-se do modelo original italiano, não só quanto às características de sabor, aroma e textura, mas também no tamanho, sendo normalmente fabricado em formas de 4 a 7 kg, em contraste com os 35 kg em média, observados no original italiano (FURTADO, 2011b).

Outras diferenças se encontram no método de fabricação, onde para a produção dos queijos italianos é utilizado leite cru, e para o Parmesão, leite pasteurizado. Além disso, no Brasil, faz-se a padronização da gordura do leite, enquanto para a fabricação de Grana Padano e Parmigiano Reggiano se faz o desnate natural, conhecido como processo de *affioramento*, no qual o leite passa por um prolongado repouso, e a gordura em suspensão, devido à sua menor densidade em relação aos demais componentes, tende a separar-se, formando uma camada espessa de creme na parte superior do leite, que é retirada (FURTADO, 2011a; NEVIANI *et al.*, 2013).

O Parmigiano Reggiano pode ser comparado ao Grana Padano, uma vez que estes queijos possuem semelhanças. Ambos são feitos com leite cru que passou pelo conhecido processo de *affioramento*. No entanto, o Parmigiano Reggiano é considerado um queijo mais nobre comparado ao queijo Grana Padano, e conseqüentemente de custo maior no mercado. Muito disso se deve ao fato de ser maturado por um tempo maior e apresentar, portanto, sabor e aroma mais intensos, ainda que a textura seja similar à do Grana Padano (FURTADO, 2011a).

### 3.6.1 Características físico-químicas do queijo Parmesão

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Queijos (Portaria 146/7 de março de 1996), o Parmesão é classificado como um queijo semigordo, com 25 - 44,9% (m/m) de gordura no extrato seco (GES), de massa cozida, com baixa umidade ou queijo duro, podendo ter umidade máxima de 35,9% (m/m), quando completamente maturado (BRASIL, 1996).

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Queijo Parmesão, Queijo Parmesano, Queijo Reggiano, Queijo Reggianito e Queijo Sbrinz (Portaria 353/4 de setembro de 1997) define que estes tipos de queijos são obtidos pela coagulação do leite por meio do coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada pela ação de bactérias lácticas específicas. O regulamento estabelece também que estes devem possuir consistência dura, textura compacta, consistente, superfície de fratura granulosa, coloração branca ou ligeiramente amarelada, sabor salgado, levemente picante a picante, odor suave e característico, crosta firme, lisa e sem olhaduras. Sua maturação deve ser de, no mínimo, 6 meses em temperatura não superior a 18°C, com formas podendo variar de 4 a 8 kg para queijo Parmesão (BRASIL, 1997).

Uma das características mais conhecida dos queijos Grana italianos é sua textura típica, conhecida por “grana”, que se apresenta quando a forma é quebrada ao meio. Essa textura é resultado do longo período de maturação, que pode chegar a dois anos e também de outros fatores como a consistência do coágulo e o tamanho do grão no corte, além dos teores de umidade e gordura da massa (FURTADO, 2011a). A Tabela 8 apresenta a composição média dos queijos Parmigiano Reggiano e Grana Padano com cerca de um ano de maturação.

Tabela 8 - Composição média dos queijos Parmigiano Reggiano e Grana Padano com cerca de um ano de maturação.

<b>Componente</b>	<b>Parmigiano Reggiano (g/100 g de queijo)</b>	<b>Grana Padano (g/100 g de queijo)</b>
Umidade	30,8	32,0
Proteínas (N x 6,38)	33,0	33,0
Gordura	28,4	27,0
Cinzas	4,6	4,9
Cálcio	1,15	1,15
Fosfatos	0,7	0,7
Magnésio	0,04	0,04
NaCl	1,4	1,6
Índice de maturação (% NS/NT)	32	34
pH	5,40	5,40
Ácido láctico (%)	1,56	--

Fonte: Del Prato (2001).

### 3.6.2 Produção do queijo Parmesão

O Parmigiano Reggiano apresenta características particulares porque é produzido por um consórcio de pequenas e médias fábricas de queijo na Itália, principalmente cooperativas e, produzido exclusivamente a partir de leite bovino cru e não aquecido (ZANNONI, 2010), seguindo as tecnologias tradicionais que incluem desde a alimentação das vacas até um longo período de maturação, que varia de 12 a 36 meses (BELLESIA *et al.*, 2003). Além disso, o uso de qualquer aditivo é proibido (MALACARNE *et al.*, 2009).

Em 2012, na Itália, foram produzidos 3.307.221 e 4.721.234 formas de queijos Parmigiano Reggiano e Grana Padano, respectivamente, com peso variando entre 38 e 39 kg/forma (CLAL, 2013). O sistema associado à produção de Parmigiano Reggiano, produto agrícola típico mais importante da Itália, é um excelente exemplo de desenvolvimento rural, envolvendo mão de obra artesanal e a produção de alimentos de alta qualidade, sendo comercializado em todo o mundo (DE ROEST; MENGHI, 2000). Em 2017, a produção do queijo italiano Parmigiano Reggiano atingiu um novo recorde, com um crescimento de 5%, totalizando 3,65 milhões de unidades fabricadas na Itália (ANSA, 2017).



Em 2011, no Brasil, a produção total de queijo atingiu 867.100 toneladas, aumentando a produção em 9,4% com relação a 2010 (SCOT CONSULTORIA, 2013). Desta produção total, o queijo Parmesão representa mais de 32 mil toneladas (BARROS *et al.*, 2011), representando 5,5% do consumo per capita de 4 kg/ano, o que ainda é baixo se comparado com o da vizinha Argentina cujo consumo per capita é de 11,2 kg/ano (CASTAÑEDA *et al.*, 2010). Este queijo duro é o mais popular entre os chamados queijos "especiais" que estão disponíveis no mercado brasileiro, e está disponível em formas que variam de 5 a 14 kg, sendo vendido em pedaços, em forma de cunha ou ralado (BARROS *et al.*, 2011).

Durante o processamento, a temperatura da coagulação é de 35 °C e atinge os 54 °C durante o cozimento. As bactérias ácido-láticas termofílicas *Lactobacillus helveticus* e *Streptococcus thermophilus*, desenvolvem-se e permanecem viáveis após este estágio, dentro da coalhada, inibindo o desenvolvimento de bactérias patogênicas e outros microrganismos indesejáveis (MONFREDINI *et al.*, 2012).

No Brasil, devido à falta de controle de qualidade adequada pelas agências governamentais, o processamento do queijo Parmesão não segue um protocolo padronizado, o que resulta em muitos produtos diferentes disponíveis no mercado nacional, incluindo aqueles com baixa qualidade, mas que, no entanto, são vendidos em grandes quantidades devido aos preços baixos. Considerando que uma grande porcentagem deste tipo de queijo duro está disponível em forma ralada no mercado brasileiro, o problema é ainda mais complexo, onde há relatos de misturas de diferentes tipos de queijos mais baratos no produto final, até mesmo a presença de amido em algumas amostras comerciais (RIBEIRO *et al.*, 2012). No caso do queijo Parmesão ralado, a adição de até 25% (m/m) de outros tipos de queijos secos é permitida no Brasil (BRASIL, 1997; TROMBETE *et al.*, 2012).

O queijo Parmesão é produzido com leite semidesnatado, onde o teor de gordura impacta bastante na textura e na grana. Normalmente trabalha-se com leite com teor de gordura variando de 2,1 a 2,3% (m/v). Nas fábricas, em busca de maior padronização dos queijos, trabalha-se mais com a relação gordura/caseína, fixando-a para o ano todo. Essa relação não deve ser superior a 0,9-1,0, o que indica, na prática, para um leite com 2,3% de caseína, um teor de gordura entre 2,2 e 2,3% (m/v). Se a relação fosse entre a gordura e a proteína total, seria de cerca de 0,75 (FURTADO, 2011a).

Originalmente, o queijo Parmesão é produzido com soro-fermento, o que auxilia na formação de sabor e textura, mas tem-se conseguido bons queijos trabalhando com culturas

diretas, principalmente quando o destino é a ralação e o seu rendimento de produção varia de 12 a 15 litros de leite para cada kg de queijo após a maturação completa (DUTRA, 2017b).

O processo de fabricação do queijo Parmesão brasileiro envolve desde o preparo do leite, como a padronização, pasteurização e adição de culturas lácticas e ingredientes específicos, como as etapas de coagulação, corte, cozimento, dessoragem, enformagem, prensagem, salga, secagem e maturação (Figura 1).

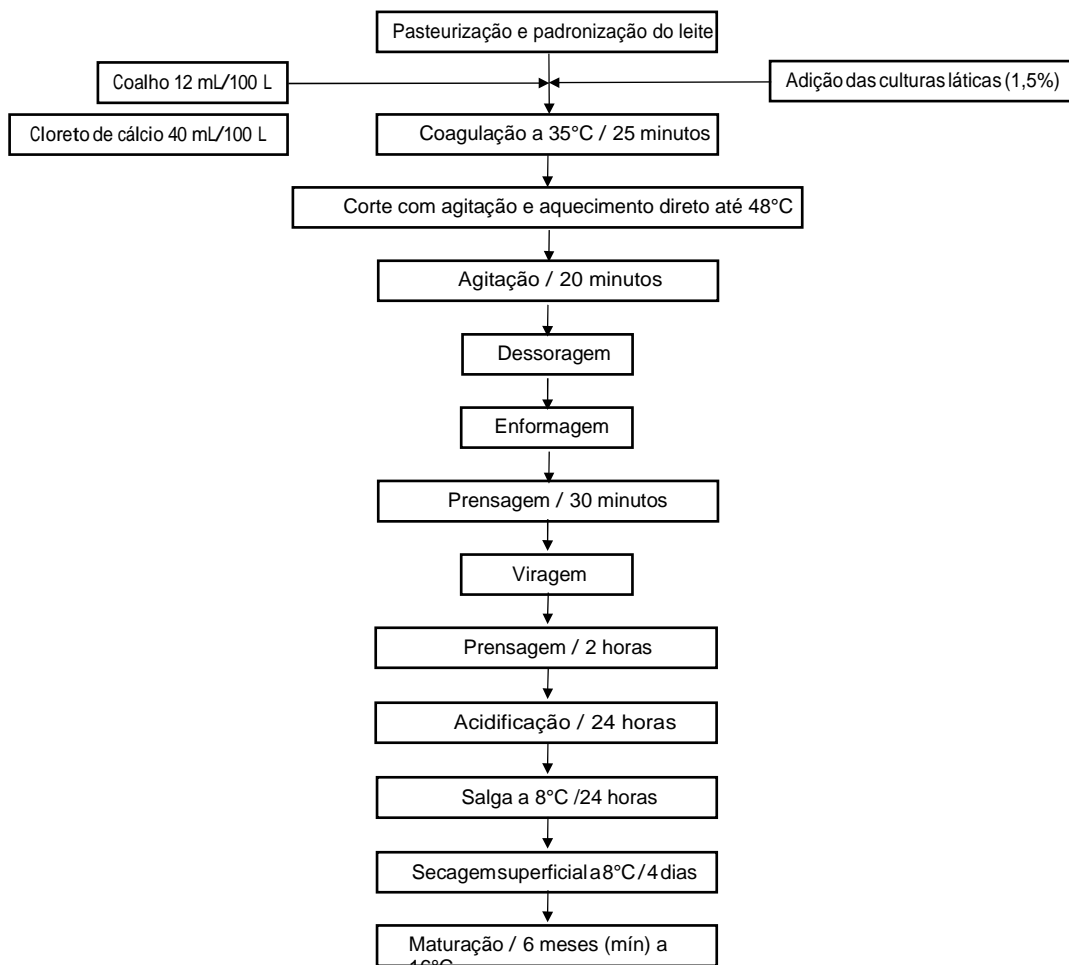


Figura 1. Fluxograma do processamento do queijo Parmesão. Fonte: SANTOS (2015).

### 3.6.3 Maturação do queijo Parmesão

De acordo com a legislação vigente, o queijo deverá ser maturado pelo tempo necessário para a obtenção das suas características específicas. Pelo menos seis meses para queijos de 4 a 10 kg de peso, 8 meses para queijos de peso compreendido entre 10 e 20 kg e 12 meses para os queijos de mais de 20 kg, conforme Tabela 9 (BRASIL, 1997).

Tabela 9 - Estabilização e maturação do queijo.

Queijo	Peso (kg)	Tempo mínimo de maturação (meses)
Parmesão	4 a 8	6
Reggianito	5 a 10	6
Sbrinz	5 a 10	6
Reggiano	10 a 20	8
Parmesano	Acima de 20	12

Fonte: BRASIL (1997).

Ao final da salga e após a secagem, é iniciado período de maturação do Parmesão, com duração mínima de seis meses, sendo esta etapa importante para a acentuação do sabor, conservação e características finais do produto. A temperatura de conservação é de 10 a 15 °C, sendo necessário virar os queijos periodicamente para que a maturação seja homogênea (BRASIL, 1997; SILVA, 2005).

As enzimas oriundas das bactérias ácido-láticas termofílicas atuam sobre a lactose, a gordura e as proteínas presentes no leite, potencializando os atributos sensoriais de textura, aroma e sabor, típicos desse produto, durante o período de maturação, auxiliando na estabilidade físico-química e desenvolvimento das características do queijo Parmesão (BARROS *et al.*, 2011; BROMBERG *et al.*, 2004; OGUNBANWO *et al.*, 2003).

As condições ambientais presentes na fase de maturação do queijo Parmesão, combinadas com sua composição, geralmente criam possibilidades para o desenvolvimento de fungos filamentosos na superfície do produto, o que reduz consideravelmente sua qualidade. Como resultado da multiplicação de fungos, as micotoxinas podem ser produzidas no queijo, tornando-o impróprio para o consumo humano (REPS, 2002). Nesta fase, podem aparecer micro trincas, que contribuem para a formação de fungos, sendo necessária a utilização de

óleos de linhaça ou de algodão na superfície das peças, para reduzir a contaminação (SOUZA, 2014).

Quando novo, um queijo Grana apresenta peso de cerca de 38 a 41 kg, caindo para 31 a 35 kg depois da maturação completa, sendo que o diâmetro médio da forma é de 33 a 45 cm e altura oscilando entre 18 e 25 cm (FURTADO, 2011a).

Após a maturação, o queijo é embalado e armazenado. Por ter uma casca muito dura, o Parmesão dispensa a embalagem em caso de comercialização da peça inteira. Já quando comercializado fatiado ou ralado, é necessário o uso de embalagem a vácuo em películas de plástico, com a finalidade de evitar a oxidação da gordura. Depois de embalados, os queijos são levados para o armazenamento, onde são mantidos sob refrigeração para aumentar o seu tempo de validade, inibir o desenvolvimento de microrganismos e protegê-los contra o ataque de insetos e roedores (ROMANI *et al.*, 2002; SILVA, 2005).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 LOCALIZAÇÃO

O processamento do queijo Parmesão foi realizado em uma indústria de laticínios situada no estado de Minas Gerais.

As análises de CBT, CCS, gordura, proteína total, caseína, lactose, escore de autenticidade (EA), extrato seco total e desengordurado do leite cru utilizado para o processamento dos queijos foram realizadas nos laboratórios de análises da Clínica do Leite – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz / Universidade de São Paulo (Esalq/USP), situada em Piracicaba, São Paulo. As análises de crioscopia, densidade e pH foram realizadas no laboratório de análises físico-químicas do laticínio.

As análises físico-químicas do soro frio (corte da 1ª mexedura), bem como as análises físico-químicas dos queijos obtidos durante a realização do trabalho, o perfil de textura, como também o teste de aceitação foi conduzido no laboratório de pesquisada Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) / Instituto de Laticínios Cândido Tostes (ILCT), situado em Juiz de Fora, Minas Gerais. As análises microbiológicas dos queijos foram conduzidas no laboratório de microbiologia do laticínio.

### 4.2 DESENHO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido com parcelas subdivididas no tempo, composto por: queijo fabricado com 3 níveis de CCS no leite, sendo 1.150.000 a 1.200.000 células/mL de leite (alta CCS); 550.000 a 600.000 células/mL de leite (média CCS) e 200.000 a 250.000 células/mL de leite (baixa CCS), 4 estádios de maturação (2 dias, 2, 4 e 6 meses de estocagem refrigerada) e três repetições.

Os leites foram selecionados com base nos teores de CCS e proteína total, de rebanhos de propriedades leiteiras fornecedoras do laticínio. Após a seleção, os leites refrigerados foram coletados e transportados em tanques isotérmicos, por veículos apropriados até a indústria, onde foram processados separadamente.

As amostras de leite oriundas das propriedades rurais, foram encaminhadas em 2 frascos de 50 mL cada, contendo conservantes do tipo bronopol (2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol) em um deles para as análises de composição e CCS, e azidiol (cloranfenicol e azida

sódica) no outro frasco para análise de CBT, sob refrigeração à 2 °C em carro apropriado por sistema de refrigeração tipo Termo King, até o laboratório de análises da Esalq/USP. As amostras de soro após o corte da 1ª mexedura, oriundas das fabricações dos queijos, foram congeladas e encaminhadas ao laboratório de análises da EPAMIG/ILCT. Foram colhidas amostras dos queijos com um dia de maturação e com dois, quatro e seis meses de maturação e, em seguida, encaminhadas sob refrigeração ao laboratório de análises da EPAMIG/ILCT. As análises microbiológicas e sensoriais dos queijos foram realizadas com quatro e seis meses de maturação, respectivamente. As Tabelas 10, 11 e 12 apresentam o número de repetições, os tempos avaliados e as análises que foram realizadas nesse projeto, nas amostras de leite cru e pasteurizado/padronizado, soro e queijo.

Tabela 10 - Número de repetições e análises realizadas no leite cru e pasteurizado/padronizado.

<b>Análises no leite cru e pasteurizado/padronizado</b>	<b>Número de repetições</b>	<b>Após seleção e chegada do leite no laticínio</b>
CBT	3	X
CCS	3	X
Proteína Total	3	X
Caseína	3	X
Gordura	3	X
Lactose	3	X
Extrato Seco Total	3	X
Extrato Seco Desengordurado	3	X
Escore de Autenticidade	3	X
Crioscopia	3	X
Densidade	3	X
pH	3	X

Tabela 11 - Número de repetições e análises realizadas no soro.

<b>Análises no soro</b>	<b>Número de repetições</b>	<b>Após corte da 1ª mexedura</b>
Proteína Total	3	X
Nitrogênio não proteico	3	X
Gordura	3	X
Densidade	3	X
Acidez titulável	3	X
pH	3	X

Tabela 12 - Número de repetições, tempos avaliados e análises realizadas no queijo.

Análises no queijo	Número de repetições	Tempos avaliados			
		2 dias de maturação	60 dias de maturação	120 dias de maturação	180 dias de maturação
Umidade	3	X	X	X	X
pH	3	X	X	X	X
Gordura	3	X	X	X	X
GES	3	X	X	X	X
Cinzas	3	X	X	X	X
Sal	3	X			
Aw	3	X	X	X	X
Proteína Total	3	X	X	X	X
Índice de extensão de proteólise	3	X	X	X	X
Índice de profundidade de proteólise	3	X	X	X	X
Textura	3	X	X	X	X
<u>Análise</u>					
<u>microbiológica</u>					
Coliformes 30°C	3			X	
Coliformes 45°C	3			X	
<i>Staphylococcus aureus</i>	3			X	
Fungos					
Filamentosos e Leveduras	3			X	
<i>Salmonella</i> sp.	3			X	
Análise Sensorial	3				X
Rendimento	3	X			



### 4.3 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS

#### 4.3.1 Análises físico-químicas do leite cru e pasteurizado/padronizado

As amostras foram analisadas nos equipamentos Bactocount IBC (Bentley Instruments, 2004) e Somacount 300 (Bentley Instruments, 1995a), para determinação da CBT e CCS, respectivamente. Para a determinação do teor de gordura, lactose, proteína total, caseína, escore de autenticidade, extrato seco total e desengordurado foi utilizado o equipamento Bentley 2000 (Bentley Instruments, 1995b). Os equipamentos Bactocount e Somacount utilizam a metodologia de citometria de fluxo e o Bentley 2000 emprega a metodologia de absorção infravermelha.

As demais análises realizadas nos leites utilizados no experimento foram:

- Acidez titulável: foi realizada pelo método titrimétrico com solução de NaOH 0,1 mol/L, o resultado dado em % (m/v) de compostos de caráter ácido expressos como ácido láctico (BRASIL, 2006);
- pH: foi realizado por meio de leitura em medidor de pH calibrado (BRASIL, 2006);
- Densidade a 15 °C: foi realizada por meio de um termolactodensímetro (BRASIL, 2006).
- Crioscopia: foi realizado por Crioscópio Eletrônico ITR (BRASIL, 2006).
- Escore de Autenticidade (EA): metodologia pela técnica de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). Resultado expresso na forma numérica, sendo que valores < 5 são considerados normais, valores entre 6 a 10 são considerados suspeitos e valores > 10 possuem alta probabilidade de o leite possuir composição diferente do leite padrão (CLÍNICA DO LEITE – ESALQ/USP, 2011).

#### 4.3.2 Análises físico-químicas do soro

As amostras dos soros foram coletadas 10 minutos após o corte da coalhada e analisadas quanto a:

- Acidez titulável: foi utilizado o método titrimétrico com solução de NaOH 0,1 mol/L, o resultado dado em % (m/v) de compostos de caráter ácido expressos como ácido láctico (BRASIL, 2006);

- pH: foi realizada por meio de leitura em medidor de pH calibrado (BRASIL, 2006);
- Teor percentual (m/v) de proteína verdadeira: foi realizada a partir da determinação dos teores de nitrogênio total (NT) e nitrogênio dos compostos não proteicos (N-NPN), pelo método de Kjeldahl (PEREIRA *et al.*, 2001). O fator para conversão de nitrogênio em proteína foi de 6,38;
- Teor percentual (m/v) de gordura: método butirométrico (BRASIL, 2006);
- Densidade a 15 °C: foi realizada por meio de um termolactodensímetro (BRASIL, 2006).

#### 4.3.3 Tecnologia de fabricação do queijo Parmesão

Os queijos foram fabricados utilizando a tecnologia apresentada na Figura 2, segundo Furtado; Lourenço Neto (1994). Os tempos de fabricação dos queijos Parmesão foram avaliados para comparação entre os diferentes níveis de CCS.

O leite cru foi pasteurizado a 72 °C por 15 segundos, padronizado para 2,8% (m/v) e resfriado entre 32 °C a 34 °C. Foi adicionado fermento láctico termofílico seguido de pré maturação por 30 minutos. Foi adicionado cloreto de cálcio (40 mL/100L - solução a 50% (m/v)) e coagulante líquido microbiano, 100% quimosina de acordo com o recomendado pelo fabricante.

A coagulação ocorreu em 30 minutos. A coalhada foi cortada em cubos de aproximadamente 0,3 cm, seguido da primeira mexedura lenta por 20 minutos. A segunda mexedura foi realizada com aquecimento por vapor indireto para aumentar a temperatura sob agitação contínua até 52 °C (1 °C/2 minutos), até a obtenção do ponto da massa. O soro foi drenado e a coalhada foi enformada em formas cilíndricas e prensada até pH 5,5. A salga em salmoura ocorreu por um período de 9 dias com concentração de sal na massa do queijo de 20% m/v a 10-12 °C, seguida de secagem entre 8 – 10 °C (70 – 75% UR), por 24 horas. Os queijos foram maturados por 6 meses (14-16 °C - 80% UR).

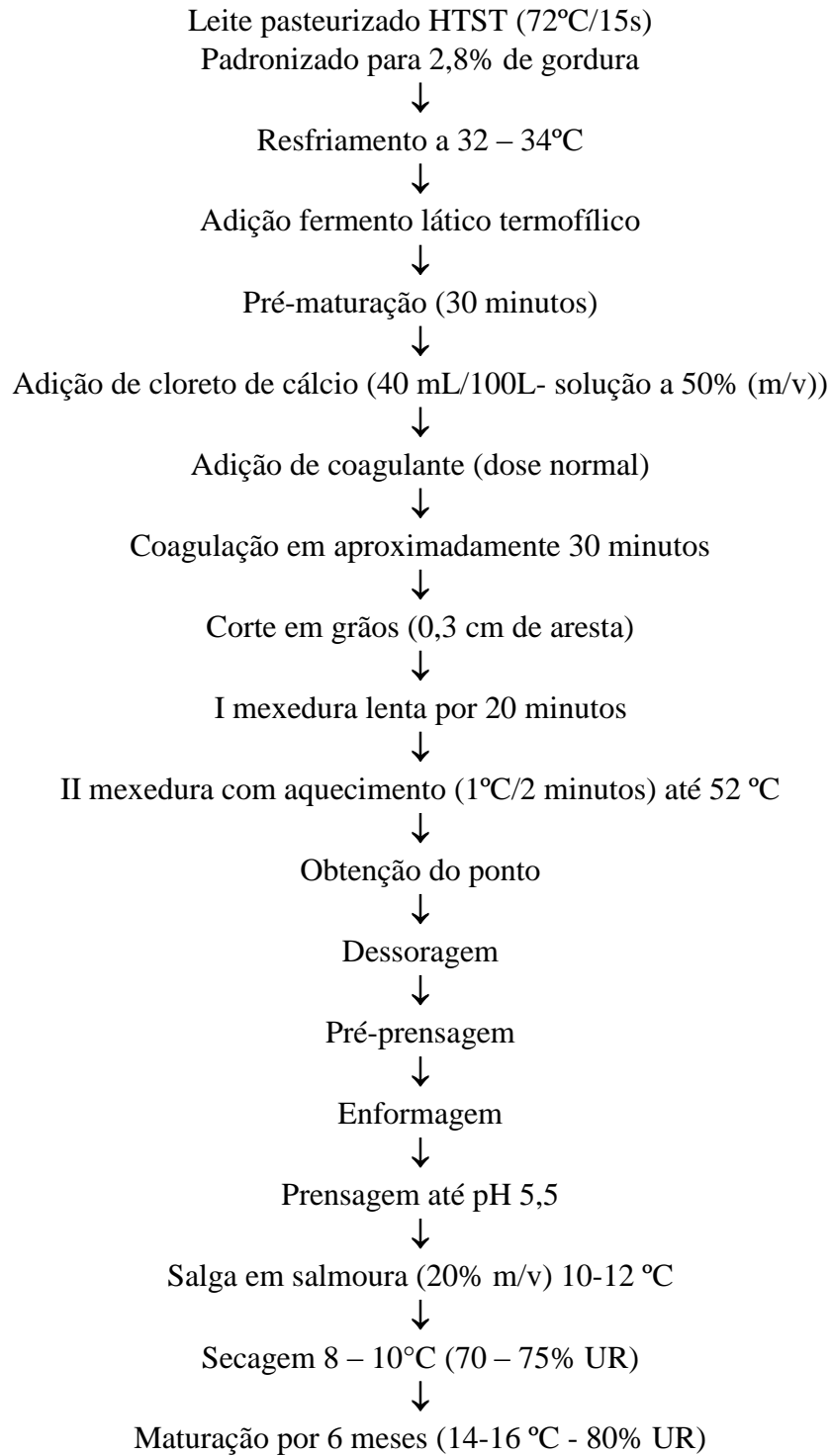


Figura 2. Tecnologia de fabricação do queijo Parmesão. Fonte: Furtado; Lourenço Neto (1994).

#### 4.3.4 Amostragem dos queijos durante a estocagem

Ao 2º dia, 2, 4 e 6 meses de maturação, foram coletadas aleatoriamente um exemplar por período para análises físico-químicas e perfil de textura. No 4º mês de maturação, foi coletada uma amostra de cada lote para análise microbiológica, e ao 6º mês de maturação, foram coletadas amostras aleatoriamente por lote, para análise sensorial. O processo de preparo de amostra foi realizado segundo Brasil (2006).

#### 4.3.5 Análises físico-químicas do queijo Parmesão

Em cada período (2 dias, 2, 4 e 6 meses de estocagem refrigerada), os queijos foram analisados quanto aos seguintes aspectos:

- Teores percentuais (m/m) de Umidade e Extrato Seco Total: método gravimétrico em estufa a  $102^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  (PEREIRA *et al.*, 2001);
- pH: por método eletroanalítico (PEREIRA *et al.*, 2001);
- Teor percentual de gordura: método butirométrico (Brasil, 2006)
- Determinação da Gordura no Extrato Seco (GES) = teor de gordura/extrato seco (Brasil, 2006);
- Teor percentual de resíduo mineral fixo: por método gravimétrico (cinzas) (PEREIRA *et al.*, 2001);
- Teor percentual de cloretos (PEREIRA *et al.*, 2001);
- Atividade de água: por meio da leitura direta no equipamento Aqualab série 3, marca Decagon.
- Nitrogênio total: obtidos pelo método Kjeldahl, conforme descrito por Pereira *etal.* (2001) para se calcular:
  - Teor percentual de proteína: com base no teor de nitrogênio total, conforme descrito na seção 6.036 da A.O.A.C. (1984). O fator utilizado será 6,38;
  - Índice de extensão de proteólise (IEP)

Os teores de nitrogênio total (NT) e de nitrogênio solúvel em pH 4,6 (NS) dos queijos foram determinados pelo método Kjeldahl, segundo Pereira *et al.*(2001). O índice de extensão da proteólise foi calculado pela relação entre a porcentagem de nitrogênio solúvel em pH 4,6 e a porcentagem de nitrogênio total (Equação 1).

$$\text{IEP} = (\text{Nitrogênio solúvel em pH 4,6} / \text{Nitrogênio total}) \times 100 \quad (1)$$

□ Índice de profundidade de proteólise (IPP)

O índice de profundidade da proteólise foi calculado pela relação entre a porcentagem de nitrogênio solúvel em TCA 12% e a porcentagem de nitrogênio total (Equação 2).

$$\text{IPP} = (\text{Nitrogênio solúvel TCA 12\%} / \text{Nitrogênio total}) \times 100 \quad (2)$$

#### 4.3.6 Rendimento

O rendimento dos queijos foi calculado da seguinte maneira: quantidade em kg de queijo produzido para cada 100 kg de leite utilizados na produção (kg queijo/100 kg de leite), portanto foi dividida a massa de queijo obtida pela massa de leite utilizada. Para se chegar ao rendimento foram medidos os volumes de leite no interior da queijomatic com régua graduada apropriada e o peso em kg dos queijos oriundos da produção após salga, com dois dias de estocagem refrigerada. Normalmente, como há variações nos teores de umidade e sal dos queijos, o rendimento ajustado (RAJ), em kg de queijo/100 kg de leite, foi calculado para efeito de comparação. Foi considerada uma umidade desejada de 33% e um conteúdo de sal de 0,9%. As equações empregadas para os cálculos de rendimento (Equação 3) e RAJ (Equação 4) foram as utilizadas por Spadoti *et al.*, (2003):

$$\text{Rendimento (kg queijo/100 kg de leite)} = \frac{\text{massa de queijo obtida}}{\text{massa de leite utilizada}} \quad (3)$$

Rendimento Ajustado (RAJ), com a utilização do teor desejado de sal de 0,9% e umidade de 33% no queijo Parmesão.

$$\text{RAJ} = \frac{(\text{rendimento}) \times (100 - (\% \text{ umidade real} + \% \text{ sal real}))}{100 - (\% \text{ umidade desejada} + \% \text{ sal desejada})} \quad (4)$$

Para a recuperação de gordura (RG) ou proteína (RP) do soro e do queijo, foi utilizada a equação abaixo, segundo Alves *et al.*, (2013), onde a amostra pode ser o soro ou o queijo e o componente pode ser gordura ou proteína.

$$\text{RG ou RP} = \frac{\text{massa da amostra} \times \% \text{ do componente da amostra} \times 100}{\text{massa leite ou retentado} \times \% \text{ componente leite ou retentado}} \quad (5)$$

A recuperação total (RT) de gordura ou proteína foi calculada de acordo com a Equação 6:

$$RT = \% R \text{ do soro} + \% R \text{ queijo} \quad (6)$$

#### 4.3.7 Análise do perfil de textura do queijo

A análise do perfil de textura dos queijos foi realizada utilizando-se o Texturômetro CT3 Textura Analyzer (Brookfield, Middleboro, USA). O preparo das amostras foi realizada pela retirada de seis pedaços de 20 mm de aresta em formato de cubo, sendo que não foram utilizados o centro e as bordas das amostras. Os cubos de queijo foram acondicionados em sacos plásticos impermeáveis e mantidos a 12°C em uma BOD, por um período de 1h e 30 min, antecedentes aos testes. No decorrer dos ensaios, as amostras foram comprimidas a 30%, velocidade do teste 1 mm/s, célula de carga de 4500g, por um cone de 30 mm de altura e 60°. A textura foi determinada instrumentalmente, em sextuplicata, pela análise do perfil de textura Texture Profile Analysis (TPA). As análises do Perfil de Textura dos queijos foram realizadas no 2º dia, 2 meses, 4 meses e 6 meses de maturação do produto. Os parâmetros mensurados foram: dureza, mastigabilidade, adesividade, elasticidade e coesividade.

#### 4.3.8 Análises microbiológicas

Os queijos foram analisados com 4 meses de estocagem refrigerada, em cada repetição, de acordo com o exigido pelo Ministério da Agricultura para queijos de baixa umidade (BRASIL, 1996). As análises microbiológicas realizadas foram:

- Fungos Filamentosos e Leveduras: contagem em placas esterilizadas, em solução acidificada (pH 3,5) de ágar batata glicose 2%, incubadas a 25 °C por 5 a 7 dias (BRASIL, 2003);
- Coliformes totais: contagem de coliformes em placas de Petri, esterilizadas e incubadas a 36 °C por 18 a 24 horas em estufa (BRASIL, 2003);
- Coliformes termotolerantes: A contagem de coliformes foi realizada em ágar vermelho violeta bile (VRB, Merck) (SILVA *et al.*, 1997), segundo metodologia descrita pelo fabricante;

- Contagem de *Staphylococcus aureus* – Petrifim Staph Express Count Plate, 3M, NMUSA ((AOAC, 1995) – Método para Contagem de *Staphylococcus aureus* em Laticínios);

- *Salmonella* sp.: foi homogeneizado 25 g de queijo em 225 mL de solução salina peptonada 1% tamponada (APT) e incubado  $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}/16\text{-}20\text{h}$ , posteriormente, 1 mL e 0,1 mL foram transferidos do pré-aquecimento para tubos contendo 9 mL de caldo Selenito Cistina e caldo Rappaport-Vassiliadis, respectivamente, e incubados a  $41 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  em banho-maria com movimentação. Após 24h foram realizados repiques em ágar manitol lisina cristalvioleta verde bile (MLCB) e ágar vermelho de fenol lactose sacarose (BPLS), com novobiocina, e incubados a  $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}/18\text{-}24\text{h}$  (BRASIL, 2003);

Os resultados das análises foram comparados com os requisitos microbiológicos para queijos especificados na RDC nº 146 do MAPA (BRASIL, 1996). Essas análises foram realizadas para verificação da qualidade microbiológica dos queijos, para posterior, realização da análise sensorial, de acordo com o aprovado pelo comitê de ética.

#### **4.3.9 Análise sensorial**

O projeto foi submetido na plataforma Brasil e aprovado pelo comitê de ética (CAAE 85704218.1.0000.5089). O teste de aceitação foi realizado utilizando uma escala hedônica de nove pontos (JONES *et al.*, 1955), segundo Figura 3, para os atributos sabor, aroma, aparência, textura e impressão geral com 100 consumidores, no período de 6 meses de maturação do queijo. Foram utilizados provadores não treinados e a seleção foi aleatória. Os queijos foram oferecidos em formato de cubos de 2 x 2 cm, juntamente com um copo contendo água. As respostas dos provadores foram transformadas em valores numéricos para análise estatística dos resultados.

<b>Ficha de Avaliação Sensorial</b>					
<b>Nome:</b> _____			<b>Idade:</b> _____		
<b>Data:</b> _____					
1) Quanto você gostou ou desgostou de cada amostra? <b>De modo geral, por favor, indique o quanto você gostou ou desgostou, utilizando a escala hedônica abaixo:</b>					
<b>9</b> - Gostei extremamente (Adorei) <b>8</b> - Gostei muito <b>7</b> - Gostei moderadamente <b>6</b> - Gostei ligeiramente <b>5</b> - Nem gostei/Nem desgostei <b>4</b> - Desgostei ligeiramente <b>3</b> - Desgostei moderadamente <b>2</b> - Desgostei muito <b>1</b> - Desgostei extremamente (Detestei)					
<b>Amostra</b>	<b>Aparência</b>	<b>Aroma</b>	<b>Sabor</b>	<b>Textura</b>	<b>Impressão Global</b>

Figura 3. Modelo da ficha-resposta do teste de aceitação (escala hedônica de nove pontos) para o queijo Parmesão.



#### **4.3.10 Análise estatística**

O delineamento utilizado foi parcelas subdividas no tempo, sendo considerado o tratamento como fator principal, e o tempo, como subfator. Apenas para a análise sensorial, que foi realizada em um só tempo, foi utilizado delineamento em blocos. Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey com significância  $P < 0,05$  por meio do programa estatístico “SISVAR” 4.3 (FERREIRA, 1999).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 EFEITO DA CCS SOBRE OS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DO LEITE CRU REFRIGERADO E DO LEITE PASTEURIZADO E PADRONIZADO

A Tabela 13 apresenta os valores médios das análises físico-químicas do leite cru refrigerado.

Tabela 13 - Análises físico-químicas do leite cru refrigerado (média  $\pm$  DP)

Parâmetros	Leite cru refrigerado		
	Alta CCS	Média CCS	Baixa CCS
CCS (x 1.000 CS/mL)	1156 $\pm$ 131 <sup>a</sup>	575 $\pm$ 48 <sup>b</sup>	213 $\pm$ 16 <sup>c</sup>
Proteína Total (%)	3,18 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	3,19 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	3,17 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
Caseína (%)	2,42 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	2,43 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>	2,42 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>
PCAS (%)*	76,00 $\pm$ 1,40 <sup>a</sup>	76,07 $\pm$ 1,57 <sup>a</sup>	76,28 $\pm$ 1,24 <sup>a</sup>
Lactose (%)	4,51 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	4,54 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	4,70 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>
Gordura (%)	3,63 $\pm$ 0,08 <sup>b</sup>	3,89 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	3,38 $\pm$ 0,07 <sup>c</sup>
EST (%)**	12,30 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>	12,65 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	12,23 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>
ESD (%)***	8,67 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	8,75 $\pm$ 0,08 <sup>ab</sup>	8,85 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>
CBT (x 1.000 UFC/mL)	76 $\pm$ 32 <sup>a</sup>	36 $\pm$ 21 <sup>ab</sup>	9 $\pm$ 4 <sup>b</sup>
Densidade (g/mL)	1031,00 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	1031,00 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	1031,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>
Crioscopia (°H)	- 0,54 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	- 0,54 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	- 0,54 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>
pH	6,84 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	6,84 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	6,86 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>
Acidez Titulável (°D)	14,33 $\pm$ 0,58 <sup>a</sup>	15,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	15,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>
EA****	1,80 $\pm$ 0,15 <sup>b</sup>	2,04 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	3,02 $\pm$ 0,31 <sup>a</sup>

<sup>a, b, c</sup> Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ );  $n = 3$ . Alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL, Média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL, Baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL.

\* PCAS – porcentagem da proteína na forma de caseína.

\*\* EST – extrato seco total.

\*\*\* ESD – extrato seco desengordurado.

\*\*\*\* EA – escore de autenticidade.

Todos os resultados, exceto a CCS que variou de 213.000 a 1.156.000 cél/mL, apresentaram-se dentro dos padrões segundo a IN 76 (BRASIL, 2018a), indicando que os leites oriundos das propriedades rurais utilizados neste experimento estavam de acordo com os parâmetros estabelecidos pela legislação. A CCS apresentou diferença estatística significativa entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ). Estas diferenças confirmaram a eficiência no procedimento de seleção do leite, para a finalidade do estudo.

Não houve diferença estatística significativa ( $P > 0,05$ ) para os parâmetros densidade, crioscopia, pH e acidez titulável entre os tratamentos. A proteína total, bem como a caseína e a PCAS, também não apresentaram diferença estatística significativa entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ), fato importante que pode evitar a confusão entre a causa que se deseja avaliar, visto que, a caseína tem efeito positivo no rendimento do queijo. Andreatta *et al.* (2009a) também não observaram diferença nos teores de proteína total e caseína do leite sob diferentes CCS, o que corrobora com o presente estudo, no qual o teor de proteína total bem como a caseína foram considerados na seleção do leite para o experimento, ou seja, buscou a seleção de leites apenas com diferença na CCS, pois o teor de caseína poderia interferir nos resultados de rendimento, mesmo com a distinção da CCS.

Houve diferença estatística significativa ( $P < 0,05$ ) nos teores de lactose e ESD entre os tratamentos alta CCS e baixa CCS, ou seja, os teores de lactose e ESD foram menores no leite com maior concentração de células somáticas. Hamann; Kromer (1997) indicaram que a concentração de lactose no leite poderia ser usada como indicador de mastite, uma vez que diminui nitidamente com o aumento da CCS no leite. Rawdat; Omaira (2000) determinaram níveis reduzidos de lactose no leite com alta CCS. Segundo Harmon (1994), a CCS elevada está associada à diminuição da lactose, devido à redução da síntese do leite na glândula mamária e que o decréscimo da lactose no leite de alta CCS é resultante do aumento da permeabilidade dos tecidos entre o ducto de leite do úbere e o sangue.

Cabral *et al.* (2016) obtiveram resultados similares, ao avaliarem a relação existente entre diferentes CCS com os teores de lactose e ESD do leite cru refrigerado, de propriedades rurais situadas na região Sudoeste do Estado de Goiás, que apresentaram 4,59% (m/v) de lactose e 8,84% (m/v) de ESD no leite com CCS menor que 200.000 células/ml, e 4,42% (m/v) de lactose e 8,64% (m/v) de ESD no leite com CCS entre 601.000-800.000 células/ml.

A CBT apresentou diferença estatística significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos alta CCS e baixa CCS, sendo superior no leite com maior CCS. Santos; Fonseca (2006) observaram que

a alta prevalência de um dos agentes causadores de mastite, *S. agalactiae*, em rebanhos leiteiros, pode provocar grande elevação da CCS no leite (acima de 1.000.000 células/mL). Como consequência de um quadro de mastite (alta CCS) pode-se encontrar uma alta CBT no leite. Os autores estimaram que um quarto infectado com esse agente em um rebanho de 100 vacas pode elevar a CBT do leite cerca de 100.000 UFC/mL.

Embora o valor de EA tenha apresentado diferença estatística significativa ( $P < 0,05$ ) apenas para o tratamento baixa CCS, pode-se afirmar que não houve alterações na composição original dos leites selecionados para o experimento, em especial pela adição de substâncias e/ou compostos estranhos, já que os resultados foram menores que 5.

Cassoli *et al.* (2011), obtiveram taxa de 100% de sensibilidade na identificação de bicarbonato de sódio em concentrações de 0,05% (500 mg/L) e 98% para adição de 0,075% (750 mg/L) de citrato de sódio no leite, adotando o método espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), mesmo método utilizado neste trabalho. Botelho *et al.* (2015), encontraram sensibilidade de 83,3% e 93,8% para adição de 0,5-10% de amido e formaldeído, respectivamente, utilizando também o método FTIR. Quando associados aos valores de pH, crioscopia e composição do leite, os resultados, da espectroscopia de infravermelho pode proporcionar um diagnóstico mais eficiente na identificação de determinadas substâncias e/ou compostos estranhos no leite (CASSOLI, 2010).

A Tabela 14 apresenta os valores médios das análises físico-químicas do leite pasteurizado e padronizado.

Tabela 14 - Análises físico-químicas do leite pasteurizado e padronizado (média ± DP).

Parâmetros	Leite pasteurizado e padronizado		
	Alta CCS	Média CCS	Baixa CCS
CCS (x 1.000 CS/mL)	97 ± 30 <sup>a</sup>	76 ± 45 <sup>ab</sup>	36 ± 21 <sup>b</sup>
Proteína Total (%)	3,10 ± 0,02 <sup>a</sup>	3,16 ± 0,07 <sup>a</sup>	3,12 ± 0,01 <sup>a</sup>
Caseína (%)	2,34 ± 0,07 <sup>a</sup>	2,39 ± 0,11 <sup>a</sup>	2,36 ± 0,08 <sup>a</sup>
PCAS (%)*	75,33 ± 2,01 <sup>a</sup>	75,60 ± 2,03 <sup>a</sup>	75,62 ± 2,18 <sup>a</sup>
Lactose (%)	4,45 ± 0,02 <sup>b</sup>	4,51 ± 0,04 <sup>ab</sup>	4,61 ± 0,04 <sup>a</sup>
Gordura (%)	2,80 ± 0,10 <sup>a</sup>	2,83 ± 0,06 <sup>a</sup>	2,76 ± 0,06 <sup>a</sup>
EST (%)**	11,10 ± 0,27 <sup>a</sup>	11,62 ± 0,11 <sup>a</sup>	11,20 ± 0,12 <sup>a</sup>
ESD (%)***	8,51 ± 0,04 <sup>b</sup>	8,66 ± 0,06 <sup>a</sup>	8,68 ± 0,05 <sup>a</sup>
CBT (x 1.000 UFC/mL)	44 ± 27 <sup>a</sup>	11 ± 8 <sup>ab</sup>	9 ± 11 <sup>b</sup>
Densidade (g/mL)	1030,00 ± 0,31 <sup>a</sup>	1030,00 ± 0,35 <sup>a</sup>	1031,00 ± 2,65 <sup>a</sup>
Crioscopia (°H)	0,53 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,53 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,53 ± 0,00 <sup>a</sup>
pH	6,74 ± 0,07 <sup>a</sup>	6,76 ± 0,05 <sup>a</sup>	6,75 ± 0,05 <sup>a</sup>
Acidez Titulável (°D)	14,66 ± 0,58 <sup>a</sup>	15,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	15,00 ± 0,00 <sup>a</sup>
EA****	2,39 ± 0,38 <sup>b</sup>	2,22 ± 0,13 <sup>b</sup>	3,69 ± 0,37 <sup>a</sup>

<sup>a,b,c</sup> Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ );  $n = 3$ . Alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL, Média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL, Baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL.

\* PCAS – porcentagem da proteína na forma de caseína.

\*\* EST – extrato seco total, \*\*\* ESD – extrato seco desengordurado, \*\*\*\* EA – escore de autenticidade.

A CCS do leite cru refrigerado foi reduzida após sofrer o processo de pasteurização e padronização da gordura em 2,8% (m/v). A padronização mecânica ou desnate, que objetivou reduzir o teor de gordura do leite para 2,8% (m/v), contribuiu para redução da CCS do leite nos tratamentos A, B e C em 91,6% (1.156.000 ± 131.000 versus 97.000 ± 30.000 cél/mL), 86,8% (574.000 ± 48.000 versus 76.000 ± 45.000 cél/mL) e 83,1% (213.000 ± 16.000 versus 36.000 ± 21.000 cél/mL), respectivamente.

Santos *et al.* (2007) ao avaliarem o efeito da remoção de células somáticas por microfiltração sobre a lipólise do leite, observaram que o desnate do leite teve efeito significativo sobre a CCS, sendo que para um leite com CCS de 1.150.000 cél/mL e outro com CCS de 75.000 cél/mL, a redução foi de 75,6% e 34,6% respectivamente. Resultados semelhantes foram obtidos por Giffel; Horst (2004) e Santos *et al.* (2003). No entanto, a remoção física das células somáticas do leite, ocasionada pelo processo de remoção da gordura, não implica necessariamente na reversão dos efeitos negativos que a alta CCS causa na composição e qualidade do leite, já que muitas das alterações acontecem ainda no leite dentro da glândula mamária (SANTOS *et al.*, 2007).

Não houve diferença estatística significativa ( $P > 0,05$ ) na caseína do leite pasteurizado/padronizado entre os tratamentos. Os resultados de CBT foram semelhantes ao do leite cru e o ESD obteve o mesmo comportamento no leite cru e no pasteurizado.

## 5.2 EFEITO DA CCS DO LEITE NA FABRICAÇÃO DO QUEIJO PARMESÃO

A Figura 4 apresenta o tempo médio de fabricação dos queijos, que consistiu no tempo decorrente entre a adição do coagulante ao leite, corte da coalhada e obtenção do ponto da massa, para os três tratamentos.

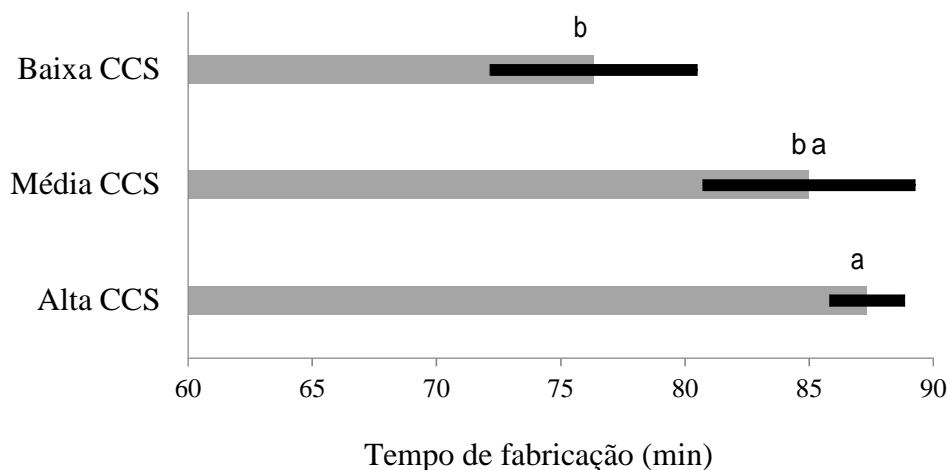


Figura 4. Tempo médio de fabricação dos queijos Parmesão elaborados com leites em três diferentes níveis de CCS. <sup>a, b, c</sup> Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ );  $n = 3$ . Alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL, Média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL, Baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL.

Os tempos médios das fabricações apresentaram diferenças estatísticas significativas ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos, no qual as produções dos queijos elaborados com leites contendo alta e

média CCS levaram  $87,33 \pm 1,5$ min e  $85,00 \pm 4,26$  min, respectivamente, comparado ao de baixa CCS, que levou um tempo médio de  $76,33 \pm 4,16$ min.

As enzimas microbianas presente no leite em decorrência da mastite retardam o tempo de coagulação além da formação de uma coalhada mais frágil, que causa perda de rendimento e aumento da umidade do queijo. Estas enzimas agem inibindo a cultura láctea responsável pela produção de ácido láctico, que contribui para redução do pH no leite (KELLY; McSWEENEY, 2002).

Mazal *et al.* (2007) observaram uma diferença de 2% a mais de umidade nos queijos produzidos de leite com alta CCS, comparado ao com baixa contagem. Segundo os autores, isso ocorreu devido à ineficiência da cultura láctica ocasionada pelos fatores inibidores produzidos por leucócitos presentes no leite, impedindo o abaixamento do pH da massa do queijo, reduzindo a sinérese e resultando em queijos mais úmidos. Mesmo que a CCS tenha apresentado diferença estatística entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ), os valores de pH dos leites utilizados nas fabricações não apresentaram diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) (Tabelas 13 e 14). Isso corrobora com o achado por Barbano *et al.*(1991), que também não observaram diferenças significativas nos valores de pH do leite com CCS variando entre 106.000 a 1.300.000 cél./mL. No entanto, Klei *et al.*(1998) observaram correlação positiva entre o pH e o aumento da CCS no leite.

Neste estudo, que foi realizado dentro de uma fábrica de queijos, os maiores tempos destinados às fabricações dos queijos elaborados com leite com alta CCS ocorreram devido à necessidade do fabricante em alcançar o mesmo ponto da massa e teor de umidade dos queijos oriundos de leite com baixa CCS. Isso demandou maior tempo de coagulação e sinérese durante a fabricação, embora fossem utilizadas as mesmas dosagens de fermento láctico, coagulante, cloreto de cálcio e lisozima. Tal fato pode ser observado na Tabela 15, que apresenta o teor médio de umidade das massas entre os três diferentes tipos de tratamentos após 10 horas de prensagem antes da salga. Como pode ser verificado, não houve diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) para o teor médio de umidade das massas entre os tratamentos, e com isso, pode-se afirmar que o maior tempo de fabricação foi fundamental para alcançar o teor de umidade e ponto da massa semelhante entre os queijos, mantendo assim a padronização do produto, exigência da indústria aonde o experimento foi conduzido. No entanto, este aumento no tempo de coagulação representa custos de produção mais altos e lucros reduzidos para indústria de laticínios.

Tabela 15 - Teor de umidade (%) das massas (média  $\pm$  DP).

Umidade (%)	Tratamentos		
	Alta CCS	Média CCS	Baixa CCS
Após prensagem antes da salga	41,80 $\pm$ 0,53 <sup>a</sup>	40,70 $\pm$ 0,61 <sup>a</sup>	40,63 $\pm$ 0,65 <sup>a</sup>

<sup>a, b, c</sup> Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ );  $n = 3$ . Alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL, Média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL, Baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL.

Outros autores também observaram maior teor de umidade em queijos fabricados com leite com alta CCS, como Prato (ARCURI *et al.*, 1990; MAZAL *et al.*, 2007), Cottage (KLEI *et al.*, 1998), e Cheddar (GRANDISSON; FORD, 1986; POLITIS; NG-KWAI-HANG, 1988; MARINO *et al.*, 2005). O maior teor de umidade observado nos queijos pode ser resultado de um maior pH do leite com alta CCS, que atrasa a ação do coalho, o tempo de coagulação e conseqüentemente provoca a formação de um coágulo mais fraco e úmido (Fox *et al.*, 2000). No entanto, neste trabalho não foram observadas diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) entre os valores de pH dos leites utilizado, embora os valores de CCS tenham apresentado diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos.

Srinivasan; Lucely (2002) demonstraram que a hidrólise da caseína causada pela plasmina presente no leite com alta concentração de células somáticas, afetou negativamente as propriedades reológicas dos géis induzidos pelo coalho. Estes autores apoiam a hipótese de que a atividade elevada da plasmina no leite oriundo de vacas com mastite pode alterar as propriedades de coagulação do leite e ter efeitos negativos sobre a produção.

O'Brien *et al.* (2001) observaram maior ação proteolítica da plasmina em leite com 300.000-370.000 cél./mL em comparação ao leite com 120.000 - 230.000 cél./mL.

### 5.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO SORO

A Tabela 16 apresenta as análises físico-químicas dos soros após primeiro corte da coalhada durante as produções dos queijos.



Tabela 16 - Análises físico-químicas do soro após primeiro corte da coalhada (média  $\pm$  DP).

Composição centesimal	Soro - 1° corte		
	Tratamentos		
	Alta CCS	Média CCS	Baixa CCS
Proteína total	0,76 $\pm$ 0,25 <sup>a</sup>	0,75 $\pm$ 0,24 <sup>a</sup>	0,71 $\pm$ 0,17 <sup>a</sup>
Gordura	0,53 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	0,51 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	0,50 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>
Densidade	1026,00 $\pm$ 0,17 <sup>a</sup>	1025,00 $\pm$ 0,40 <sup>a</sup>	1026,00 $\pm$ 0,87 <sup>a</sup>
pH	6,38 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	6,35 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	6,34 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>
Acidez titulável	13,33 $\pm$ 0,58 <sup>a</sup>	13,33 $\pm$ 0,58 <sup>a</sup>	14,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>
ESD*	6,88 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	6,69 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	6,65 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>

<sup>a,b,c</sup> Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ );  $n = 3$ . Alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL, Média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL, Baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL.

\* ESD – extrato seco desengordurado.

Com exceção do ESD, não foram observadas diferenças estatísticas significativas ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos para os demais resultados físico-químicos do soro. Observa-se que o mesmo comportamento encontrado no ESD do leite foi verificado no ESD no soro, possivelmente devido à influência do teor de lactose no leite ( $P < 0,05$ ), visto que não houve diferença no teor de proteína tanto no leite como no soro.

Segundo Coelho (2007), no leite com alta CCS as enzimas antimicrobianas, catepsina e plasmina, aumentam demasiadamente, afetando o processo de coagulação do queijo, o que resulta na perda de componentes sólidos para o soro. Essa dificuldade de incorporação dos sólidos do leite no queijo, como gordura e proteínas, altera a composição do produto final.

Mazal *et al.* (2007) ao avaliarem o efeito de 2 níveis de CCS no leite cru sobre a produção e composição do queijo Prato, não observaram diferenças estatísticas significativas quanto aos teores de gordura perdidas no soro, mas concluíram que no soro resultante da produção utilizando leite de alta CCS (600.000 a 1.000.000 cél./mL) houve uma maior concentração de proteína total, comparado ao de baixa CCS ( $< 200.000$  cél./mL), onde os teores foram de  $0,92\% \pm 0,05$  e  $0,66 \pm 0,03$ , respectivamente.

Uma maior perda de proteína para o soro foi também observada para queijo Cottage (KLEI *et al.*, 1998) e queijo Cheddar (ROGERS & MITCHELL, 1994) a partir de leite com CCS  $> 850.000$  e  $> 250.000$  cel/mL, respectivamente. No entanto, isso não foi observado nesse trabalho,

possivelmente porque o teor de caseína e gordura dos leites dos três tratamentos foi semelhante ( $P > 0,05$ ).

## 5.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DOS QUEIJOS PARMESÃO

### 5.4.1 Teor de umidade dos queijos ao longo da maturação

A umidade é um fator intrínseco de extrema importância para a vida de prateleira dos alimentos, pois conduz maior atividade hidrolítica e predisposição para o crescimento microbiano, devido ao aumento da atividade de água no produto (COELHO, 2007).

A Tabela 17 apresenta o teor médio de umidade dos queijos em cada tratamento. Não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para o teor de umidade entre os tratamentos, portanto a CCS não influenciou o teor de umidade dos queijos.

Tabela 17 - Teor de umidade dos queijos dentro de cada tratamento (média  $\pm$  DP).

Tratamentos	Médias
Alta CCS	33,56 $\pm$ 1,37 <sup>A</sup>
Média CCS	33,61 $\pm$ 1,77 <sup>A</sup>
Baixa CCS	33,62 $\pm$ 2,31 <sup>A</sup>

<sup>A,B,C</sup> Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem significativamente entre si ( $P > 0,05$ ), pelo teste de Tukey ( $n=3$ ). Alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL, Média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL, Baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL

Embora outros autores tenham observado maior teor de umidade para queijos produzidos com leite de alta CCS (JAEGGI *et al.*, 2003; PIRISI *et al.*, 2000; AULDIST *et al.*, 1996; BARBANO *et al.*, 1991; POLITIS; NG-KWAI-HANG, 1988a GRANDISSON; FORD, 1986 e MITCHELL *et al.*, 1986), o maior tempo de fabricação dos queijos elaborados com leite de alta CCS neste estudo pode ter influenciado o teor de umidade dos queijos oriundos dessa produção, que não diferiu dos demais queijos de baixa e média CCS (Figura 03).

Miraglia *et al.* (2014) observaram maior teor de umidade nos queijos Pecorino apenas quando elaborados com leite contendo CCS acima de 2.000.000 cél./mL, e que no entanto, quando elaborados com leite com CCS entre 1.000.000 e 1.500.000 cél./mL, o teor de umidade dos queijos não diferiram estatisticamente quando comparado a CCS  $<$  500.000 cél./mL. Estes resultados

respaldam os dados contidos no presente estudo, já que a CCS dos leites selecionados variaram entre 213.000 a 1.153.000 cél./mL.

Revilla *et al.* (2011) consideraram que a diferença no teor de umidade dos queijos maturados por 180 dias, produzidos de leite com variação de CCS entre < 500.000 e > 2.500.000 cél./mL se deu apenas no início da maturação (até 30 dias), e que no decorrer da maturação até o final do período não foi encontrada diferença estatística para o teor de umidade entre os queijos produzidos nos diferentes níveis de CCS. Resultados que também apoiam os encontrados neste estudo.

A Figura 5 apresenta o teor médio de umidade dos queijos Parmesão ao longo do período de maturação. Houve diferença significativa no teor de umidade dos queijos em relação ao tempo ( $P < 0,05$ ), no entanto, não houve diferença na interação tratamento X tempo ( $P > 0,05$ ).

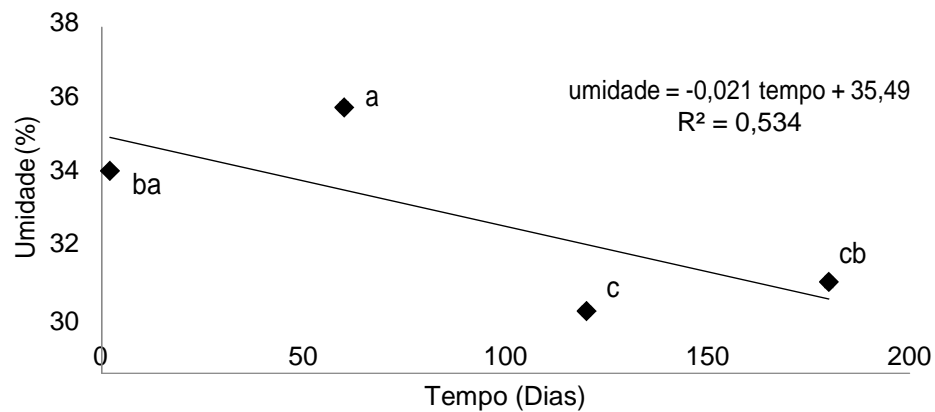


Figura 5. Teor de umidade dos queijos Parmesão ao longo da maturação. <sup>a,b,c</sup> Médias seguidas pela mesma letra minúscula, não diferem significativamente entre si ( $P < 0,05$ ), pelo teste de Tukey ( $n=3$ ).

Os resultados encontrados para umidade aos 180 dias de maturação estão de acordo com a legislação para queijo Parmesão (BRASIL, 1996), sendo que este se enquadra como queijo duro, podendo ter umidade máxima de 35,9%, quando completamente maturado por um período mínimo de 180 dias.

O comportamento do teor médio da umidade dos queijos ao longo da maturação apresentou comportamento dentro do esperado até os 120 dias de estocagem, onde o teor diminuiu no decorrer deste período. Esse comportamento é natural por se tratar de queijo maturado, onde ocorre a redução gradual da umidade, causada pela evaporação da água na superfície do queijo

(McSWEENEY, 2004). Porém, aos 180 dias de maturação a média da umidade dos queijos apresentou comportamento contrário do esperado, o que possivelmente provocou um valor baixo do  $R^2$ , como pode ser observado na Figura 5. Isso pode ter ocorrido por causa da amostragem dos queijos, ainda que as coletas das amostras tenham sido ao acaso dentro dos mesmos lotes de produção, os queijos analisados foram diferentes em todos os tempos.

#### 5.4.2 Atividade de água ( $A_w$ ) dos queijos ao longo da maturação

A sobrevivência e a multiplicação dos microrganismos nos queijos dependem de alguns parâmetros, dentre eles está a atividade de água, cuja capacidade de sobreviver ou de se multiplicar em meios com reduzida atividade da água varia de acordo com o tipo de microrganismo (EYLES, 1992). No início da fabricação, o queijo apresenta  $A_w$  aproximadamente de 0,99, e após o dessoramento, a salga e durante a maturação, estes valores diminuem (BERESFORD *et al.*, 2001).

Não houve diferença estatística significativa ( $P > 0,05$ ) para a atividade de água entre os tratamentos. Assim como o teor de umidade (Tabela 17) a CCS também não influenciou na atividade de água dos queijos. A Tabela 18 apresenta a média de atividade de água dos queijos em cada tratamento.

Tabela 18 - Atividade de água dos queijos dentro de cada tratamento (média  $\pm$  DP).

Tratamentos	Médias
Alta CCS	0,90 $\pm$ 0,01 <sup>A</sup>
Média CCS	0,90 $\pm$ 0,02 <sup>A</sup>
Baixa CCS	0,90 $\pm$ 0,02 <sup>A</sup>

<sup>A,B,C</sup> Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem significativamente entre si ( $P > 0,05$ ), pelo teste de Tukey,  $n=3$ . Alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL, Média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL, Baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL

Os valores da atividade de água encontrados no estudo variaram de  $0,88 \pm 0,01$  a  $0,92 \pm 0,03$ . Diversos autores concordam que o valor de 0,80 é limitante para o desenvolvimento da maioria dos fungos deteriorantes em alimentos (FORSYTHE, 2010; JAY, 2005; FRANCO; LANDGRAF, 2004).

Neste estudo, embora os valores de atividade de água encontrassem-se acima de 0,80, não foram observados resultados microbiológicos fora dos padrões para queijos especificados na RDC nº 146 do MAPA (BRASIL, 1996).

Os diversos tipos de queijos apresentam variações em seus teores de umidade, composição química e, conseqüentemente, na atividade de água. Segundo Marcos *et al.*(1981), em um estudo realizado com diversas amostras de queijos de vários países europeus mostrou que queijos Parmesão maturados apresentaram teores de umidade e atividade de água de 32,00% e 0,91, respectivamente, e que a atividade de água estava altamente relacionada com o teor de umidade dos queijos. Esses dados estão de acordo com os resultados de umidade e  $A_w$  encontrados neste estudo.

Ao longo do período, a atividade de água foi maior no início da maturação (2 a 60 dias) estabilizando dos 60 dias até o final do período de estocagem, que se deu aos 180 dias, com diferença significativa em relação ao tempo ( $P < 0,05$ ). Assim como o teor de umidade, não houve diferença na interação tratamento X tempo ( $P > 0,05$ ). A Figura 6 apresenta o teor médio da atividade de água dos queijos Parmesão ao longo do período de maturação.

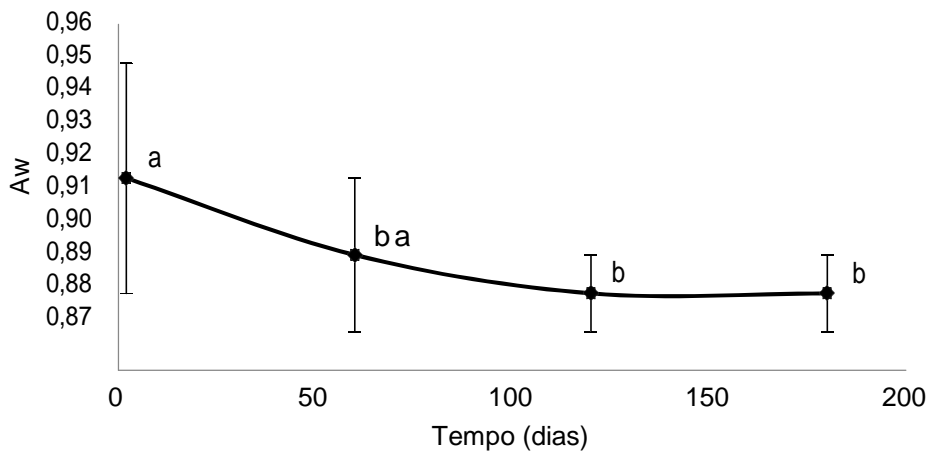


Figura 6. Atividade de água dos queijos Parmesão ao longo da maturação. <sup>a,b,c</sup> Médias seguidas pela mesma letra minúscula, não diferem significativamente entre si ( $P < 0,05$ ), pelo teste de Tukey ( $n=3$ ).

Essa redução na atividade de água está coerente com o teor de umidade dos queijos, pois foram maturados sem embalagem, com perda de umidade e, conseqüentemente, redução da atividade de água. Assim, a diminuição na  $A_w$  observada neste experimento, ocorreu possivelmente devido à dissolução do sal na umidade e pela hidrólise de proteínas em peptídeos e aminoácidos.

Para cada ligação peptídica, uma molécula de água é adicionada (BERESFORD *et al.*, 2001). Também a atividade de água é influenciada pelo teor de umidade e de cloretos dos queijos (GUINEE; FOX, 2004).

Hickey *et al.*(2013) ao avaliarem a atividade de água em queijos maturados por 270 dias, observaram que a  $A_w$  diminuiu significativamente no final do período, e que a correlação entre umidade e  $A_w$  foi positiva. Esses resultados reforçam os encontrados por Pirisi *et al.* (2004), que ao produzirem queijos Pecorino Romano, encontraram diferença significativa para  $A_w$  dos queijos entre o início e o fim da maturação, que se deu por 9 meses, onde os valores foram 0,89 no início e 0,82 no final do período. Esses resultados também reforçam os encontrados neste estudo.

### 5.4.3 Teor de cloretos dos queijos

O teor de cloretos do queijo está estritamente ligado ao teor de umidade e o tempo de salga (GUINEE, 2004; McSWEENEY, 2007).

A Tabela 19 apresenta a média do teor de cloretos dos queijos em cada tratamento com dois dias de estocagem, após a salga.

Tabela 19 - Teor de cloretos nos queijos Parmesão em cada tratamento aos dois dias de maturação (média  $\pm$  DP).

Tratamentos	Médias
Alta CCS	2,23 $\pm$ 0,71 <sup>A</sup>
Média CCS	2,37 $\pm$ 1,11 <sup>A</sup>
Baixa CCS	1,92 $\pm$ 1,05 <sup>A</sup>

<sup>A,B,C</sup> Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem significativamente entre si ( $P > 0,05$ ), pelo teste de Tukey.  $n=3$ . Alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL, Média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL, Baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL.

O teor de cloretos não apresentou diferença significativa entre os tratamentos com dois dias de estocagem ( $P > 0,05$ ), pois a umidade dos queijos foi padronizada no tempo de fabricação, onde o tempo foi maior na produção do queijo oriundo do leite com maior CCS (Figura 04), o que provocou teores de umidade semelhantes nos queijos e com isso, o teor de sal não foi diferente entre os tratamentos. Também o tempo de salga foi o mesmo para todos os queijos. A quantidade de sal

absorvido no queijo após salga em salmoura aumenta proporcionalmente ao teor de umidade do queijo (FOX *et al.*, 2000).

Geary *et al.*(2013), observaram correlação positiva entre CCS do leite e teor de umidade dos queijos Cheddar, e concluíram que quanto maior o teor de CCS do leite, maior o teor de umidade dos queijos, semelhantes aos achados por Barbano *et al.* (1991) e Vianna *et al.*(2008). No entanto, esta conclusão não é unânime em toda literatura. Cooney *et al.* (2000) e O'Brien *et al.*(2004) não encontraram nenhuma relação significativa entre CCS e umidade dos queijos, o que corrobora com os resultados encontrados.

#### 5.4.4 Teor de gordura dos queijos

A Tabela 20 apresenta a média do teor de gordura dos queijos entre os tratamentos.

Tabela 20 - Teor de gordura (%) dos queijos Parmesão entre os tratamentos (média  $\pm$  DP).

<b>Tratamentos</b>	<b>Médias</b>
Alta CCS	28,54 $\pm$ 1,18 <sup>A</sup>
Média CCS	30,16 $\pm$ 1,12 <sup>A</sup>
Baixa CCS	28,41 $\pm$ 1,94 <sup>A</sup>

<sup>A,B,C</sup> Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem significativamente entre si ( $P > 0,05$ ), pelo teste de Tukey,  $n=3$ . Alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL, Média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL, Baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL.

Não houve diferença estatística significativa ( $P > 0,05$ ) para o teor de gordura dos queijos entre os tratamentos, portanto a CCS não influenciou no teor de gordura dos queijos. Isso foi devido ao teor de umidade e, conseqüentemente, o extrato seco dos queijos que foram semelhantes entre os tratamentos, e com isso, o teor de gordura também não variou.

Mazal *et al.*(2007) em um estudo com queijo Prato também não encontraram diferença estatística significativa ( $P > 0,05$ ) para teor de gordura no queijo, chegando aos resultados de 30,0%  $\pm$  2,0 e 29,3%  $\pm$  0,9 para as fabricações dos queijos com leite de 170.000 cél./mL e 800.000 cél./mL, respectivamente.

Diferente dos resultados encontrados no presente estudo, Grandisson; Ford (1986) relataram que quanto maior o teor de CCS no leite, menor o percentual de gordura no queijo, ao produzirem queijos Cheddar com leite em níveis de CCS de 46.000 cél./mL a 2.177.000 cél./mL. No entanto, Pirisi *et al.*(2000) ao avaliarem a influência da CCS sobre o rendimento e qualidade do queijo,

concluíram que a CCS no leite, em concentrações que variaram de 500.000 a 2.000.000 cé./mL, não afetou o teor de gordura dos queijos produzidos.

Em acordo com o presente trabalho, Miraglia *et al.*(2014) também não encontraram diferença significativa para o teor de gordura em queijo Pecorino, ao serem produzidos com leite sob três diferentes níveis de CCS (< 500.000 cé./mL, 1.000.000 a 1.500.000 cé./mL e > 2.000.000 cé./mL).

Do mesmo modo, Jaeggi *et al.*(2003) não encontraram diferenças significativa no teor de gordura de queijos duros produzidos de leite com variação de CCS entre 100.000 a 1.000.000cé./mL.

A Figura 7 apresenta o teor médio de gordura dos queijos Parmesão ao longo do período de maturação. O aumento da gordura em queijos maturados ao longo do período de maturação é comum, uma vez que com o avanço da perda de umidade dos queijos no interior da câmara, ocorre o aumento na concentração dos sólidos totais no queijo. Portanto, houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) no teor de gordura dos queijos ao longo da maturação. No entanto, não houve diferença na interação tratamento X tempo ( $P > 0,05$ ).

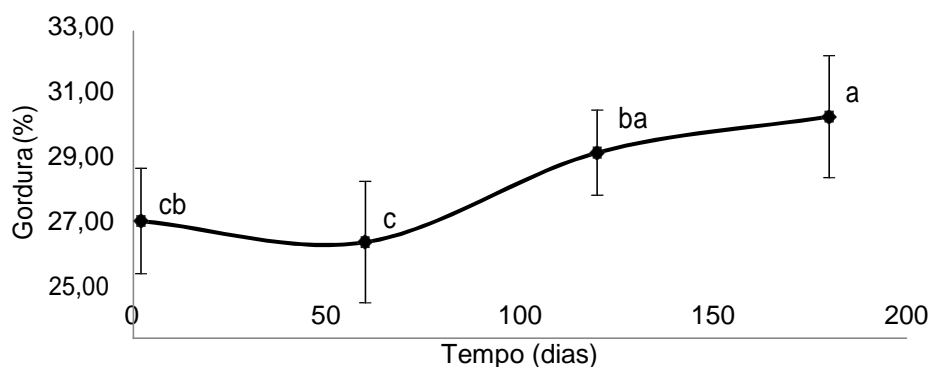


Figura 7. Teor médio de gordura dos queijos Parmesão ao longo da maturação.

Panari *et al.* (2003) observaram um aumento gradativo de gordura com o avançar da maturação dos queijos Parmigiano Reggiano ao longo de 24 meses de maturação, e que este aumento teve correlação com o teor de umidade dos queijos, ou seja, na medida em que o teor de umidade diminuía, o teor de gordura aumentava. O mesmo aconteceu com o queijo Parmesão nesse trabalho.

#### 5.4.5 Teor de gordura no extrato seco (GES) dos queijos



A Tabela 21 apresenta o teor médio de GES dos queijos em cada tratamento.

Tabela 21 - Teor de GES dos queijos Parmesão entre os tratamentos (média  $\pm$  DP).

Tratamentos	Médias
Alta CCS	42,95 $\pm$ 1,81 <sup>A</sup>
Média CCS	45,13 $\pm$ 2,31 <sup>A</sup>
Baixa CCS	42,66 $\pm$ 2,93 <sup>A</sup>

<sup>A,B,C</sup> Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem significativamente entre si ( $P > 0,05$ ), pelo teste de Tukey.  $n=3$ . Alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL, Média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL, Baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL.

Não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) da GES entre os tratamentos, como também não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) no tempo, nem na interação tratamento X tempo ( $P > 0,05$ ), pois tanto o teor de gordura quanto o de umidade, que influenciam na GES, não se diferenciaram entre os tratamentos.

O valor médio da GES ao longo do tempo foi de 43,58 %  $\pm$  2,31 e essa se enquadrou dentro dos padrões segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Queijos (Portaria 146/7 de março de 1996), no qual classifica o queijo Parmesão como semigordo, com teor que pode variar entre 25 a 44,9% de GES (BRASIL, 1996).

Panari *et al.* (2003), ao estudarem a composição do queijo Parmigiano Reggiano por um período de maturação de 24 meses, não observaram diferença significativa para o teor de GES, apesar das oscilações encontradas ao longo do período, que se deu pela distribuição desigual de umidade dos queijos.

#### 5.4.6 Teor de proteína total (%) dos queijos ao longo da maturação

A Tabela 22 apresenta o teor médio de proteína dos queijos em cada tratamento.

Tabela 22 - Teor de proteína (%) dos queijos Parmesão nos tratamentos (média  $\pm$  DP).

Tratamentos	Médias
Alta CCS	29,49 $\pm$ 2,15 <sup>A</sup>
Média CCS	27,79 $\pm$ 0,88 <sup>A</sup>
Baixa CCS	29,31 $\pm$ 1,48 <sup>A</sup>

<sup>A,B,C</sup> Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem significativamente entre si ( $P > 0,05$ ), pelo teste de Tukey.  $n=3$ . Alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL, Média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL, Baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL.

Não houve diferença estatística significativa ( $P > 0,05$ ) para o teor de proteína entre os tratamentos ao longo da maturação. Logo, não houve influência da CCS sobre o teor de proteína dos queijos nos tratamentos. Da mesma forma que o teor de gordura dos queijos não variou entre os tratamentos, o teor de proteína também não, pois esses dois compõem o extrato seco total, que foi semelhante entre os queijos.

Vieira (2010), ao produzir queijo Mussarela com leite em três diferentes níveis de CCS (100.000 a 250.000 cél./mL; 400.000 a 750.000 cél./mL e  $> 750.000$  cél./mL) também não observaram diferenças estatísticas significativas ( $P > 0,05$ ) quanto ao teor de proteína nos queijos com até 60 dias de estocagem refrigerada.

Assim como o presente trabalho, Mazal, *et al.* (2007) em um estudo com queijo Prato, não encontraram diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para teor de proteína em queijos produzidos com leites de CCS de 170.000 cél./mL e 800.000 cél./mL, cujos resultados foram de  $22,6 \% \pm 0,7$  e  $21,8 \% \pm 0,6$ , para baixa e alta CCS, respectivamente.

Em acordo a esses achados, Somers *et al.* (2003) e Walsh *et al.* (1998) também não encontraram relação entre CCS e o teor de proteína total do queijo. Segundo Auld (2000), a CCS causa alterações entre as frações proteicas do leite e não do queijo, onde a elevada contagem de células no leite, faz com que ocorra uma diminuição da caseína e aumento das proteínas do soro.

A Figura 8 apresenta o teor médio de proteína dos queijos Parmesão ao longo do período de maturação.

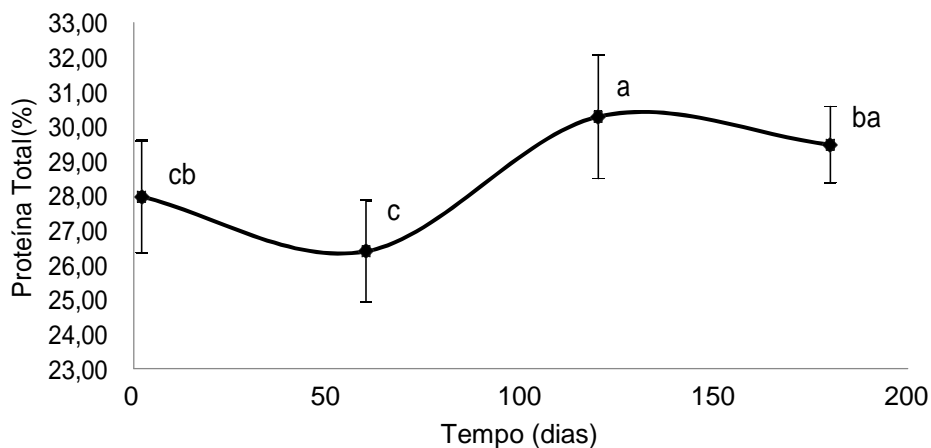


Figura 8. Teor médio de proteína total dos queijos Parmesão ao longo da maturação.

O teor de proteína dos queijos ao longo da maturação apresentou diferença significativa ( $P < 0,05$ ), ocorrendo aumento com o avanço do tempo, onde alcançou maior teor aos 120 dias de maturação. O comportamento da proteína no queijo é inverso ao comportamento da umidade, uma

vez que a perda de umidade do queijo ao longo do tempo faz com que ocorra concentração de sólidos, e, conseqüentemente, o aumento da proteína.

Assim como neste estudo, Panari *et al.* (2003) observaram que o teor de proteína total dos queijos Parmesão aumentou com o tempo de maturação, e que a umidade dos queijos foi inversamente proporcional, ou seja, com a diminuição da umidade ao longo da maturação, houve aumento no teor de proteína total nos queijos.

Não houve diferença na interação tratamento X tempo ( $P > 0,05$ ) para o teor de proteína.

### 5.5 pH DOS QUEIJOS AO LONGO DA MATURAÇÃO

A análise do potencial hidrogeniônico em queijos é importante por influenciar na textura, na microbiota e na maturação, uma vez que as reações químicas catalisadas pelas enzimas presentes no coalho e na carga microbiana dependem o pH (CABEZAS *et al.*, 2005).

O comportamento do pH é um fator determinante no processo de fabricação de queijos, sendo que seu abaixamento reduz o tempo de coagulação e favorece a sinérese e a desmineralização da massa (FOX *et al.*, 2000).

A Tabela 23 apresenta o pH dos queijos entre os diferentes tratamentos.

Tabela 23 - pH dos queijos Parmesão nos tratamentos (média  $\pm$  DP).

Tratamentos	Médias
Alta CCS	5,31 $\pm$ 0,06 <sup>A</sup>
Média CCS	5,33 $\pm$ 0,05 <sup>A</sup>
Baixa CCS	5,37 $\pm$ 0,08 <sup>A</sup>

<sup>A,B,C</sup> Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem significativamente entre si ( $P > 0,05$ ), pelo teste de Tukey (n=3). Alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL, Média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL, Baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL.

A CCS não influenciou o pH dos queijos entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ), possivelmente devido ao teor de umidade dos queijos que foram semelhantes, pois a umidade está relacionada com o teor de lactose. Queijos mais úmidos apresentam maior teor de lactose, no qual favorece a fermentação pelas bactérias lácticas do fermento e conseqüentemente abaixa o pH. Alterações de pH ocasionados pela alta CCS podem comprometer a qualidade dos queijos, inibindo a ação do coalho

e desencadeando defeitos de textura no produto (MATIOLI *et al.*, 2000), esse efeito no pH não foi observado no trabalho.

Resultados semelhantes encontrados no presente estudo foram observados na literatura. Pirisi *et al.*(2000) não observaram diferença significativa no pH dos queijos produzidos com leite cuja variação da CCS se deu entre 500.000 a 2.000.000 cél./mL. Coelho (2007) também não encontrou diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para o pH dos queijos Mussarela produzidos com leite em diferentes níveis de CCS que variaram de  $\leq 200.000$  cel/mL a 750.00 cel/mL. Jaeggi *et al.* (2003) também não observaram influência da CCS no pH dos queijos duros produzidos com leite com CCS entre 100.000 a 1.000.000 cél./mL no decorrer de 9 meses de maturação.

No entanto, houve diferença estatística ( $P < 0,05$ ) do pH dos queijos ao longo do tempo, mas não houve diferença na interação tratamento X tempo ( $P > 0,05$ ). A Figura 9 apresenta o pH médio dos queijos Parmesão ao longo do período de maturação.

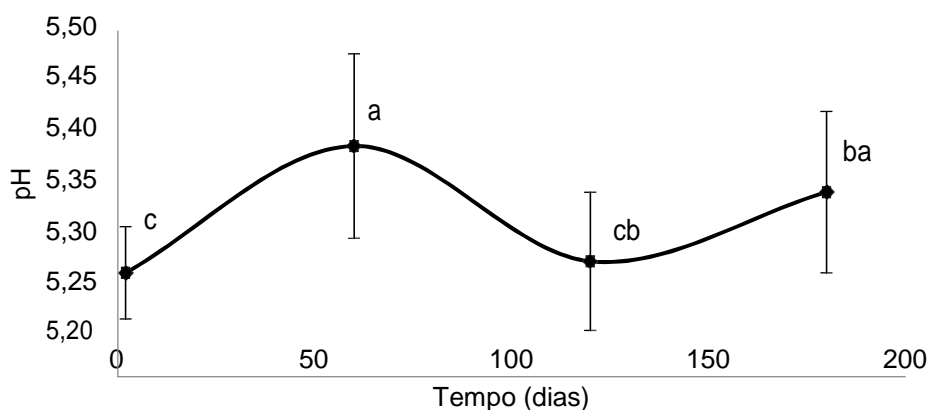


Figura 9. pH médio dos queijos Parmesão ao longo da maturação.

O aumento do pH no decorrer da maturação é causado pela proteólise, com consequente produção de amônia a partir de aminoácidos (Fox *et al.*, 2000). Jaeggi *et al.* (2003) constataram um significativo do aumento do pH dos queijos ao longo da maturação, e que o aumento do pH teve correlação com o aumento da proteólise. Panari *et al.*(2003) observaram que no decorrer da maturação do queijo Parmigiano Reggiano, o pH apresentou oscilações até o 6º mês, onde alcançou o maior valor nesse período e estabeleceu um equilíbrio até o final da maturação. Esses resultados corroboram com os apresentados no presente estudo, uma vez que o pH dos queijos apresentaram variação ao longo dos 180 dias de maturação. Porém, no final do período, o pH foi maior quando

comparado com o do início da maturação. Isso se deve ao crescente índice de extensão da proteólise observado entre o início e fim do período de estocagem dos queijos (Figura 10).

## 5.6 PROTEÓLISE

A proteólise é o principal acontecimento bioquímico que ocorre durante a maturação, um evento importante que tem influência sobre as alterações de textura na matriz do queijo, resultante da ação das proteinases e peptidases das bactérias lácticas sobre os peptídeos de alta e baixa massa molecular e aminoácidos livres (McSWEENEY; SOUSA, 2000).

Em queijos, a proteólise é amplamente usada para avaliar a evolução da maturação e dois índices são calculados a partir da quantificação das frações nitrogenadas pelo método de *Kjeldahl*. O primeiro é o índice de extensão da proteólise (IEP), que reflete a proporção de grandes peptídeos produzidos pela proteólise primária, oriundas das atividades enzimáticas do coagulante e plasmina, principalmente. O segundo é o índice de profundidade da proteólise (IPP), definido segundo a proporção de moléculas menores geradas pela proteólise secundária, oriunda principalmente pela ação de enzimas proteolíticas do fermento (WALSTRA *et al.*, 2000).

O leite com elevada CCS, quando utilizado para fabricação de queijos, pode interferir no rendimento devido às alterações causadas pela proteólise, no qual promove a desestabilização das micelas de caseína, podendo apresentar duas vezes mais hidrólise desta fração proteica quando comparado ao leite com baixa CCS (FERNANDES, 2008).

Diversos autores reforçam que a alta CCS está associada a alterações severas nas concentrações dos constituintes do leite e nas propriedades de fabricação de queijos (KALIT *et al.*, 2002; FRANCESCHI *et al.*, 2003; JAEGGI *et al.*, 2003; MAZAL *et al.*, 2007), dentre elas o aumento no tempo de coagulação, redução na resistência da coalhada e aumento nas taxas de proteólise durante a maturação (BARRY ; TAMIME, 2010).

### 5.6.1 Índice de extensão da proteólise (IEP)

A Figura 10 apresenta os valores médios do IEP em cada tratamento, no qual houve diferença significativa entre eles e também com relação ao tempo ( $P < 0,05$ ).

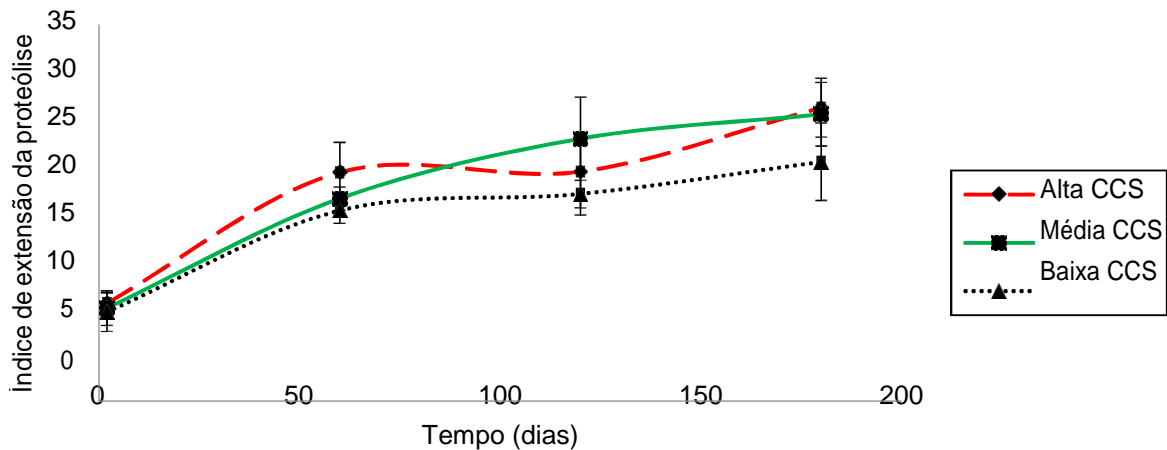


Figura 10. Índices médios de extensão da proteólise dos queijos Parmesão ao longo da maturação (n=3). Alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL, Média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL, Baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL.

As diferenças no teor de umidade e atividade de água são conhecidas por afetar significativamente a atividade proteolítica, uma vez que a atividade enzimática tem ligação direta com esses dois elementos (RULIKOWSKA *et al.*, 2013). No entanto, não houve diferença estatística significativa ( $P > 0,05$ ) em relação aos tratamentos no estudo sobre a umidade e  $A_w$  (Tabela 17 e 18). O índice de proteólise também é influenciado pelo coagulante. No entanto, a quantidade utilizada na fabricação dos queijos foi igual em todos os tratamentos, o que reforça a hipótese de que a CCS tenha influenciado diretamente na extensão de proteólise nos queijos elaborados com leite de alta contagem.

No que se refere ao aumento da proteólise, vários autores apontam que o aumento da CCS relaciona-se a uma maior síntese de plasmina e do seu precursor inativo plasminogênio, enzima que hidrolisa a proteína do leite em peptídeos. Soma-se a isto a capacidade de produção de substâncias ativadoras do plasminogênio pelos leucócitos, o que aumenta o grau proteolítico. Tais aspectos também são ressaltados por O'Brien *et al.* (2001) e Mazal *et al.* (2007).

### 5.6.2 Índice de profundidade da proteólise (IPP)

A Tabela 24 apresenta os IPP médios dos queijos entre os diferentes tratamentos.

Tabela 24 - IPP dos queijos Parmesão nos tratamentos (média  $\pm$  DP).

Tratamentos	Médias
Alta CCS	17,58 $\pm$ 4,31 <sup>A</sup>
Média CCS	15,58 $\pm$ 2,13 <sup>A</sup>
Baixa CCS	14,72 $\pm$ 3,16 <sup>A</sup>

<sup>A,B,C</sup> Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem significativamente entre si ( $P > 0,05$ ), pelo teste de Tukey ( $n=3$ ). Alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL, Média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL, Baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL.

Não houve diferença estatística significativa ( $P > 0,05$ ) para os índices médios de profundidade da proteólise entre os tratamentos nem para a interação tratamento X tempo. Como o índice de profundidade da proteólise está relacionado principalmente à ação de enzimas proteolíticas do fermento, e os queijos foram fabricados com a utilização do mesmo fermento em todas as produções, além disso, a pasteurização de todo o leite utilizado no período experimental, reduz a possibilidade de surgimento de bactérias provenientes de contaminação, verifica-se então que não houve diferença entre os tratamentos.

No entanto, houve diferença ( $P < 0,05$ ) para o tempo. A Figura 11 apresenta os valores médios do índice de profundidade da proteólise dos queijos ao longo do período de maturação.

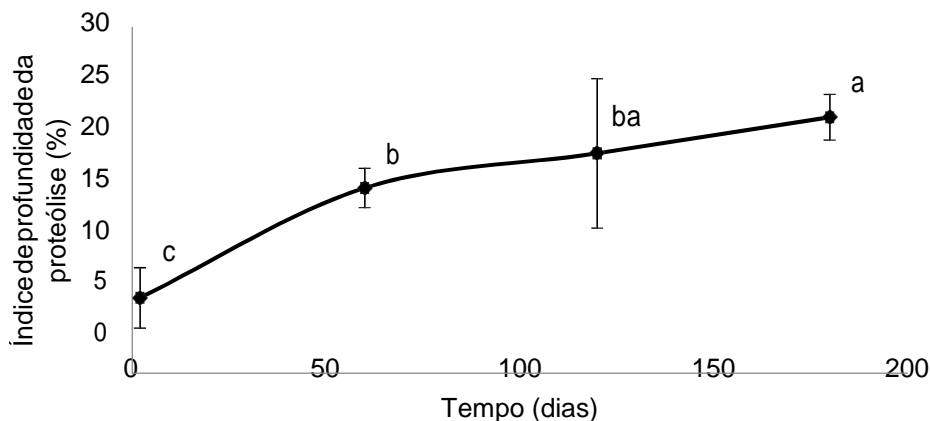


Figura 11. Índices médios de profundidade da proteólise dos queijos Parmesão ao longo da maturação ( $n=3$ ).

Kalit *et al.* (2016) avaliaram a taxa de proteólise durante a maturação dos queijos duros Livanjski, relacionada à concentração de plasmina no leite, e observaram um aumento do índice de

profundidade da proteólise para o queijo obtido a partir do leite com alta concentração de plasmina. Cooney *et al.* (2000) também afirmaram que o índice de profundidade da proteólise aumentou ao longo do tempo e foi sempre maior para os queijos produzidos de leite com alta CCS. No entanto, esses autores produziram os queijos utilizando leite cru, e por isso encontraram diferenças no índice de profundidade da proteólise em relação à CCS e o aumento da contagem das bactérias totais. Magdić *et al.* (2013) ao produzirem queijos Istriano com leite cru contendo alta CCS, observaram aumento do índice de profundidade da proteólise ao longo da maturação.

Semelhante aos dados do presente estudo, Rigueira (2010) ao avaliar o efeito da CCS (< 400.000, 401.000 - 750.000 e > 751.000 cél./mL) sobre os índices de extensão e profundidade da proteólise em queijo Mussarela, produzidos com leite pasteurizado com mesmo tipo de fermento láctico nas produções, observaram que os queijos aos 45 dias de estocagem apresentaram diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos e ao longo do tempo para extensão da proteólise, ou seja, quanto maior a CCS, maior a extensão. Já para o índice de profundidade da proteólise, não ocorreu diferença estatística ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos, embora o índice de profundidade tenha se apresentado crescente ao longo do tempo, a CCS não influenciou a profundidade da proteólise entre os tratamentos. Estes resultados são semelhantes aos obtidos por Andreatta (2006), que também não encontrou interação significativa entre a CCS e os dias de armazenamento do queijo Mussarela.

## 5.7 RENDIMENTO, RENDIMENTO AJUSTADO E RECUPERAÇÃO DE COMPONENTES DO LEITE PARA O SORO E QUEIJO

### 5.7.1 Rendimento e rendimento ajustado

A Tabela 25 apresenta o rendimento real e rendimento ajustado (RAJ) dos queijos Parmesão fabricados com leite com diferentes CCS.



Tabela 25 - Rendimento e rendimento ajustado (RAJ) dos queijos com dois dias de maturação (média  $\pm$  DP).

Parâmetro avaliado	Tratamentos		
	Alta CCS	Média CCS	Baixa CCS
Rendimento (kg de queijo/100 kg de leite)	7,73 $\pm$ 0,19 <sup>b</sup>	8,49 $\pm$ 0,24 <sup>a</sup>	8,58 $\pm$ 0,16 <sup>a</sup>
RAJ (kg de queijo/100 kg de leite)*	7,49 $\pm$ 0,28 <sup>a</sup>	8,00 $\pm$ 0,36 <sup>a</sup>	8,18 $\pm$ 0,40 <sup>a</sup>

<sup>a, b, c</sup> Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ );  $n = 3$ . Alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL, Média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL, Baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL.

\*Rendimento ajustado para 33% (m/m) de umidade e 0,9% (m/m) sal.

De acordo com os resultados verificou-se que os valores de rendimento entre os diferentes tratamentos diferiram estatisticamente entre si ( $P < 0,05$ ), sendo que os queijos elaborados com leite contendo baixa e média CCS apresentaram maior rendimento industrial, comparado aos queijos elaborados com leite de alta CCS. Os níveis de CCS do leite estão estritamente relacionados com o rendimento do queijo, uma vez que as células somáticas em grandes quantidades no leite afetam negativamente a coagulação, podendo gerar um queijo com alto teor de umidade devido à redução da sinérese. As alterações de rendimento do queijo são progressivas com o aumento da CCS, ou seja, quanto maior a contagem destas células no leite, menor será o rendimento do queijo (McSWEENEY, 2007).

Os queijos fabricados com leite com baixa CCS apresentaram rendimento superior de 10,02% quando comparados aos queijos fabricados com alta CCS no leite. Essa diferença pode ser devido à recuperação de proteína no queijo (Figura 12) que foi maior ( $P < 0,05$ ) nas produções utilizando leite com baixa CCS em relação aos queijos fabricados com alta CCS, embora os teores de proteína total e caseína dos leites selecionados não apresentassem diferenças significativas entre si ( $P > 0,05$ ).

Os resultados do presente estudo mostraram que a baixa e média CCS do leite não diferiram estatisticamente ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos, e são consistentes com os resultados relatados por Mazal *et al.* (2007), que não observaram qualquer diferença significativa no rendimento de queijos semiduros fabricados a partir de leite contendo CCS em níveis de 200.000 a 600.000 cél./mL. Porém, os queijos semiduros quando elaborados com leite com altas contagens de células somáticas

podem apresentar significativa redução no rendimento industrial, com valor de 4% (OLIVEIRA *et al.*, 1999).

Summer *et al.* (2015), ao avaliarem a influência da CCS do leite em cinco diferentes níveis ( $\leq 200.000$  cél./mL; 200.000 a 300.000 cél./mL; 300.000 a 400.000 cél./mL; 400.000 a 500.000 cél./mL e  $> 500.000$  cél./mL) sobre o rendimento de produção do queijo Parmigiano Reggiano (kg de queijo/100 kg de leite) após 24 meses de maturação, observaram uma queda no rendimento significativa quando a CCS do leite excedeu 300.000 cél./mL, o que chegou a uma diferença de 15% no rendimento quando comparado ao de CCS  $< 300.000$  cél./mL.

Vieira (2010) ao processar queijo Mussarela com leite em diferentes faixas de CCS observou que, no processamento com níveis de CCS entre 100.000 a 250.000 cél./mL, foram necessários 9,29 kg de leite para cada 1 kg de queijo produzido, e que para a faixa média de 1.113.000 cél./mL foram necessários 10,74 kg de leite para se produzir 1 kg de queijo, o que ocasionou uma diferença de 15,6% no rendimento.

Mesmo que o rendimento tenha apresentado diferença entre os tratamentos, não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para rendimento ajustado, embora diversos autores afirmem que queijos fabricados com leite com alta CCS apresentem maior teor de umidade (BARRY ; TAMIME, 2010; GEARY *et al.* 2013; MARINO *et al.*2005) e, conseqüentemente, menor rendimento devido à redução de sinérese (ALI *et al.*, 1980; MUNRO *et al.*, 1984; BARBANO *et al.*, 1991). Isso foi devido ao teor de umidade dos queijos que foi semelhante ( $P > 0,05$ ) por causa do longo tempo de fabricação do queijo produzido com leite com alta CCS (87 minutos) ( $P < 0,05$ ) para alcançar o mesmo teor de umidade e ponto da massa do queijo fabricado com leite de baixa CCS (76 minutos).

Devido ao tempo de fabricação que foi diferente entre os tratamentos para que o queijo alcançasse o mesmo ponto da massa, os resultados encontrados foram diferentes da literatura. Rogers; Mitchell (1994) ao comparar a produção de queijo Cheddar elaborado com leite contendo células somáticas em níveis  $< 200.000$ , 300.000 a 400.000 e  $> 800.000$  cél./mL, constatou que a produção oriunda da maior CCS ( $> 800.000$  cél./mL) resultou em uma maior umidade da massa (+ 2%), aumento do tempo de coagulação (+ 25%) e diminuição do rendimento ajustado (- 9%), quando comparado aos níveis de menor CCS ( $< 200.000$  cél./mL).

Politis; Ng-Kwai-Hang, (1988), constataram perda de rendimento ajustado na produção de queijo Prato de 11 e 13% ao utilizarem leite com teores de 500.000 cél./mL e 1.000.000 cél./mL,

respectivamente, quando comparado às produções utilizando leite com teor de CCS < 100.000 cél./mL.

### 5.7.2 Recuperação de componentes do leite para o soro e queijo

Dentre os diversos constituintes presentes no leite, a gordura e as proteínas são os que mais interessam na produção do queijo, uma vez que as proteínas, em especial a caseína, é quem coagula e aprisiona os demais constituintes, melhorando, assim, o tão buscado rendimento. Por outro lado, a gordura auxilia no sabor e consistência do queijo. Já os demais constituintes, como a água e sais minerais podem ser controlados durante o processo de fabricação. No entanto, a eficiência no processo de produção do queijo é definida pelas recuperações dos componentes do leite na coalhada e suas perdas no soro do leite (BANKS, 2007).

A recuperação representa a porcentagem de constituintes, tais como gordura e proteína, presente inicialmente no leite e repartido entre o queijo e o soro, sendo este um método eficiente para se estimar o rendimento da produção de queijos, no qual se busca uma recuperação para o queijo acima de 80% para as proteínas e acima de 85% para a gordura, sendo que esses valores podem variar em função da qualidade do leite e do teor de gordura inicial (BALDINI, 1998).

A Figura 12 apresenta a recuperação de proteína para o queijo e para o soro em cada tratamento.

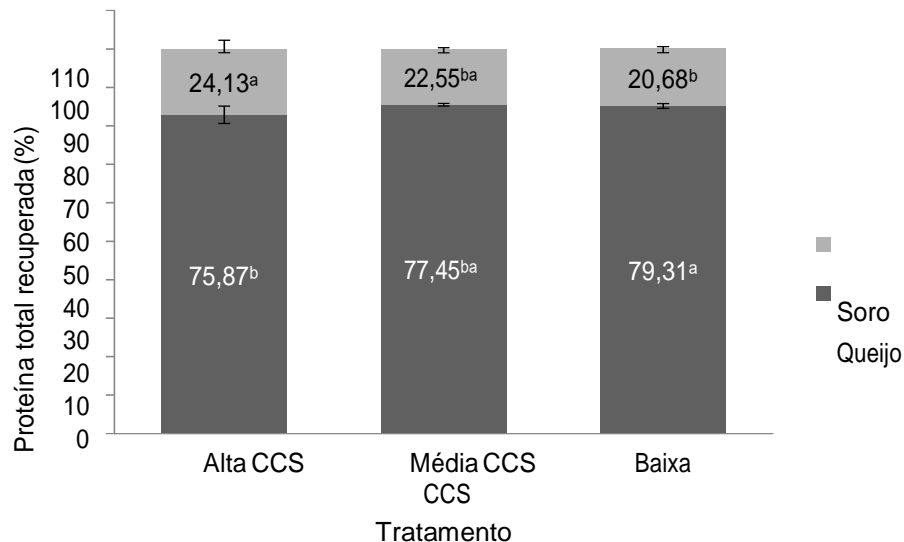


Figura 12. Recuperação média de proteína para o queijo e para o soro para cada tratamento (n=3). a, b, c Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (P > 0,05). Alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL, Média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL, Baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL.

A recuperação de proteína do leite para o queijo e para o soro diferiu significativamente ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos, sendo que os queijos produzidos com leite de baixa CCS apresentaram maior recuperação de proteína e menor perda desta para o soro, quando comparado ao leite de alta CCS. Estes resultados sugerem que no queijo com alta CCS, houve a formação de um coágulo mais frágil, favorecendo a perda de mais proteínas para o soro decorrente da proteólise mais intensa do leite com alta CCS, o que dificulta a coagulação (POLITIS *et al.*, 1988).

Os resultados encontrados estão semelhantes aos da literatura. Srinivasan; Lucey (2002), ao analisarem a microestrutura de géis obtidos com a adição de plasmina, observaram que com o aumento de seu teor, resultou na obtenção de géis mais frágeis, com menos interações proteicas. Outros pesquisadores também observaram maior recuperação de proteína para o queijo produzido de leite de baixa CCS comparado ao de alta CCS (AULDIST *et al.*, 1996; BARBANO *et al.*, 1991). Coelho (2007), ao avaliar o rendimento do queijo Mussarela, observou que houve uma maior perda de caseína do leite para o soro nas amostras com CCS superior a 750 mil cél./mL. Resultados similares foram encontrados por Matioli *et al.*, (2000) e Cooney *et al.* (2000).

A Figura 13 apresenta a recuperação de gordura para o queijo e para o soro em cada tratamento.

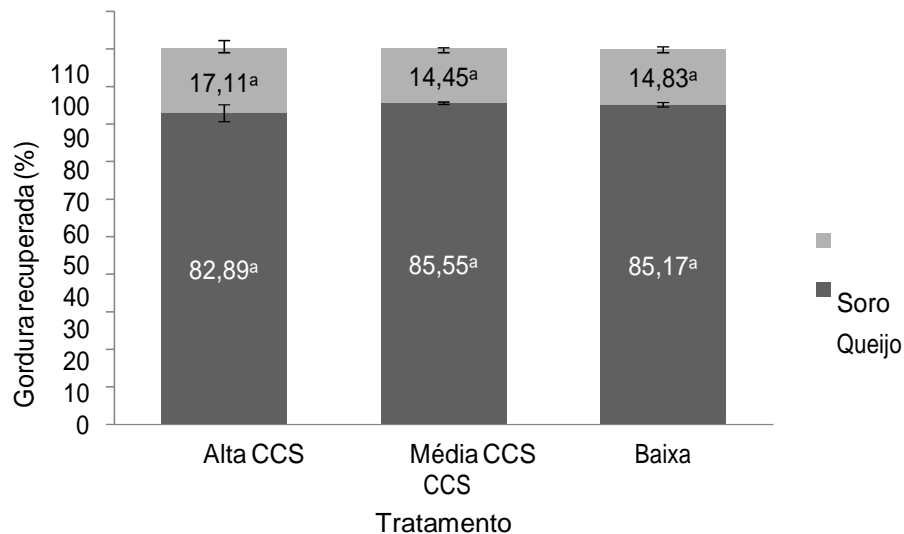


Figura 13. Recuperação de gordura para o queijo e o soro para cada tratamento (n=3). <sup>a, b, c</sup> Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ). Alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL, Média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL, Baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL.

No que diz respeito à gordura, observa-se na Figura 13 que não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) na sua recuperação para o queijo e para o soro entre os tratamentos. Possivelmente, isso

foi devido ao baixo teor de gordura do leite utilizado na fabricação do queijo Parmesão, que foi retido da mesma forma na coalhada, embora o gel fique mais frágil nos queijos com leite de alta CCS, o que possibilitaria uma menor retenção de gordura no queijo.

Os queijos de Média e Baixa CCS apresentaram médias de recuperação desejáveis (acima de 85%), segundo BALDINI (1998).

Relatos da literatura indicam que não houve diferença na recuperação de gordura em queijos fabricados com leite com diferentes CCS. Mazal (2005), ao avaliar a recuperação de gordura do leite para o queijo Prato e para o soro, utilizando leite de baixa CCS (< 200.000 cél./mL) e alta CCS (> 600.000 cél./mL) não encontrou diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos, assim como Politis; Ng-Kwai-Hang (1988a), que também não relataram influência da CCS na perda de gordura para o soro.

## 5.8 ANÁLISE DO PERFIL DE TEXTURA

As características de textura dos queijos são determinadas pelas propriedades estruturais combinadas da matriz proteica e dos glóbulos de gordura presentes no meio, sendo esta importante propriedade pela qual o consumidor primeiro identifica e julga a variedade específica do queijo (LOBATO-CALLEROS *et al.*, 2007).

A textura de um queijo é uma das características mais importantes na determinação de sua identidade e qualidade, e dentre os principais fatores que afetam a consistência na maioria das variedades de queijos estão umidade, índice de extensão da proteólise, pH e teor de gordura (BALDINI, 1998).

### 5.8.1 Dureza

A Tabela 26 apresenta os valores médios de dureza encontrados em cada tratamento.

Tabela 26 - Dureza (N) dos queijos Parmesão produzidos com leite em três diferentes níveis de CCS (média  $\pm$  DP).

Tratamentos	Médias
Alta CCS	18,07 $\pm$ 7,44 <sup>A</sup>
Média CCS	17,40 $\pm$ 7,20 <sup>A</sup>
Baixa CCS	17,32 $\pm$ 9,05 <sup>A</sup>

<sup>A,B,C</sup> Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem significativamente entre si ( $P > 0,05$ ), pelo teste de Tukey ( $n=3$ ). Alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL, Média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL, Baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL.

Não houve diferença estatística significativa ( $P > 0,05$ ) para a dureza entre os tratamentos nem para a interação tratamento X tempo, possivelmente devido ao teor de umidade que também não variou, mas houve diferença ( $P < 0,05$ ) para o tempo.

A Figura 14 apresenta os valores médios do da dureza dos queijos ao longo do período de maturação.

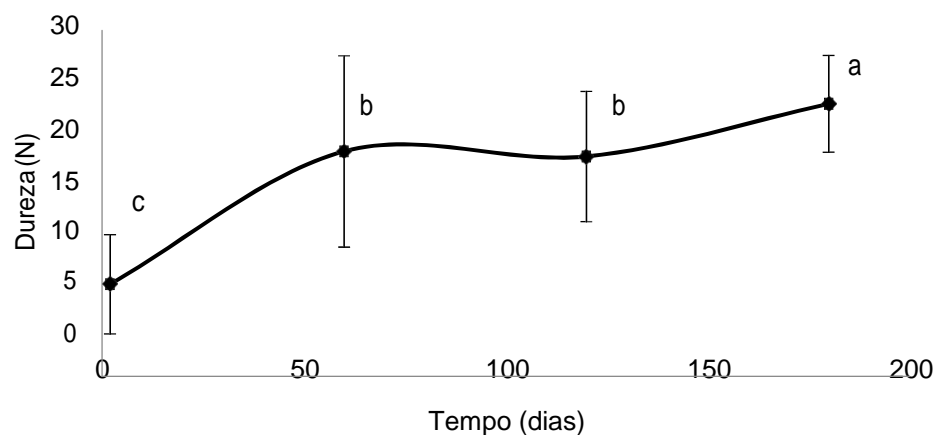


Figura 14. Dureza dos queijos ao longo da maturação. <sup>a,b,c</sup> Médias seguidas pela mesma letra minúscula, não diferem significativamente entre si ( $P < 0,05$ ), pelo teste de Tukey ( $n=3$ ).

Queijos mais úmidos são mais macios, menos duros. Alguns autores observaram a diminuição da dureza devido a uma proteólise mais intensa e maior teor de umidade em diversos tipos de queijos elaborados de leite com alta CCS (MITCHELL *et al.*, 1986; GRANDISSON; FORD, 1986; ARCURI *et al.*, 1990; ROGERS; MITCHELL, 1994). No entanto, o presente estudo está em conformidade com Mazal (2005), que também não observou diferença significativa ( $P > 0,05$ ) na dureza do queijo Prato relacionada com a CCS, ao produzir os queijos com leite contendo 169.667 cél./mL (baixa CCS) e 795.333 cél./mL (alta CCS).

Houve diferença ( $P < 0,05$ ) na dureza com relação ao tempo de maturação. Em queijos duros devido à maturação sem embalagem, que permite a redução da umidade do queijo, além das características próprias do queijo Parmesão, a dureza tende a aumentar com o tempo de maturação. A dureza dos queijos com casca tende a aumentar durante a maturação, uma vez que a perda de

umidade através da casca resulta em um aumento na relação caseína/umidade (DE JONG, 1975; LAWRENCE *et al.*, 1987).

### 5.8.2 Adesividade

A adesividade é definida como o trabalho necessário para superar as forças atrativas entre a superfície do alimento e outras superfícies em que o alimento entra em contato (FOX *et al.*, 2000).

A Tabela 27 apresenta os valores médios de adesividade encontrados para cada tratamento do queijo Parmesão ao longo do período de maturação.

Tabela 27 - Adesividade (J) dos queijos Parmesão produzidos com leite em 3 diferentes níveis de CCS durante a maturação (média  $\pm$  DP).

Maturação (dias)	Tratamento		
	Alta CCS	Média CCS	Baixa CCS
2	$3,57. 10^{-4} \pm 2,46. 10^{-4}$ Bc	$2,03. 10^{-4} \pm 1,28. 10^{-4}$ Bb	$0,89. 10^{-4} \pm 0,28. 10^{-4}$ Bc
60	$10,04. 10^{-4} \pm 2,03. 10^{-4}$ Ba	$9,31. 10^{-4} \pm 2,89. 10^{-4}$ Ba	$7,10. 10^{-4} \pm 1,00. 10^{-4}$ Bb
120	$6,84. 10^{-4} \pm 1,04. 10^{-4}$ Bb	$9,80. 10^{-4} \pm 2,05. 10^{-4}$ BAa	$10,20. 10^{-4} \pm 0,81. 10^{-4}$ Aa
180	$8,95. 10^{-4} \pm 1,02. 10^{-4}$ Ba	$8,83. 10^{-4} \pm 1,42. 10^{-4}$ Ba	$9,05. 10^{-4} \pm 0,94. 10^{-4}$ Ba

A,<sup>a</sup> médias seguidas de letras maiúsculas diferentes nas linhas diferem entre si ( $P < 0,05$ ); médias seguidas de letras minúsculas diferentes nas colunas diferem entre si ( $P < 0,05$ ). Alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL, Média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL, Baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL.

As diferentes CCS ( $P > 0,05$ ) não influenciaram na adesividade dos queijos entre os tratamentos. No entanto, houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) na adesividade dos queijos ao longo do tempo de maturação e na interação tratamento X tempo. A adesividade aumentou no decorrer da maturação. Esses resultados corroboram com os obtidos por Baldini (1998), no qual observou um aumento da adesividade ao longo da maturação do queijo Prato.

Existe uma grande relação da adesividade com a capacidade das proteínas interagirem com a água ou outras proteínas, desta forma a proteólise e a umidade são fatores que influenciam esse indicador (PASTORINO *et al.*, 2003). Observa-se que no estudo houve aumento na extensão da proteólise com o aumento do período de estocagem, o que provavelmente contribuiu com o aumento da adesividade no tempo.

Entre os tratamentos, a adesividade apresentou diferença significativa ( $P > 0,05$ ) apenas aos 120 dias de maturação, onde foi maior para o queijo produzido com leite de baixa CCS. Isso pode

ter ocorrido devido a uma diferença de umidade entre as amostras coletadas, e como a diferença ocorreu apenas nesse período, e não foi observada alteração significativa antes e nem depois dos 120 dias, não se pode afirmar que a CCS influenciou na adesividade dos queijos.

### 5.8.3 Coesividade

A coesividade é definida como a extensão com que um queijo pode ser deformado até que haja ruptura na sua estrutura (FOX *et al.*, 2000).

A Tabela 28 apresenta os valores médios de coesividade encontrados para cada tratamento.

Tabela 28 - Coesividade dos queijos Parmesão produzidos com leite em três diferentes níveis de CCS (média  $\pm$  DP).

<b>Tratamentos</b>	<b>Médias</b>
Alta CCS	0,54 $\pm$ 0,11 <sup>A</sup>
Média CCS	0,53 $\pm$ 0,08 <sup>A</sup>
Baixa CCS	0,57 $\pm$ 0,07 <sup>A</sup>

<sup>A,B,C</sup> Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem significativamente entre si ( $P > 0,05$ ), pelo teste de Tukey ( $n=3$ ). Alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL, Média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL, Baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL.

Não houve diferença estatística significativa ( $P > 0,05$ ) para a coesividade entre os tratamentos, o que significa que não houve interferência das diferentes CCS sobre a coesividade dos queijos.

Contrário ao resultado do presente estudo, Mazal (2005) encontrou diferença significativa ( $P < 0,05$ ), onde o queijo Prato de CCS baixa apresentou, em média, valor maior de coesividade comparado ao queijo de CCS alta, e que isso foi devido à alta umidade que os queijos de alta CCS apresentaram. Segundo Fox; McSweeney (1998), o aumento do teor de umidade no queijo é responsável pela diminuição da firmeza, da elasticidade e pelo aumento da plasticidade do produto. No estudo não foi observado diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para o teor de umidade entre os tratamentos, o que propiciou a coesividade semelhante entre os tratamentos.

A Figura 15 apresenta os valores médios da coesividade dos queijos ao longo do período de maturação.



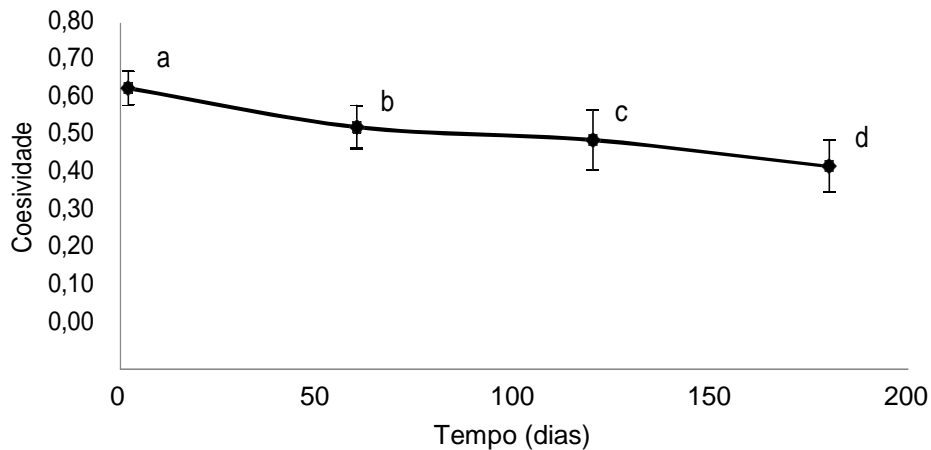


Figura 15. Coesividade dos queijos ao longo da maturação. <sup>a,b,c</sup> Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem significativamente entre si ( $P < 0,05$ ), pelo teste de Tukey ( $n=3$ ).

Houve diferença significativa para o tempo ( $P < 0,05$ ), com uma redução da coesividade em todos os tratamentos, ou seja, os queijos foram ficando mais quebradiços, e esse comportamento foi devido à crescente proteólise dos queijos ao longo da maturação. Baldini (1998) também observou uma ligeira diminuição na coesividade do queijo Prato, onde apresentou valor de 0,60 no início da maturação e 0,55 no final do período, e que isso foi devido ao aumento da proteólise dos queijos no decorrer do tempo.

#### 5.8.4 Elasticidade

A elasticidade é definida como o grau de recuperação da deformação causada a um pedaço de queijo depois que a força de deformação é removida (FOX *et al.*, 2000).

A Tabela 29 apresenta os valores médios de elasticidade encontrados para cada tratamento.

Tabela 29 - Elasticidade (mm) dos queijos Parmesão produzidos com leite em três diferentes níveis de CCS (média  $\pm$  DP).

Tratamentos	Médias
Alta CCS	3,70 $\pm$ 0,97 <sup>A</sup>
Média CCS	3,60 $\pm$ 0,76 <sup>A</sup>
Baixa CCS	3,86 $\pm$ 0,68 <sup>A</sup>

<sup>A,B,C</sup> Médias seguidas pela mesma letra maiúscula não diferem significativamente entre si ( $P > 0,05$ ), pelo teste de Tukey ( $n=3$ ). Alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL, Média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL, Baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL.

A CCS não afetou a elasticidade dos queijos, uma vez que os resultados não apresentaram diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos. No entanto, a elasticidade apresentou diferença significativa ( $P < 0,05$ ) para o tempo, com diminuição do seu valor, causado possivelmente pela perda de umidade dos queijos e atividade proteolítica ao longo da maturação.

A Figura 16 apresenta os valores médios da elasticidade dos queijos ao longo do período de maturação.

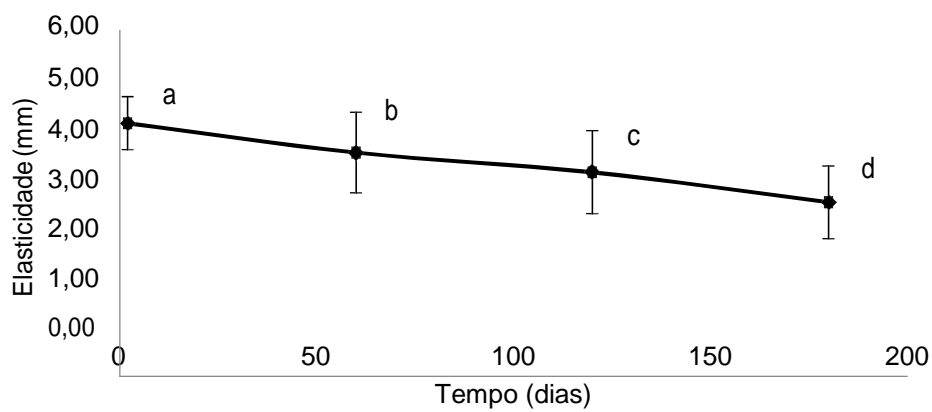


Figura 16. Elasticidade dos queijos ao longo da maturação. <sup>a,b,c</sup> Médias seguidas pela mesma letra minúscula, não diferem significativamente entre si ( $P < 0,05$ ), pelo teste de Tukey ( $n=3$ ).

A ação proteolítica resulta em problemas de textura e perda progressiva da elasticidade em queijos (KINDSTEDT *et al.*, 1993). Segundo Fox; McSweeney (1998), o decréscimo no teor de umidade no queijo é responsável pela diminuição da elasticidade do produto.

### 5.8.5 Mastigabilidade

A mastigabilidade é definida como a energia requerida para mastigar um alimento sólido até a deglutição, sendo esta um parâmetro secundário obtido a partir dos parâmetros adesividade x elasticidade (FOX, 2000).

A Tabela 30 apresenta os valores médios de mastigabilidade encontrados para cada tratamento do queijo Parmesão.

Tabela 30 - Mastigabilidade (J) dos queijos Parmesão produzidos com leite em três diferentes níveis de CCS (média  $\pm$  DP).

Tratamentos	Médias
Alta CCS	0,03 $\pm$ 0,02 <sup>A</sup>
Média CCS	0,03 $\pm$ 0,02 <sup>A</sup>
Baixa CCS	0,04 $\pm$ 0,02 <sup>A</sup>

<sup>A,B,C</sup> Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem significativamente entre si ( $P > 0,05$ ), pelo teste de Tukey ( $n=3$ ). Alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL, Média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL, Baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL.

Não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para mastigabilidade em relação aos tratamentos avaliados, ou seja, a CCS não afetou a mastigabilidade dos queijos. No entanto, houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) para o tempo. A Figura 17 apresenta os valores médios da mastigabilidade dos queijos ao longo do período de maturação. Observa-se um aumento da mastigabilidade dos queijos ao longo do período de maturação. Isso ocorreu devido à dureza do queijo também ter apresentado o mesmo comportamento, com aumento ao longo do tempo, como também pela própria característica do queijo Parmesão, sendo considerado queijo duro e de baixa umidade comparado a outros tipos de queijos.

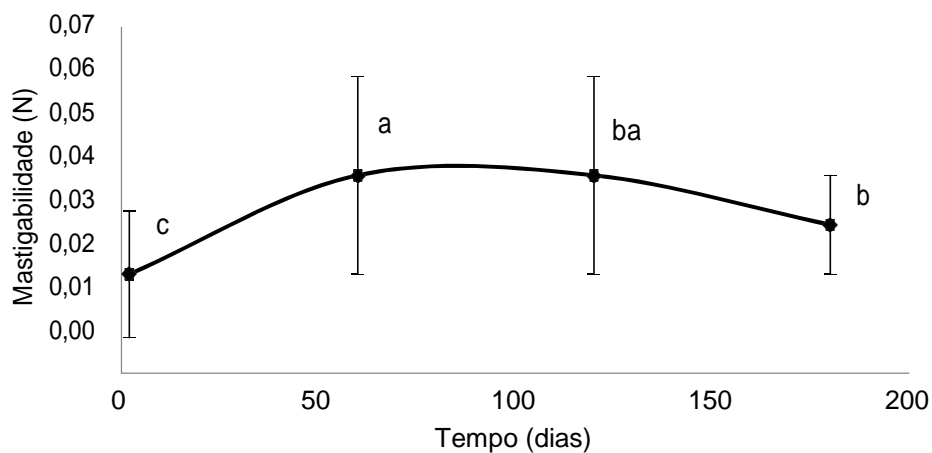


Figura 17. Mastigabilidade dos queijos ao longo da maturação. <sup>a,b,c</sup> Médias seguidas pela mesma letra minúscula, não diferem significativamente entre si ( $P < 0,05$ ), pelo teste de Tukey ( $n=3$ ).

Sendo a dureza definida pela força necessária para atingir uma dada deformação no alimento e a mastigabilidade a energia requerida para desintegrar um alimento sólido até o ponto de engolir,

conclui-se que a dureza tem influência direta na mastigabilidade (GUNASEKARAN; AK, 2003), e que esta aumenta em decorrência do aumento da dureza (TUNICK, 2000).

Semelhantes aos dados encontrados neste estudo, Bertolino *et al.* (2011) observaram no queijo Castelmagno diminuição da coesão e aumento da dureza, mastigabilidade e adesividade durante o processo de maturação, reforçando o efeito da dureza sobre a mastigabilidade do queijo.

## 5.9 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

A legislação brasileira, por meio da Portaria nº 146 de Março de 1996 (BRASIL, 1996), especifica os limites de tolerância e padrões microbiológicos sanitários para queijo de acordo com a umidade desse alimento.

Os resultados obtidos nas análises microbiológicas estão apresentados na Tabela 31.

Tabela 31 - Análise microbiológica dos queijos aos 4 meses de maturação.

Análise microbiológica	Tratamento			Limite máximo exigido pela legislação (BRASIL, 1996)
	Alta CCS	Média CCS	Baixa CCS	
Coliformes 30 °C	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 1000 UFC/g
Coliformes 45 °C	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 500 UFC/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 1000 UFC/g
Fungos				
Filamentosos e leveduras	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	-----
<i>Salmonella</i> sp.	Ausente	Ausente	Ausente	Ausência

Alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL, Média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL, Baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL

Todos os resultados das análises microbiológicas dos queijos aos quatro meses de maturação encontraram-se dentro dos padrões estabelecidos pela legislação brasileira (BRASIL, 1996). Não

existe padrão na legislação para fungos filamentosos e leveduras. No entanto, esses microrganismos são indicadores de qualidade dos produtos alimentícios, por este motivo, foram analisados.

## 5.10 ANÁLISE SENSORIAL

Os resultados obtidos na análise sensorial estão apresentados na Tabela 32.

Tabela 32 - Avaliação sensorial dos queijos Parmesão fabricados com leite em diferentes níveis de CCS (média  $\pm$  DP).

Atributos	Tratamento		
	Alta CCS	Média CCS	Baixa CCS
Aparência	7,40 $\pm$ 0,24 <sup>A</sup>	7,44 $\pm$ 0,18 <sup>A</sup>	6,97 $\pm$ 0,13 <sup>B</sup>
Aroma	7,37 $\pm$ 0,48 <sup>A</sup>	7,14 $\pm$ 0,24 <sup>A</sup>	6,98 $\pm$ 0,22 <sup>A</sup>
Sabor	7,25 $\pm$ 0,57 <sup>A</sup>	6,95 $\pm$ 0,19 <sup>BA</sup>	6,62 $\pm$ 0,27 <sup>B</sup>
Textura	7,30 $\pm$ 0,27 <sup>A</sup>	7,08 $\pm$ 0,42 <sup>BA</sup>	6,79 $\pm$ 0,17 <sup>B</sup>
Aceitação global	7,41 $\pm$ 0,27 <sup>A</sup>	7,09 $\pm$ 0,37 <sup>BA</sup>	6,82 $\pm$ 0,12 <sup>B</sup>

<sup>A,B,C</sup> Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si ( $P > 0,05$ );  $n = 3$ . Alta CCS: 1.150.000 a 1.200.000 células/mL, Média CCS: 550.000 a 600.000 células/mL, Baixa CCS: 200.000 a 250.000 células/mL.

Foram observadas diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) para os atributos analisados, com exceção do aroma. Os escores para aparência foram maiores para os queijos fabricados com leite de alta CCS e média CCS, diferenciando-se dos queijos com baixa CCS. Para sabor, textura e aceitação, os escores foram estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ ) entre os queijos fabricados com leite com alta e baixa CCS, com maiores escores para os de alta CCS. Isso pode ser devido ao maior índice de extensão da proteólise ( $P < 0,05$ ) observado nos queijos produzidos com leite de média e alta CCS. Segundo Fox *et al.* (2000), quanto maior a CSS, maior atividade proteolítica, o que acelerou o processo de maturação do queijo, e conseqüentemente, melhorou o sabor, a aparência, a textura e a aceitação do produto.

Andreatta *et al.* (2009a), em um estudo sobre as características sensoriais do queijo Mussarela produzidos com leite em 3 diferentes níveis de CCS ( $< 200.000$  cél./mL,  $400.000$  cél./mL e  $> 800.000$  cél./mL), não encontraram diferenças ( $P > 0,05$ ) para todos os atributos sensoriais nos queijos. Uma possível explicação para a diferença entre esses resultados e os obtidos no presente estudo, pode ser os diferentes padrões de maturação entre as variedades de queijo, uma

vez que, segundo Fox *et al.*(2000), o queijo Mussarela é liberado para o consumo 2-3 dias após a fabricação, e já o queijo Parmesão neste trabalho, foi maturado por 6 meses. Neste último, o maior período de maturação permitiu uma ação prolongada de enzimas proteolíticas presentes no leite de alta CCS, o que levou a uma maior modificação sensorial do queijo Parmesão comparado ao queijo Mussarela. De acordo com Kasimoglu *et al.* (2004), o efeito da proteólise decorrente do tempo de armazenamento do queijo branco Turco, resultou em um bom sabor do queijo.

A hidrólise da caseína pelo coalho residual retido na massa e pela plasmina promove a mudança da textura na matriz proteica, 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; McSweeney, 2004).

## 6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos quanto à produção do queijo Parmesão com diferentes CCS, levam às seguintes conclusões:

Não altera as características físico-químicas dos queijos, devido ao maior tempo de fabricação para chegar ao ponto da massa e teor de umidade semelhante, mas interfere nessas características ao longo do tempo de maturação.

Ocasiona maior índice de extensão da proteólise ao longo da maturação nos queijos com maior CCS, quando comparado aos de baixa CCS. Porém, não interfere no índice de profundidade da proteólise dos queijos.

Os queijos com alta CCS apresentam rendimento industrial inferior em relação aos de baixa CCS. Porém, a CCS não interfere no rendimento ajustado devido à semelhança no teor de umidade dos queijos causado pelo longo tempo de fabricação.

Os queijos com alta CCS apresentam menor recuperação de proteína para o queijo e, conseqüentemente, maior perda desta para o soro em relação aos de baixa CCS. No entanto, as diferentes CCS no leite, não interferem na recuperação de gordura para o queijo e para o soro.

As diferentes CCS não alteram as características de textura do queijo, quanto à dureza, coesividade, elasticidade e mastigabilidade.

Todos os atributos da análise sensorial, exceto o aroma, apresentam maiores escores para os atributos aparência, sabor, textura e aceitação global para os queijos com maior CCS quando comparado aos de baixa CCS, devido à maior atividade proteolítica que acelera o processo de maturação do queijo.

## REFERÊNCIAS

- ALI, A. E.; ANDREWS, A. T.; CHEESEMAN, G. C. Influence of elevated somatic cell count on casein distribution and cheesemaking. **Journal of Dairy Research**, v.47, p.393–400, 1980.
- ALVES, L. S.; MERHEB-DINI, C.; GOMES, E.; SILVA, R. da; GIGANTE, M. L. Yield, changes in proteolysis, and sensory quality of Prato cheese produced with different coagulants. **Journal of Dairy Science**, v.96, p.7490-7499, 2013.
- ANDREATTA, E. Avaliação da qualidade dos queijos Minas Frescal e tipo Mussarela produzidos com leite contendo diferentes níveis de células somáticas. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo, Pirassununga – SP, 2006.
- ANDREATTA, E. et al. Quality of minas frescal cheese prepared from milk with diferente somatic cell counts. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, p.320-326, 2009.
- ANDREATTA, E., FERNANDES, A. M., SANTOS, M. V., MUSSARELLI, C., MARQUES, M. C. & OLIVEIRA, C. A. F. Composition, functional properties and sensory characteristics of Mozzarella cheese manufactured from different somatic cell counts in milk. **Braz. Arch. Biol. Techn.**, 52, 1235–1242, 2009a.
- ANSA. Associação Nacional dos Servidores da Agricultura. Produção de queijo Parmesão atinge recorde na Itália. 2017. Disponível em: <[http://ansabrasil.com.br/brasil/noticias/italianos/noticias/2017/12/22/producao-de-queijo-parmesao-atinge-recorde-na-italia\\_f5e43424-4d45-4388-87fb-7fa8a3a46744.html](http://ansabrasil.com.br/brasil/noticias/italianos/noticias/2017/12/22/producao-de-queijo-parmesao-atinge-recorde-na-italia_f5e43424-4d45-4388-87fb-7fa8a3a46744.html)>. Acesso em: 27 de janeiro de 2018.
- AOAC (Association Of Official Analytical Chemistry). Official methods of analysis of AOAC international. Washington: AOAC, 1995
- ARCURI, E. F. O. L.; VARGAS, H. M.; SOUZA, E. C.; SANTOS, A. F. Consequências de diferentes níveis de células somáticas no leite sobre a qualidade do queijo Prato. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**. 45:68–76, 1990.
- AULDIST, M. J.; COATS, S.; SUTHERLAND, B. J.; MAYES, J.J.; McDOWELL, G. H.; ROGERS, G.L. Effects of somatic cell count and stage of lactation on raw milk composition and the yield and quality of cheddar cheese. **Journal of Dairy Research**, London, v. 63, n. 2, p. 269-280, 1996.
- AULDIST, M. J. Effects of mastitis on raw milk and dairy products. Proceedings of: **Pacific Congress on Milk Quality and Mastitis Control**, Nagano, Japan, p.191–204, 2000.
- BALDINI, V. L. S. Proteólise em queijo tipo prato durante a maturação. Tese (Doutorado), Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, 1998.
- BANKS, J. M. Cheese yield. Pages 100–114 in *Cheese Problems Solved*. P. L. H. McSWEENEY, ed. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, UK, 2007.



- 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**, v. 74, n. 1, p. 369–388, 1991.
- BARROS, J. J. C.; AZEVEDO, A. C.; FALEIROSJÚNIOR, L. R.; TABOGA, S. R.; PENNA, A. L. B. Queijo Parmesão: caracterização físico-química, microbiológica e microestrutura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, p. 94-285, 2011.
- BARRY, A. L.; TAMIME, A.Y. Factors affecting the quality of milk for cheese manufacture. In: BARRY, A. L.; TAMIME, A.Y. **Technology of Cheesemaking**. State Avenue, USA: Blackwell Publishing Ltd, 2010. pag. 34-43.
- BELLESIA, F.; PINETTI, A.; PAGNONI, U. M.; RINALDI, R.; ZUCCHI, C.; CAGLIOTI, L.;PALYI, G. Volatile components of Grana Parmigiano Reggiano type hard cheese. **Food Chemistry**, v. 83, p. 55-61, 2003.
- BELLI, C. Z. P. et al.. Qualidade do leite cru refrigerado obtido em unidades produtivas no Sudoeste do Paraná. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 16, n. 2, p. 109-120, 2017.
- BENTLEY INSTRUMENTS. **Somacount 300**: operator´s manual. Chaska, 1995a.p.12.
- BENTLEY INSTRUMENTS. **Bentley 2000**: operator´s manual. Chaska, 1995b.p.77.
- BENTLEY INSTRUMENTS. **Bactocount 150**: operator´s manual. Chaska, 2004.p.35.
- BERESFORD, T. P.; FITZSIMONS, N. A.; BRENNAN, N. L.; COGAN, T. M. Recent advances in cheese microbiology. **International Dairy Journal**, v.11, n. 4-7, p. 259-274, 2001.
- BERGLUND, I.; PETTERSON, G.; OSTENSSON, K.; SVENNERSTEN-SJAUNJA, K. Quarter milking for improved detection of increased SCC. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 42, p. 427-432, 2007.
- BERTOLINO, M. *et al.*. Evolution of chemical-physical characteristics during manufacture and ripening of Castelmagno PDO cheese in winter time. **Food Chemistry**, v. 129, n. 3, p. 1001-1011, 2011.
- BLOWEY, R.; EDMONDONSON, P. **Mastitis Control in Dairy Herds**, 2 Ed. London: CAB international, p. 266, 2010.
- BOERMAN, J. P.; LOCK, A. L. Effect of un saturated fatty acids and triglycerides from soy bean son milk fat synthesis and bio hydrogenate on intermediates in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 11, p. 7031-7042, 2014.
- BOTELHO, B. G.; REIS, N.; OLIVEIRA, L. S.; SENA, M. M. Development and analytical validation of a screening method for simultaneous detection of five adulterants in raw milk using mid-infrared spectroscopy and PLS-DA. **Food Chemistry**, v. 181, p. 31-37, 2015.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 146, de 07 de março de 1996. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 7 mar. 1996.

BRASIL. Portaria n.353, de 4 de setembro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Queijos Parmesão, Parmesano, Sbrinz, Reggiano e Reggiano. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 4 set. 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 37, de 18 de abril de 2002. Instituir a Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite, com o objetivo de realizar análises laboratoriais para fiscalização de amostras de leite cru, recolhidas em propriedades rurais e em estabelecimentos de laticínios. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 19 abr. 2002a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Dispõe sobre regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte de leite. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília (DF), 20 Set. 2002b.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº62, de 26 de Agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 26 ago. 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. Instrução Normativa n. 68, de 12 de dezembro de 2006. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 14 de dezembro de 2006, Seção 1, Página 8.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite Cru Refrigerado. In: BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 29 dez. 2011. Seção 1, p.1-2-13, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite Cru Refrigerado. In: BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 7, de 3 de maio de 2016. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 04 de mai. 2016. Seção 1, p. 11, 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários .2017. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/rede-nacional-de-laboratorios-agropecuarios/qualidade-do-leite>>. Acesso em: 07 de janeiro de 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite Cru Refrigerado. In: BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018. **Diário Oficial da União**, Brasília, 30 de nov. 2018. Edição 230, Seção 1, p. 9, 2018a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru e estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial. In: BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 77, de 26 de novembro de 2018. **Diário Oficial da União**, Brasília, 30 de nov. 2018. Edição 230, Seção 1, p. 10, 2018b.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Requisitos e procedimentos necessários para o registro das provas zootécnicas e elaboração dos projetos técnicos. In: BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 78, de 26 de novembro de 2018. **Diário Oficial da União**, Brasília, 30 de nov. 2018. Edição 230, Seção 1, p. 13, 2018c.

BROMBERG, R.; MORENO, I.; ZAGANINI, C. L.; DELBONI, R. R.; OLIVEIRA, J. Isolation of bacteriocin-producing lactic acid bacteria from meat products and its spectrum of inhibitory activity. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 35, n. 1-2, p. 137-144, Jan-June 2004.

CABEZAS, L.; SANCHES, I.; POVEDA, J. M.; SESEÑA, S.; PALOP, M.L.L. Comparison of microflora, chemical and sensory characteristics of artisanal Manchego cheeses from two dairies. **Food Control**, 2005.

CABRAL, J. F.; SILVA, M. A. P. da; CARVALHO, T. S.; BRASIL, R. B.; GIOVANNINI, C. I.; NEVES, R. B. S. Composição química do leite refrigerado em função das contagens de células somáticas e contagem bacteriana total. **Ciência Animal**, v.26, n.2, p.03-12, 2016.

CASSOLI, L. D. Validação da metodologia de infravermelho com transformada de Fourier para identificação de adulteração em leite cru. Phd Thesis, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, University of São Paulo. Piracicaba, SP, 2010.

CASSOLI, L. D.; SARTORI, B.; ZAMPAR, A.; MACHADO, P. F. Na assessment of Fourier Transform Infrared spectroscopy to identify adulterated raw milk in Brazil. **International Journal of Dairy Technology**, v. 64, p. 480-485, 2011.

CASSOLI, L. D. Prorrogaram a IN-62. E agora?, 2016. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/colunas/clinica-do-leite/prorrogaram-a-in62-e-agora-205983n.aspx>. Acesso em: 05 de janeiro de 2018.

CARVALHO, G. R. **A indústria de laticínios no Brasil: passado, presente e futuro**. Circular Técnica 102. Juiz de Fora: Embrapa leite, 2010.

CASTAÑEDA, R.; BORBONET, S.; IBARRA, A.; IPAR, J. L.; VÁSQUEZ, A. M.; CONTRERAS, C. B.; PURTSCHERT, N.; ALFONSO, R. **Quesos de América Del Sur**. Buenos Aires: Albatros, 2010.

CLAL. **Mercato Lattiero Ceseario**. 2013. Disponível em: <<http://www.clal.it/en/index.php?section=riepilogo>>. Acesso em: 07 de janeiro de 2018.

CLÍNICA DO LEITE – ESALQ/USP. **Leite Stat – Sistema de informação para gestão da qualidade do leite No. 003. Piracicaba, 2011**. Disponível em: <<https://www.clinicadoleite.com.br/manuaiseplanilhas/>>. Acesso em: 01 out. 2018.

COELHO, K. O. **Efeito do nível de células somáticas no leite sobre o rendimento de queijo tipo Mussarela**. 2007. 56f. Tese de Doutorado. Escola de Veterinária - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás.

COELHO, K. O.; MESQUITA, A. J.; MACHADO, P. F.; OLIVEIRA, A. N.; SOUZA, C. M.; MEYER, P. M. Níveis de células somáticas sobre a proteólise do queijo Mussarela. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 13, n. 3, p. 682-693, 2012.

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.

CRUZ, A. G. da (org.); SÁ, P. B. Z. de; OLIVEIRA, C. A. F.; CORASSIN, C. H. **Química, bioquímica, análise sensorial e nutrição no processamento de leite e derivados**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

CUNHA, R. P. L. et al.. Mastite subclínica e relação da contagem de células somáticas com número de lactações, produção e composição química do leite em vacas Holandesas. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p.19-24, 2008.

DE JONG, L. A quantitative electrophoretic method of studying cheese ripening. **Netherlands Milk and Dairy Journal**, Wageningen, v. 29, n. 2/3, p. 162-168, 1975.

DE ROEST, K.; MENGHI, A. Reconsidering Traditional Food: The Case of Parmigiano Reggiano Cheese. **Sociologia Ruralis**, v. 40, p. 51-439, 2000.

DEL PRATO, O. S. Trattato di Tecnologia Casearia. Calderini Edagricole, Bolonha, Itália, 2001.

DUTRA, E. R. P. Introdução. In: DUTRA, E. R. P. **Fundamentos básicos da produção de queijo**. Juiz de Fora: Templo, 2017a. cap. 1, p. 13-18.

DUTRA, E. R. P. Tecnologias de Produção. In: DUTRA, E. R. P. **Fundamentos básicos da produção de queijos**. Templo, 2017b. cap. 8, p. 205-212.

EYLES, M. Raw milk cheese: The issues. **The Australian Journal of Dairy Technology**, v.47, n.7, p.102-105, 1992.

FERNANDES, A. M. et al.. Casein fractions of ultra-high temperature milk with different somatic cell counts. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.1, p.149-152, 2008.

FERREIRA, D. F. Sisvar – Sistema de Análise de Variância. Lavras. UFLA, 1999.

FORSBACK, L.; LINDMARK-MÁNSSON, A.; ANDRÉN, A.; AKERSTEDT, M.; SVENNERSTEN-SJAUNJA, K. Udder quarter milk composition at different levels of somatic cell count in cow composite milk. **Animal: an International Journal of Animal Bioscience**, v. 3, p. 710-717, 2009.

FORSBACK, L. **Bovine Udder quarter milk relation to somatic cell count**. 2010. 70 p. Tese – Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Swedish University of Agricultural Sciences, Switzerland, 2010a.

FORSBACK, L.; LINDMARK-MÁNSSON, H.; ANDRÉN, A.; SVENNERSTEN-SJAUNJA, K. Evaluation of quality changes in udderquartermilkfromcowswithlow-to-

moderatesomaticcellcounts. **Animal: an International Journal of Animal Bioscience**, v. 4, p. 617-26, 2010b.

FORSBACK, L.; LINDMARK-MÁNSSON, H.; ANDRÉN, A.; AKERSTEDT, M.; ANDRÉE, L.; SVENNERSTEN-SJAUNJA, K. Day-to-day variation in milk yield and milk composition at the udder-quarter level. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 3569-77, 2010c.

FORSYTHE, S. J. **The microbiology of safe food**. 2<sup>a</sup> ed. London, Wiley-Blackwell, 2010. 476 p.

FOX, P.F; MCSWEENEY, P.L.H. Dairy chemistry and biochemistry. London: **Blackie Academic and Professional**, p.478, 1998.

FOX, P. F., GUINNE, T. P., COGAN, T. M., & MCSWEENEY, P. L. H. **Fundamentals of cheese science**. Gaithersburg, MD, USA: Aspen Publishers, 2000. 587 p.

FRANCESCHI, P.; FORMAGGIONI, P.; MALACARNE, M.; SUMMER, A.; FIENI, S.; MARIANI, P. Variations of nitrogen fractions, proteolysis and rennet-coagulation properties of milks with different somatic cell values. **Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia**, 54, p. 301–310, 2003.

FRANCO, B. D. G; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. Rio de Janeiro: Atheneu, 2004. 182 p.

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

FURTADO, M. M. Fundamentos originais dos queijos grana italianos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 66, n. 378, p. 40-50, 2011a.

FURTADO, M. M. **Queijos duros**. São Paulo: Ed. Setembro, 2011b.

FURTADO, M. M. Queijo Parmesão: Características e Principais Problemas de Elaboração. In: FURTADO, M. M. **Principais Problemas dos Queijos: Causas e Prevenção**. 3<sup>a</sup> Edição. São Paulo, SP, Brasil: Setembro Editora, 2017. Capítulo 10, página 212-213.

GARGOURI, A.; HAMED, H.; ELFEKI, A. Total and differential bulk cow milk somatic cell counts and their relation with lipolysis. **Livestock Science**, v.113, n.2, p.274-279, 2008.

GEARY, U.; LOPEZ-VILLALOBOS, N.; GARRICK, D.; SHALLOO, L. Spring calving versus split calving: Effects on farm, processor and industry profitability for the Irish dairy industry. **Journal of Agricultural Science**, v.152, p.448-463, 2013.

GIFFEL, M. C.; HORST, H. C. V. D. Comparison between bactofugation and microfiltration regarding efficiency of somatic cell and bacteria removal. **Bulletin of the International Dairy Federation**, v. 389, p. 49-53, 2004.

GRANDISSON, A. S.; FORD, G. D. Effects of variations 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**, London, v. 53, n. 4, p. 645-655, 1986.

GUARIGLIA, B. A. D.; SANTOS, P. A.; ARAÚJO, L. S.; GIOVANNINI, C. I.; NEVES, R. B. S.; NICOLAU, E. S.; SILVA, M. A. P. Effect of the somatic cell count on physico-chemical components of milk from crossbred cows. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi Kenya, v. 14, n. 17, p. 1519-1524, 2015.

GUINEE, T. P.; FOX, P. F. Salt in cheese: Physical, chemical and biological aspects. In: P. F. FOX, **Cheese: Chemistry, physics, and microbiology**. London: Chapman & Hall, 2004. v 1, 3. ed., p. 207–225.

GUINEE, T. P. Salting and the role of salt in cheese. **International Journal of Dairy Technology**, v. 57, n. 2/3, p. 99-109, 2004.

GUNASEKARAN, S.; AK, M. M. **Cheese Rheology and Texture**. CRC Press LLC, Florida, 2003, 637p.

HARMON, R. J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **J. Dairy Sci.**, v. 77, n. 12, p. 2103, 1994.

HAMANN, J.; KROMKER, V. Potential of specific milk composition variables for cow health management, **Livest. Prod. Sci.**, v. 48, n. 8, p. 201, 1997.

HARTMANN, W. **Características físico-químicas, microbiológicas, de manejo e higiene na produção de leite bovino na região oeste do Paraná: ocorrência de *listeria monocytogenes***, Curitiba, PR, 2009. Tese de Doutorado - Curso de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, 2009.

HECK, J. M. L.; SCHENNINK, A.; VAN VALENBERG, H. J.; BOVENHUIS, H.; VISKER, M. H.; VAN ARENDONK, J. A.; VAN HOOIJDONK, A. C. Effects of milk protein variants on the protein composition of bovine milk. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 1192-1202, 2009a.

HECK, J. M. L.; VAN VALENBERG, H. J. F.; DIJKSTRA, J.; VAN HOOIJDONK, A. C. Seasonal variation in the Dutch bovine raw milk composition. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 4745-55, 2009b.

HICKEY, D. K.; GUINEE, T.P.; HOU, J.; WILKINSON, M. G. Effects of variation in cheese composition and maturation on water activity in Cheddar cheese during ripening. **International Dairy Journal**, v.30, p. 53-58, 2013.

HOLT, C. The Milk Salts and their interaction with casein. In: FOX, P. F. (ed.) **Developments in Dairy Chemistry**, vol. 3: Lactose, Water, Salts and Vitamins. London: Chapman & Hall, 1997. p. 233-254.

JAEGGI, J. J.; GOVINDASAMY, L. S.; BERGER, Y. M.; JOHNSON, M. E.; MCKUSICK, B. C.; THOMAS, D. L.; WENDORFF, W. L. Hard ewe's milk cheese manufactured from milk of three different groups of somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, 86, p. 3082–3089, 2003.

JAY, J. M. **Modern Food Microbiology**. Gaithersburg: Aspen, 2005. 854p

JONES, L. V.; PERYAM, D. R.; THURSTONE, L. L. Development of a scale for measuring soldiers food preferences. **Food Research**, v. 20, n. 4, p. 512-520, 1955.

KALIT, S.; LUKAC HAVRANEC, J.; KAPS, M. Plasminogen activation and somatic cell count (SCC) in cheese milk: influence on Podravec cheese ripening. **Milchwissenschaft**, Munich, v. 57, n. 7, p. 380-382, 2002.

KALIT, S.; MATIC, A.; SALAJPAL, K.; SARIC, Z. Proteolysis of Livanjski cheese during ripening. **Journal of Central European Agriculture**, v.17, n.4, p.1320-1330, 2016.

KASIMOGLU, A. GÖNCUOGLU, M. AKGUN, S. Probiotic White cheese with *Lactobacillus acidophilus*. **International Dairy Journal**, v.14, p.1067-1073, 2004.

KELLY, A. L.; MCSWEENEY, P. L. H. Indigenous proteinases in milk. *Advanced Dairy Chemistry*.v.1, p.494–519, 2002.

KELLY, A. L. Milk biochemistry. In: GRIFFITHS, W. **Improving the safety and quality of milk: Volume 1, Milk production and processing**, 1 ed. Cambridge: Woodhead, cap. 1, p. 2-26, 2010.

KINDSTEDT, P. S. Effect of manufacturing factors, composition and proteolysis on the functional characteristics of mozzarella cheese. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v.33, p.167-187, 1993.

KLEI, L. J.; YUN, A.; SAPRU, J.; LYNCH, D. M.; BARBANO, P. Effects of milk somatic cell count on cottage cheese yield and quality. **J. Dairy Sci.** 81:1205–1213, 1998.

KOBLITZ, M. G. B. **Matérias primas alimentícias: composição e controle de qualidade**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

KOKKONEN, T. Investigation of sources of variation in the effect of prepartum protein supplementation on early lactation performance of dairy cows. **Livestock Science**, v. 163, p. 41-50. 2014.

LAPIERRE, H.; LOBLEY, G. E.; DOEPEL, L.; RAGGIO, G.; RULQUIN, H.; LEMOSQUET, S. Triennial Lactation Symposium: Mammary metabolism of amino acids in dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 1707-1721, 2012.

LAWRENCE, R. C.; CREAMER, L. K.; GILLES, J. Texture development during cheese ripening. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 70, n. 8, p. 1748-1760, 1987.

LEITNER, G.; KRIFUCKS, O.; MERIN, U.; LAVI, Y.; SILANIKOVE, N. Interactions between bacteria type, proteolysis of casein and physico-chemical properties of bovine milk. **International Dairy Journal**, v. 16, p. 648-654, 2006.

LE MARÉCHAL, C.; THIÉRY, R.; VAUTOR, E.; LE LOIR, Y. Mastitis impact on technological properties of milk and quality of milk products a review. **Dairy Science and Technology**, v. 91, p. 247-282, 2011.

LITWINCZUK, Z. et al.. Changes of protein content and its fractions in bovine milk from different cowbreeds subject to somatic cell count. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 2, p. 684-691, 2011.

LOBATO-CALLEROS, C.; REYES-HERNÁNDEZA, J.; BERISTAINB, C. I.; HORNELAS-URIBEC, Y.; SÁNCHEZ-GARCÍAD, J. E.; VERNON-CARTER, E. J. Microstructure and texture of white fresh cheese made with canola oil and whey protein concentrate in partial or total replacement of milk fat. **Food Res. Int.** v. 40, p. 529-537, 2007.

MAGALHÃES, H. R. et al.. Influência de fatores de ambiente sobre a contagem de células somáticas e sua relação com perdas na produção de leite de vacas da raça Holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 2, Apr. 2006.

MAGDIĆ, V.; KALIT, S.; FUKA, M. M., SKELIN, A.; SAMARŽIJA, D.; REDŽEPOVIĆ, S.; HAVRANEK, J. A survey on hygienic and physicochemical properties of Istrian cheese. **Mljekarstvo**, v.63, n.2, p.55-63, 2013.

MALACARNE, M.; SUMMER, A.; FRANCESCHI, P.; FORMAGGIONI, P.; PECORARI, M.; PANARI, G.; MARIANI, P. Free fatty acid profile of Parmigiano-Reggiano cheese throughout ripening: Comparison between the inner and outer regions of the wheel. **International Dairy Journal**, v. 19, p. 637, 2009.

MARCOS, A.; ALCALA, M.; LEON, F.; FERNANDEZ, J. S.; ESTEBAN, M. A. Water Activity and Chemical Composition of Cheese. **Journal Dairy Science**, v.64: p.622-626, 1981.

MARINO, R. T.; CONSIDINE, A.; SEVI, P. L. H.; MCSWEENEY; KELLY, A. L. Contribution of proteolytic activity associated with somatic cells in milk to cheese ripening. **Int. Dairy J.**15:1026–1033, 2005.

MATIOLI, G. P.; PINTO, S. M.; DE ABREU, L. R.; XAVIER, L.; TEIXEIRA, L. A. M. Influência do leite proveniente de vacas mastíticas no rendimento de queijo Minas frescal. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora*, v. 54, n. 313, p. 38-45, 2000.

MAZAL, G. Efeito da contagem de células somáticas do leite na fabricação do queijo Prato. *Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas – SP*, 2005.

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**, Champaign, v.90, p.630-636, 2007.

McSWEENEY, P. L. H. e SOUSA, M. J. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: a review. **Le Lait**, v. 80, p. 293 – 324, 2000.

McSWEENEY, P. L. H. Biochemistry of cheese ripening. **International Journal of Dairy Technology**, v. 57, n. 4, p.127-144, 2004.

McSWEENEY, P. L. H. Preparation of cheese milk. In: KELLY, A. L. **Cheese problems solved**. Cambridge, Inglaterra: Woodhead Publishing Limited, 2007. p. 16.

MIRAGLIA, D.; RANUCCI, D.; VALIANI, A.; MARINUCCI, M. T.; ACUTI, G.; SERVILI, M.; ESPOSTO, S.; BRANCIARI, R. Influenza del contenuto in cellule somatiche del latte ovino sulle caratteristiche sensoriali di formaggio Pecorino. **Large Animal Review**. V.20: p.35-39, 2014.



- MITCHELL, G. E.; FREDRICK, 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. **The Australian Journal of Dairy Technology**, Victoria, v. 41, n. 1, p. 12-14, 1986.
- MONFREDINI, L.; SETTANNI, L.; POZNANSKI, E.; CAVAZZA, A.; FRANCIOSI, E. The spatial distribution of bacteria in Grana-cheese during ripening. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 35, p. 54-63, 2012.
- MONTEIRO, A. A.; PIRES, A. C dos S.; ARAÚJO, E. A. **Tecnologia de produção de derivados do leite**. Minas Gerais: UFV, 2011.
- MUCCHETTI, G.; NEVIANI E. Microbiologia e tecnologia lattiero-casearia: qualità e sicurezza. Tecniche Nuove, Milão, Itália, 2006.
- MUNRO, G. L.; GRIEVE, P. A.; KITCHEN, B. J. Effects of mastites on milk yield, milk composition, processing properties and yield and quality of milk products. Aust. **Journal Dairy Technol.**, v.39, p.7-16, 1984.
- NG-KWAI-HANG, F. K.; HAYES, I. F.; MOXLEY, I. E., MONARDES, H. G. Environmental influences on protein content and composition of bovine milk. *Journal of Dairy Science*, v. 65, n. 10. p. 1993-8, 1993.
- NERO, L. A.; VIÇOSA, G. N.; PEREIRA, F. E. V. Qualidade microbiológica do leite determinada por características de produção. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 5, 2009.
- NEVIANI, E. et al.. New developments in the study of the microbiota of raw-milk, long-ripened cheeses by molecular methods: the case of Grana Padano and Parmigiano Reggiano. **Frontiers in Food Microbiology**, v. 4, n. 36, p. 1- 14, 2013.
- O'BRIEN, B., MEANEY, W. J.; MCDONAGH, D.; KELLY, A. Influence of somatic cell count and storage interval on composition and processing characteristics of milk from cows in late lactation. **Australian Journal Dairy Technology**, v.56, p.213-218, 2001.
- O'BRIEN, B.; GALLAGHER, B.; JOYCE, P.; MEANEY, W. J.; KELLY, A. Milk SCC and PMN as indicators of milk processability and subsequent cheese quality. **Proceedings of the European Association of Animal Production Annual Meeting**, Bled, Slovenia, Session code: C6. 12 Abstract nº 365. 2004.
- OGUNBANWO, S. T.; SANNI, A. I.; ONILUDE, A. A. Influence of cultural conditions on the production of bacteriocin by *Lactobacillus brevis* OG1. **African Journal of Biotechnology**, v. 2, n. 7, p. 179-184, 2003.
- OLIVEIRA, C. A. F.; FONSECA, L. F. L.; GERMANO, P. M. L. Aspectos relacionados à produção, que influenciam a qualidade do leite. **Higiene Alimentar**, v. 13, n. 62, p. 10-16, 1999.
- PALMQUIST, D. L.; BEAULIEU, A. D.; BARBANO, D. M. ADSA Foundation Symposium: milk fat synthesis and modification. Feed and Animal Factors Influencing Milk Fat Composition. **Journal of Dairy Science**, p.76:1753-1771, 1993.

- PALMQUIST, D. L. Great discoveries of milk for a healthy diet and a healthy life. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 465-477, 2010.
- PANARI, G.; MARIANI, P.; SUMMER, A.; GUIDETTI, R.; PECORARI, M. Variazione della composizione e andamento della proteolisi del Parmigiano Reggiano nel corso della maturazione in riferimento al profilo della forma. **Scienza e Tecnica Lattiero Casearia**, v. 54, p.199-212, 2003.
- PASTORINO A. J. *et al.* Effect of salt on the structure-function relationships of cheese. **Journal of Dairy Science**. v. 86, n.2, p. 60-69, 2003.
- PEREIRA, A. R.; PRADA e SILVA, L. F.; MOLON, L. K.; MACHADO, P. F.; BARANCELLI, G. Efeito dos níveis de células somáticas sobre os constituintes do leite I-gordura e proteína. **Braz J. vet. Res. anim. Sci.**, São Paulo, v. 36, n. 3. p. 121-124, 1999.
- PEREIRA, D. B. C.; SILVA, P. H. F.; COSTA JÚNIOR, L. C. G.; OLIVEIRA, L. L. **Físico-química do leite e derivados: métodos analíticos**. 2. ed. ampl. e rev. Juiz de Fora: Templo Gráfica e Editora, 2001. p.234.
- PEREIRA, P. C. Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutrition*, 30:619-627, 2014.
- PINTO, M. S., FARIA, J. E., MESSAGE, D., CASSINI, S. T. A., PEREIRA, C. S., GIOSO, M. M. Efeito de extratos de própolis verde sobre bactérias patogênicas isoladas do leite de vacas com mastite. **Journal: Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 2001.
- PIRISI, A.; PIREDDA, G.; CORONA, M.; PINTUS, S.; LEDDA, A. Influence of somatic cell count on ewe's milk composition, cheese yield and cheese quality. Proc. Great Lakes Dairy Sheep Conference. **Istituto Zootecnico e Caseario per la Sardegna**, Olmedo, Italy, 2000.
- PIRISI, A.; RIU, G.; SCINTU, M.F.; GALISTU, G.; PIREDDA, G.; SCANO, B.; PALA, A.; MARONGIU, E.; FADDA, A. Sopravvivenza di batteri patogeni in formaggio Pecorino Romano. **Istituto Zootecnico e Caseario per la Sardegna**, Olmedo, Italy, 2004.
- POLITIS, I.; NG-KWAI-HANG, K. F. Association between somatic cell count of milk and cheese-yielding capacity. **Journal of Dairy Science**.71:1720–1727, 1988.
- POLITIS, I.; NG-KWAI-HANG, K. F. Effects of somatic cell count and milk composition on cheese composition and cheese making efficiency. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 71, n. 7, p. 1711-1719, 1988a.
- RADOSTITS, O. M., GAY, C. C., BLOOD, D. C., HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária – Um tratado de Doenças dos Bovinos, Suínos, Caprinos e Equinos**. 9ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 541-629.
- RAWDAT, A. M.; OMAIMA, M. M.. Some biochemical changes in serum and milk of mastitic buffaloes. **Egyptian J. Agric. Res.**, v. 78, n.47, p.1737, 2000.
- REPS, A. et al.. Natamycin in ripening cheese. **Pakistan Journal of Nutrition**. v. 1, n. 5, p. 243-247, 2002.

REVILLA, I.; RODRIGUES-NOGALES, J. M.; VIVAR-QUINTANA, A. M. Effect of the somatic cells on the protein profile of hard ovine cheese produced from different breeds. **Journal Dairy Research**, v.78, p.279-286, 2011.

RIBEIRO, M. E. R., PETRINI, L. A. AITA, M. F., BALBINOTTI, M. Relação entre mastite clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na região sul do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 9, n. 3, p.287-290, 2003.

RIBEIRO, J. C. B.; CARDOSO, C. R.; ESMERINO, L. A.; SANTOS, R. D.; DEMIATE, I. M.; NOGUEIRA, A. Qualidade físico-química e microbiológica do queijo Parmesão ralado comercializado em Ponta Grossa, Paraná. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, p. 9-21, 2012.

RIGUEIRA, J. C. S. Influência da contagem de células somáticas no perfil e teores de aminos bioativas e na qualidade de leite cru e de queijo mussarela. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Belo Horizonte – MG, 2010.

RODRIGUES, R. M. C. Transporte de leite no Brasil: avanços, desafios e tendências, 2015. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/industria/cadeia-do-leite/giro-de-noticias/transporte-de-leite-no-brasil-avancos-desafios-e-tendencias-97640n.aspx>>. Acesso em: 04 de Janeiro de 2018.

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

ROMA JÚNIOR, L. C. et al.. Sazonalidade do teor de proteína e outros componentes do leite e sua relação com programa de pagamento por qualidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n.6, p. 1411-1418, 2009.

ROMANI, S.; SACCHETTI, G.; PITTIA, P.; PINNAVAIA, G. G.; DALLA ROSA, M. Physical, chemical, texture and sensorial changes of portioned Parmigiano Reggiano cheese packed under different conditions. **Food Science and Technology International**, v. 8, n. 4, p. 203-211, 2002.

ROSA, L. S.; Queiroz, M. I.; Augusto, M. M. M. Efeito da pré-fermentação e ultrafiltração nas características físico-químicas do queijo tipo prato. **Alimentação e Nutrição**. 21:119-128. 2010.

RULIKOWSKA, A. *et al.* The impact of reduced sodium chloride content on Cheddar cheese quality. **International Dairy Journal**, v.28, n.1, p.45-55, 2013.

SANTOS, M. V.; CAPLANZ, M. Y.; BARBANO, D.M. Effect of Somatic Cell Count on Proteolysis and Lipolysis in Pasteurized Fluid Milk During Shelf-Life Storage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.90, n.8, p.2491-2503, 2003.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para o controle da mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri: Manole. 2006. 314p.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. 1. Ed. Barueri: Manole. 2007. 314p.

SANTOS, M. V.; OLIVEIRA, C. A. F.; LIMA, Y. V. R.; BOTARO, B. G. Efeito da remoção de células somáticas pela microfiltração sobre a lipólise do leite. **Braz. J. vet. Res. anim. Sci.**, são Paulo, v. 44, n.5, p. 315-321, 2007.

SANTOS, M. V. Padrões mínimos de qualidade do leite: é necessária uma nova revisão da IN 62?, 2014. Disponível em:

<[https://www.milkpoint.com.br/mypoint/6239/p\\_padroes\\_minimos\\_de\\_qualidade\\_do\\_leite\\_e\\_necessaria\\_uma\\_nova\\_revisao\\_da\\_in\\_62\\_5597.aspx](https://www.milkpoint.com.br/mypoint/6239/p_padroes_minimos_de_qualidade_do_leite_e_necessaria_uma_nova_revisao_da_in_62_5597.aspx)>. Acesso em: 07 de Janeiro de 2018.

SANTOS, C. L. A. dos. **Caracterização de segurança e tecnológica de bactérias acidoláticas termofílicas autóctones e aplicação em queijo Parmesão**. 2015. Dissertação – Instituto de Biociência, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto.

SCOT CONSULTORIA. 2013. Produção de queijos no Brasil deve ultrapassar 1,0 milhão de toneladas em 2013. Disponível em:<<http://www.scotconsultoria.com.br/noticias/artigos/28592/producao-dequeijos-no-brasil-deve-ultrapassar-10-milhao-de-toneladasem-2013.htm>>. Acesso em: 07 de Janeiro de 2018.

SHARMA, N.; SINGH, N. K.; BHADWAL, M. S. Relationship of Somatic Cell Count and Mastitis: An Overview. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 24, p. 429-438, 2011.

SINDILAT - Sindicato da Indústria de Laticínios e Produtos Derivados. 2018. Instruções normativas aprovam regulamentos para qualidade do leite. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/noticias-e-mercado/giro-noticias/dou-instrucoes-normativas-qualidade-do-leite-211506/>>. Acesso em: 26 de Janeiro de 2019.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo, Varela, 295 p., 1997.

SILVA, Fernando Teixeira. Queijo Parmesão. 1. ed. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, 2005. 56p.

SILVA, M. V. M.; NOGUEIRA, J. L.; PASSOS, C. C.; FERREIRA, A. O.; AMBRÓSIO, C. E. A mastite interferindo no padrão de qualidade do leite: uma preocupação necessária. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, v. 8, n. 14, p. 1-10, 2010.

SOMERS, J. M.; O'Brien, B.; MEANEY, W. J.; KELLY, A.L. Heterogeneity of proteolytic enzyme activities in milk samples of different somatic cell count. **Journal of Dairy Research**, v.70, p.45–50, 2003.

SOUZA, E. C. Ocorrência e identificação de fungos deteriorantes e potencialmente produtores de micotoxinas durante o processamento e maturação do queijo Parmesão. Dissertação (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos). **Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro**, Uberaba, 2014.

SPADOTI, L. M.; DORNELLAS, J. R. F.; PETENATE, A. J.; ROIG, S. M. Avaliação do rendimento do queijo tipo Prato obtido por modificações no processo tradicional de fabricação. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, p. 492-499, 2003.

- SRINIVASAN, M.; LUCEY, J. A. Effects of added plasmin on the formation and rheological properties of rennet-induced skim milk gels. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 5, p. 1070–1078, 2002.
- SUMMER, A.; FRANCESCHI, P.; FORMAGGIONI, P.; MALACARNE, M. Influence of milk somatic cell content on Parmigiano-Reggiano cheese yield. **Journal of Dairy Research**, p. 1-6, 2015.
- TANCIN, V.; UHRINCAT, M.; MACUHOVA, L.; BRUCKMAIER, R. M. Effect of pre-stimulation on milk flow pattern and distribution of milk constituents at a quarter level. **Czech Journal of Animal Science**, v. 52, p. 117-121, 2007.
- TOZZETTI, D. S.; BATAIER NETO, M.; ALMEIDA, L. R. de. Prevenção, controle e tratamento das mastites bovinas. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, ano VI, n. 10, 2008.
- TROMBETE, F. M.; FRAGA, M. E.; SALDANHA, T. Avaliação da qualidade química e microbiológica de queijo Parmesão ralado comercializado no Rio de Janeiro. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, p. 6-11, 2012.
- TUNICK, M. H. Symposium: Dairy products rheology: Rheology of dairy foods that gel, stretch and fracture. **Journal Dairy Science**, 83, 1892-1898, 2000.
- VIANNA, P. C. B.; MAZAL, G.; SANTOS, M. V.; BOLINI, H. M. A.; GIGANTE, M. C. et al. Microbial and sensory changes throughout the ripening of Prato cheese made from milk with different levels of somatic cells. **Journal of Dairy Science**, v.91, 1743-1750, 2008.
- VIEIRA, V. F. Características físico-químicas e sensoriais de queijos Mussarela elaborados a partir de leites com diferentes contagens de células somáticas. 71p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos - **Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia**, Itapetinga - BA, 2010.
- WALSH, C. D.; GUINEE, T. P.; HARRINGTON, D.; MEHRA, R. A. J.; MURPHY, J.; FITZGERALD, R. J. Cheesemaking, compositional and functional characteristics of low-moisture part-skim Mozzarella cheese from bovine milks containing  $\kappa$ -casein AA, AB or BB genetic variants. **Journal of Dairy Research**, v.65, p.307–315, 1998.
- WALSTRA, P.; GEURTS, T. J.; NOOMEN, A.; JELLEMA, A. ; VAN BOEKEL, M. A. J. S. **Dairy Technology**. New York: Marcel Dekker, Inc., 2000, 726 p.
- WHIST, A. C.; OSTERA, O.; SOLVEROD, L. Association between isolation of *Staphylococcus aureus* one week after calving and milk yield, somatic cell count, clinical mastitis, and culling through there maining lactation. **Journal of Dairy Research**, v. 76, p.24-35, 2009.

**ZANNONI, M. Evolution of the sensory characteristics of Parmigiano-Reggiano cheese to the present day. *Food Quality and Preference*, v. 21, p. 901, 2010.**

ZHANG, L.; BOEREN, S.; VAN HOOIJDONK, A. C. M.; VERVOORT, J. M.; HETTINGA, K. A. A proteomic perspective on the changes in milk proteins due to high somatic cell count. ***Journal of Dairy Science***, Champaign, v. 98, n. 8, p. 5339-5351, 2015.