

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE E DO QUEIJO MINAS
FRESVAL PRODUZIDO COM LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO (LINA)**

ALEXANDRE PICCININI

PORTO ALEGRE

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE E DO QUEIJO MINAS
FRESVAL PRODUZIDO COM LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO (LINA)**

ALEXANDRE PICCININI

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias na área de Inspeção e Tecnologia de Alimentos de Origem Animal.

Orientadora: Dr.^a Andrea Troller Pinto

PORTO ALEGRE

2015

CIP - Catalogação na Publicação

Piccinini, Alexandre

Caracterização físico-química do leite e do queijo
minas frescal produzido com leite instável não ácido
(LINA) / Alexandre Piccinini. -- 2015.

42 f.

Orientador: Andrea Troller Pinto.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária,
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias,
Porto Alegre, BR-RS, 2015.

1. Leite Instável Não Ácido (LINA). 2. Queijo
Minas Frescal. I. Troller Pinto, Andrea , orient.
II. Título.

ALEXANDRE PICCININI

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE E DO QUEIJO MINAS
FRESCAL PRODUZIDO COM LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO (LINA)

Aprovado em 19 MAR 2015

APROVADO POR:

Prof.^a Dr.^a Andrea Troller Pinto

Orientadora e Presidente da Comissão

Prof.^a Dr.^a Luciana Ruschel dos Santos

Membro da Comissão

Prof.^a Dr.^a Veronica Schmidt

Membro da Comissão

Prof.^a Dr.^a Vivian Fischer

Membro da Comissão

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu pai, Adroaldo Piccinini, por me dar a vida, a educação e os exemplos para a minha formação como ser humano. Agradeço ainda, por ser parceiro nos jogos e conquistas do Inter e pelo companheirismo nas boas horas de pescaria que passamos juntos. Obrigado pelo apoio e orientação nas minhas decisões, deixando sempre que eu escolhesse o caminho que mais me fizesse feliz.

Agradeço a minha mãe, Gema Conte Piccinini, por gerar minha vida, pelos insistentes ensinamentos em busca da plena saúde e felicidade, pela constante motivação e alegria de viver em família. Obrigado por insistir que eu continuasse estudando, pois o mestrado me trouxe o maior dos prêmios, que foi encontrar a outra mulher da minha vida, além de você.

Agradeço ao meu irmão, Gustavo Piccinini, por ser “meu brother” desde que nasceu, dividindo a vida comigo sempre com simplicidade e bondade no coração. Obrigado por estar por perto quando eu mais precisei.

Agradeço a minha irmã caçula, Camila Piccinini, por ter nascido, e junto trazer a luz da felicidade a toda a família, por cuidar dos teus irmãos e dos nossos pais com paciência e dedicação. Obrigado por ser minha amiga.

Agradeço a minha namorada, Lorena Lima Barbosa Guimarães, por ter aparecido na minha vida e redirecionado os meus sonhos e objetivos para uma vida mais completa e feliz. Obrigado por tanto amor, cumplicidade, parceria e apoio nas horas complicadas.

Agradeço aos meus primos Eloi Conte e Luis Fernando Krause que sempre foram como irmãos para mim, me incentivando a crescer.

Agradeço aos meus amigos Leo, Adriano, Jade e Augusto por fazerem parte da família desde os tempos do colégio e estarem sempre por perto.

Agradeço aos que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho, alunos, funcionários e professores.

Agradeço a UFRGS por me possibilitar este mestrado.

Agradeço, por fim, a todos que ficam felizes com a minha felicidade.

Obrigado.

RESUMO

O Leite Instável Não Ácido (LINA) caracteriza-se pela instabilidade da caseína quando misturado ao etanol a 72°GL, com acidez titulável normal (14 a 18°Dornic). Existe uma alta prevalência de LINA no Rio Grande do Sul, gerando perdas à cadeia produtiva devido à obrigatoriedade, prevista em legislação, do seu descarte. O objetivo deste estudo foi propor estudar uma alternativa para o aproveitamento do Leite Instável Não Ácido através da elaboração de Queijo Minas Frescal (QMF) e avaliar o seu rendimento e suas características físico-químicas. As amostras de leite foram coletadas em um entreposto-usina localizado na região metropolitana de Porto Alegre. Elas foram avaliadas quanto ao grau de resistência ao etanol, a crioscopia, o pH, a acidez titulável (em graus Dornic), a condutividade elétrica, a composição (gordura, proteína, lactose e extrato seco), a Contagem de Células Somáticas (CCS) e a Contagem Bacteriana Total (CBT). Das 53 amostras de leite coletadas foram selecionadas 46, excluindo-se as que apresentaram acidez <0,14 g de ácido lático/100mL de leite (consideradas como amostras de leite alcalino). Dessas, 43,48% apresentaram características de Leite Normal (LN), 32,61% de Leite Instável Não Ácido (LINA) e 23,91% de Leite Ácido (LA). Posteriormente foram elaborados os queijos, determinando-se as características de pH, acidez titulável, gordura, umidade, rendimento e sinérese. Relacionaram-se as propriedades físico-químicas do queijo com as características do leite utilizado para a sua elaboração. Também foram comparados os resultados entre os três diferentes grupos e, após, à legislação. Não houve diferença entre os queijos produzidos com leite normal e LINA. O LINA pode ser utilizado para a fabricação do QMF sem prejudicar o rendimento e a composição do produto na indústria.

Palavras-chave: queijo minas frescal, leite instável não ácido, rendimento.

ABSTRACT

The Unstable Non-Acid Milk (LINA) is characterized by casein instability when mixed with ethanol 72°GL with normal acidity (14 to 18°Dornic). There's a high prevalence of LINA in Rio Grande do Sul. This prevalence causes economic losses to dairy production because this milk must be rejected by industries. The aim of this research is to find an alternative use for LINA through the development of Minas Frescal Cheese (a Brazilian fresh cheese) and evaluate its yield and physical and chemical characteristics. Milk samples were taken at a dairy industry located nearby Porto Alegre. They were evaluated to ethanol resistance, freezing point, pH, titratable acidity (Dornic), electrical conductivity, composition (fat, protein, lactose and solids), Somatic Cell Count (SCC) and Total Bacterial Count (TBC). From the 53 milk samples, 46 were selected, excluding the ones that presented acidity <0,14g of lactic acid/100mL of milk (considered alkaline milk). Of those, 43.48% samples were considered normal milk, 32.61% unstable non-acid milk, and 23.91% acid milk. After that, cheeses were produced and analysed for pH, titratable acidity, fat, moisture, yield and syneresis. The physicochemical properties of those cheeses had relation with milk characteristics. Also, the result between those three different groups were compared among each other and with the legislation. There were no differences between cheeses produced with normal milk and LINA. From the results obtained it was concluded that LINA can be used to the fabrication of Minas Frescal Cheese without prejudice to the dairy industries.

Keywords: minas frescal cheese, unstable non-acid milk, yield.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
2.1 Parâmetros de qualidade do leite	10
2.2 Síntese do leite	10
2.3 Qualidade do Leite	11
2.4 Leite instável não ácido (LINA)	14
2.5 Queijo Minas Frescal (QMF)	16
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Amostras	19
3.2 Análise estatística	21
4 RESULTADOS	22
4.1 Qualidade do leite	22
4.1.1 Composição do leite	22
4.1.2 Características físicas e químicas do leite	22
4.1.3 Contagem de Células Somáticas (CCS) e Contagem Bacteriana Total (CBT)	24
4.2 Características da coalhada/queijo produzida	24
5 DISCUSSÃO	26
5.1 Qualidade do leite	26
5.1.1 Composição do leite	26
5.1.2 Características físicas e químicas do leite	28
5.1.3 Contagem de Células Somáticas (CCS) e Contagem Bacteriana Total (CBT)	29
5.2 Características da coalhada/queijo produzida	31
5.3 Gordura do queijo	32
5.4 Dessoragem do queijo	33
5.5 Rendimento do queijo	34
6 CONCLUSÃO	35
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	36

1 INTRODUÇÃO

A melhoria da qualidade do leite no Brasil tem sido objeto de esforços por toda a cadeia produtiva. O leite, para ser recebido pela indústria e estar apto para a industrialização deverá atender a diversos critérios de qualidade, estabelecidos em legislação (BRASIL, 1952; BRASIL, 2011). Entre esses critérios estão os parâmetros composicionais (gordura, proteína, lactose e extrato seco), de qualidade sanitária (contagem de células somáticas e bacteriana total) e características físicas e químicas, como acidez e estabilidade ao etanol. No momento da coleta do leite na propriedade rural, o produto é submetido à prova do álcool alizarol. Essa prova tem a função de verificar se o leite é ácido (pelo indicador alizarina) e pretende estabelecer sua estabilidade ao tratamento térmico, quando submetido a uma concentração de solução alcoólica mínima de 72°GL. Entretanto, sabe-se atualmente que o leite poderá apresentar instabilidade ao álcool, com precipitação da caseína, mesmo que o mesmo apresente acidez compatível com a normalidade. Esta ocorrência é denominada de leite instável não ácido (LINA).

Sabe-se que existe alta prevalência deste leite nas bacias leiteiras brasileiras, tendo a ocorrência sido amplamente estudada, principalmente no estado do Rio Grande do Sul. A importância do LINA na cadeia produtiva do leite ocorre pela sua rejeição pela indústria, sob a alegação de que quando esse leite for submetido ao processo térmico, sofrerá coagulação dentro dos equipamentos e gerará prejuízos no processo. Diversos trabalhos já foram realizados para verificar o potencial industrial desta matéria prima, com vistas a evitar seu descarte. Uma alternativa de utilização é a produção de queijos, tendo em vista a importância deste derivado e o volume produzido anualmente.

Este estudo objetivou propor a utilização deste leite para a produção do QMF, através da avaliação do rendimento do queijo minas frescal produzido com leite estável em diferentes graduações de etanol e relacionar as propriedades físico-químicas deste com as características do leite utilizado. Ainda, foi possível avaliar o leite quanto ao grau de resistência ao etanol, a crioscopia, o pH, a acidez titulável (Dornic), a condutividade elétrica, a composição (gordura, proteína, lactose e extrato seco), a contagem de células somáticas (CCS) e a contagem bacteriana total (CBT); e do queijo quanto ao pH, a acidez titulável, a gordura, a umidade, o rendimento e a dessoragem.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Parâmetros de qualidade do leite

Entende-se por leite o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 1996a). É um líquido formado por componentes que são sintetizados pela glândula mamária a partir de precursores derivados dos alimentos e do metabolismo da vaca. É composto por água, gordura, glicídios (lactose), proteínas (caseína e albumina), minerais e vitaminas. É uma suspensão de micelas de caseína (leucócitos, cálcio, fósforo, caseína) suspensas em uma fase aquosa que contém solubilizadas moléculas de lactose, minerais e proteínas do soro do leite, e uma emulsão de glóbulos de gordura. (GONZÁLEZ et al., 2001).

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a produção de leite representou o maior valor de produção entre os produtos de origem animal apurados em 2012. Nesse ano foi registrada a produção de 32,304 bilhões de litros do produto, gerando R\$ 26.797 bilhões. O volume de leite cru adquirido pelas indústrias de laticínios com inspeção sanitária, apurado pela pesquisa trimestral do leite, realizada pelo IBGE, foi de 22,338 bilhões de litros em 2012. Esse número significa que 69,1% de todo o leite produzido no Brasil tem como destino indústrias sob inspeção sanitária, portanto cadastrados nas estatísticas oficiais (IBGE, 2012).

2.2 Síntese do leite

Entre os fatores que afetam a composição do leite, os principais são a constituição genética, a dieta, o estágio de lactação, a estação do ano, o manejo de ordenha e a sanidade. Os componentes do leite podem ser classificados em secundários e principais dependendo da quantidade percentual que representam. Os secundários são as vitaminas e os minerais, ao passo que os principais são a gordura, a água, a lactose e as proteínas (DÜRR et al., 2001).

A lactose, carboidrato do leite, é um dissacarídeo formado por glicose e galactose e, esta última tem origem da glicose. O suprimento de glicose para a glândula mamária é o fator que limita a síntese de lactose, que é dos principais determinantes do

seu volume. Representa aproximadamente 50% da pressão osmótica do leite e em conjunto com íons sódio, cloro e potássio, desempenha papel relevante no controle da pressão osmótica na glândula mamária, sendo que cada grama de lactose do leite arrasta aproximadamente dez vezes o seu peso em água.

A quantidade de gordura contida no leite está relacionada com a quantidade de seus precursores disponíveis à glândula mamária para sintetizá-la, com a quantidade de ácidos graxos provenientes diretamente da dieta e com a mobilização da gordura corporal. A origem dos precursores é ruminal (advindos do processo fermentativo, principalmente da fibra). Portanto, dietas que alteram a fermentação ruminal levam a variação do teor de gordura do leite. As características mencionadas são relação volumoso:concentrado, teor de fibra efetiva, tipo de concentrado e seu processamento, fornecimento de gordura na dieta, e por fim a inclusão de aditivos (PERES, 2001).

A síntese de proteína é mais restrita quanto aos seus precursores, e também na sequência de sua inclusão para formação das moléculas. A deficiência de apenas um aminoácido impossibilita a síntese de toda a molécula de proteína. Portanto, a deficiência de poucos aminoácidos na dieta pode diminuir a produção de proteínas do leite (PERES, 2001).

As soroproteínas têm características estruturais globulares, que se caracterizam por dispersão molecular e estrutura terciária. As caseínas, de outra forma, apresentam estrutura quaternária (micelar). As soroproteínas têm alto valor nutricional pelo alto teor de aminoácidos sulfurados que apresentam, são termolábeis (desnaturam acima de 65°C) e não são fosforiladas. Isso diminui a estabilidade térmica e solubilidade ao íon cálcio.

2.3 Qualidade do Leite

A Instrução Normativa 62, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – IN62 (BRASIL, 2011) estabelece os parâmetros de normalidade do leite para ser aceito para industrialização. Os critérios de qualidade são sensoriais, composicionais, de qualidade e microbiológicos. Do ponto de vista sensorial, o leite deve ter aspecto líquido, branco opalescente homogêneo. Deve apresentar sabor e odor característicos e ser isento de substâncias estranhas como neutralizantes da acidez e

reconstituintes de densidade. Na Tabela 1 estão apresentados os demais requisitos gerais de qualidade do leite.

Tabela 1- Padrões de normalidade do leite segundo a legislação vigente (BRASIL, 1952 e BRASIL, 2011).

Características	Limites de normalidade
Matéria Gorda (g /100 g)	mín 3,0
Densidade relativa (15/15°C g/mL)	1,028 a 1,034
Acidez titulável (g ácido láctico/100mL)	0,14 a 0,18
Extrato seco desengordurado (g/100g)	mín. 8,4
Índice Crioscópico	-0,530 a -0,550°H
Proteínas (g /100g)	mín. 2,9
Contagem padrão em placa (UFC/mL)	máx. $6,0 \times 10^5$
Contagem de células somáticas (CCS/mL)	máx. $6,0 \times 10^5$
Lactose (%) (RIISPOA)	mín 4,3
Etanol (v/v)	mín 72%
Extrato seco total (%)	mín 11,5

Na avaliação higiênico-sanitária do leite cru são utilizados padrões e técnicas especiais, como a verificação da acidez e a CCS (LANGONI, 2000). A CCS equivale à concentração dos leucócitos presentes no leite (GONZÁLEZ et al., 2001). A determinação de CCS é rotineira, sendo realizada no mínimo, uma vez por mês, junto com a determinação da composição e contagem bacteriana total. O aumento na contagem das células somáticas indica inflamação na glândula mamária e mastite. A mastite provoca alterações no tecido mamário, havendo redução na produção de gordura, lactose e caseína. Também diminui o teor médio de potássio e cálcio, e aumenta a transferência do sangue para o leite das albuminas, soroproteínas, cloro e sódio. A diminuição da caseína é compensada com o aumento das proteínas de origem sanguínea, na determinação analítica de proteínas, alterando muito pouco o teor de proteína total do leite. Logo, quando o leite apresentar alta CCS, as interpretações referentes à composição devem ser cuidadosas (DÜRR et al., 2001). A legislação brasileira exige submeter o leite ao etanol 72°GL e o mesmo não apresentar precipitação para ser aceito. Muitas indústrias de laticínios utilizam a prova do etanol a 72°GL ou maior para verificar se o leite apresenta problemas de estabilidade térmica (OLIVEIRA

et al., 2007). De acordo com a metodologia recomendada por Zenebon et al (2008), a prova do etanol pode ser utilizada como um método para estimar a estabilidade das micelas do leite durante o processamento térmico, uma vez que o leite com elevada acidez ou desequilíbrio salino coagula quando misturado ao álcool etílico.

A carga bacteriana inicial pode ocasionar diversas alterações, dependendo da forma como este leite é manipulado ao longo dos processos na cadeia produtiva de lácteos. Monardes (2004) relata que a falta de higiene, temperaturas inadequadas e tempo de armazenamento elevado do leite favorecem a contaminação e proporcionam a multiplicação de microrganismos deteriorantes que podem produzir enzimas proteolíticas e lipolíticas termoestáveis. Essas alterações podem ocasionar prejuízos na indústria através de menor rendimento, alterações sensoriais nos produtos e diminuição da vida de prateleira.

Netto et al (2009) mencionam que uma correta higienização dos equipamentos e das mãos dos ordenadores e a refrigeração adequada levam a uma menor carga bacteriana, conseqüentemente melhora a qualidade físico-química, microbiológica e sensorial do leite. Horst (2006) acrescenta ainda que os processos posteriores à ordenha também influenciam na contagem bacteriana, tais como o armazenamento, transporte e a industrialização do leite.

O ponto de congelamento do leite é determinado por sua composição e poderá ser afetado, por exemplo, pela adição fraudulenta de água (Gonzalez, 2001) e acidez (Marx et al, 2011). De acordo com Brasil (2006) a depressão do ponto de congelamento, ou crioscopia, tem como princípio o congelamento do leite com uma temperatura apropriada juntamente com a agitação mecânica dessa amostra. Isso ocasiona um aumento rápido da temperatura até atingir o nível correspondente ao ponto de congelamento dessa amostra. Silva (1997) explica que um leite composto por 12,5% de extrato seco (4,75% de lactose e 0,1% de cloretos) tem o ponto de congelamento próximo de $-0,531^{\circ}\text{C}$. Pois a lactose representa $-0,296^{\circ}\text{C}$, os sais $-0,119^{\circ}\text{C}$ e o restante por outros componentes como dióxido de carbono e ureia.

A condutividade elétrica (CAPRITA et al, 2003) pode ser utilizada para avaliar a qualidade do leite. Altos valores apresentados no leite fresco demonstram que o animal está com mastite. Esses valores também aumentam com a acidificação do leite através da fermentação da lactose. Silva (1997) explica que a presença de íons no leite torna viável a passagem de corrente elétrica, e menciona que a média da condutividade do leite oscila entre 4,61mS a 4,92mS.

Walstra et al (1999) escrevem que os principais fatores que interferem na composição e nas propriedades do leite são os fatores genéticos, fatores fisiológicos relacionados ao estágio de lactação, sanidade da vaca e do úbere, fatores climáticos, alimentação, sistema de ordenha e fatores ambientais. Dürr et al. (2001) também afirmam serem os principais fatores a alterarem a composição do leite o manejo de ordenha, a sanidade, a dieta, a estação do ano, a constituição genética e o estágio de lactação. Peres (2001) acrescenta alguns quesitos que diminuem a quantidade de proteína no leite, como a falta de proteína degradável, o consumo baixo de matéria seca pela vaca e a falta de carboidratos não estruturais.

2.4 Leite instável não ácido (LINA)

Zanela; Fischer (2011) definem o leite instável não ácido (LINA) como sendo aquele que se apresenta instável (precipitação) na presença do etanol a 72°GL sem apresentar acidez titulável acima de 18°D. Uma das principais alterações apresentadas pelo LINA é a perda da estabilidade da caseína frente à prova do álcool, com precipitação dessa proteína, sem haver acidez (MARQUES et al., 2007).

A prova do álcool- alizarol é realizada na propriedade antes do carregamento do leite para avaliar a estabilidade das proteínas lácteas submetidas à desidratação provocada pelo álcool e a alizarina funciona como um indicador de acidez do leite. O teste é usado para estimar a estabilidade da proteína láctea ao ser submetida ao tratamento térmico (MARQUES et al., 2007). Entretanto Silva et al (2012) demonstraram em sua pesquisa que o fato do leite ser estável a concentrações maiores de álcool não está relacionada à melhoria da qualidade microbiológica do leite, demonstrando que a prova do álcool não deve ser utilizada para realizar essa avaliação.

A kappa-caseína é a proteína responsável pela estabilidade das micelas de caseína do leite, e quanto maior a espessura da camada de kappa-caseína na micela, maior quantidade (concentração) de etanol é preciso para realizar a agregação das micelas (ROBITAILLE et al., 2001). Barbosa et al (2012) concluíram que o leite instável ao teste do álcool apresenta menor concentração de kappa-caseína e maior de beta-caseína e de proteínas totais. Chavez et al (2004) complementam ao afirmar que o leite instável a prova do álcool apresenta menor concentração de caseína, mas o teor de proteína total não tem diferença para o leite normal. Existem ainda diferenças

importantes em relação aos elementos minerais, entre eles o Cl, Na e K apresentam maiores valores no leite instável ao álcool que no estável.

O leite com elevada acidez ou com desequilíbrio salino coagula quando misturado ao álcool etílico, sendo um método rápido para estimar a estabilidade das proteínas do leite (BRASIL, 2003). Outros fatores, entretanto, reduzem a estabilidade da caseína (SILVA et al, 2012). Alguns fatores podem afetar a estabilidade das micelas de caseína no meio, tais como o pH e o desequilíbrio iônico (ZANELA; FISCHER, 2011). A perda da estabilidade da fração proteica do leite está relacionada com a quantidade de cálcio iônico presente no mesmo (BARROS, 2001).

Existe uma relação inversamente proporcional entre a estabilidade das proteínas e o teor natural de cálcio iônico do leite. A prova do álcool é sensível à variação do cálcio iônico por provocar uma diminuição da solubilidade desse mineral (BARROS, 2001). Fatores como a hidrólise enzimática da caseína, excesso de íons cálcio, tratamento térmico, altas contagens de células somáticas e adição de etanol provocam a instabilidade da caseína, mesmo o leite não estando ácido (O'CONNELL, 2006).

De acordo com Barros (2001) existe relação entre as variações na estabilidade do leite e uma alimentação rica em cálcio e com desequilíbrio mineral (P, Mg, Ca), assim como com mudanças bruscas na dieta. Entre os fatores que reduzem o teor de proteína no leite estão o baixo consumo de matéria seca, falta de proteína degradável e falta de carboidratos não estruturais (PERES, 2001). A restrição alimentar severa provoca elevação dos níveis de cortisol em vacas. Também ocorre aumento dos níveis de lactose no plasma, indicando maior permeabilidade das células da glândula mamária. Isso promove a redução dos níveis de lactose e elevação de sódio no leite. A permeabilidade elevada da glândula mamária está positivamente relacionada à redução da estabilidade do leite ao teste do etanol devido ao desequilíbrio salino (STUMPF et al., 2013).

Foi possível estabelecer uma relação parcial de causalidade entre a restrição alimentar com a redução da estabilidade do leite (STUMPF et al, 2013). Porém não quanto ao estágio de lactação avançado, tampouco foi estabelecida com outros fatores diversos da nutrição, tais como a raça, a individualidade das vacas, o potencial de produção, a resistência ao estresse, a composição da fração proteica do leite, variações climáticas como a temperatura elevada e mastite (FISCHER et al., 2012).

Vacas com alimentação balanceada, com os cuidados para a manutenção de uma condição de saúde adequada e com uma média de rebanho de dias em lactação próxima

de 150 dias expressam uma produção de leite com estabilidade térmica desejável (FISCHER et al., 2012). Além dos fatores relacionados à alimentação, o LINA também apresenta como causa os fatores genéticos (ZANELA et al., 2006).

Existe uma alta prevalência de leite instável no Rio Grande do Sul. Estudos demonstram a prevalência de 33 a 58% (Marques et al, 2007; Zanela et al, 2009 e Marx, 2011). Os pesquisadores não têm encontrado alterações importantes na composição do LINA, quando comparado ao leite normal (LN). Marques et al (2007) encontraram na região de Pelotas elevada ocorrência de LINA. A composição química do leite apresentou diminuição no teor de proteína e lactose, e aumento no teor de gordura. Porém a maior parte desse LINA não modificou de forma significativa a composição química do leite, apresentando valores considerados normais. Já, Zanela et al. (2009) afirmam que o LINA apresenta uma composição mais diluída no que se refere a proteína, lactose, extrato seco total e desengordurado, enquanto que Marques et al (2007) também encontraram maiores teores de gordura e maior contagem de células somáticas em LINA, e menores teores de lactose e proteína.

Backes et al (2012) também afirmam que LINA apresenta características nutricionais semelhantes às do leite normal, com maiores teores de gordura e menores de caseína, afirmando que LINA é recusado pelas indústrias sob a justificativa de que não seria estável ao processo térmico para leite UHT. Assim este leite pode ser utilizado para alimentação humana através da fabricação de derivados que não precisam passar pelo processo UHT, como leite pasteurizado, iogurtes, queijos e manteigas, ou de leite em pó. Afirmação corroborada por Silva et al (2012), que relatam que LINA é estável ao tratamento térmico, podendo ser pasteurizado pela indústria, não sendo necessário a rejeição desse leite. Da mesma forma, Ribeiro et al. (2006) não observaram alterações tecnológicas (tempo de fermentação, pH e viscosidade) de iogurte batido obtido de leite instável não ácido.

2.5 Queijo Minas Frescal (QMF)

O mercado de queijos no Brasil cresceu de 194.830 toneladas em 1991 para 394.175 toneladas em 2001. O Queijo Minas Frescal é o terceiro queijo mais produzido no Brasil, passou de 17.950 toneladas em 1991 para 30.250 toneladas em 2001. Este queijo é um típico queijo fresco brasileiro. É produzido com ou sem cultura láctica e com

ou sem a adição de ácido láctico. A adição de ácido láctico acarreta a diminuição do pH, que é restrita ao processo de fabricação, já que facilita a clivagem enzimática de k-caseína pelo coalho (BURITI et al, 2005a).

Queijo é o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactéria específica, de ácido orgânico, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes. Entende-se por queijo fresco o que está pronto para consumo logo após sua fabricação (BRASIL, 1996b).

Brasil (1996a) também define queijo como sendo o produto fresco ou maturado obtido pela coagulação de leite integral, parcialmente desnatado, desnatado ou de soro lácteo, por ação física de coalho ou outros coagulantes apropriados, com a separação parcial do soro e submetido aos processamentos necessários à formação das características próprias de cada tipo. Classifica os queijos pelo teor de umidade e percentual de gordura, sendo o QMF enquadrado como de muito alta umidade (mínimo de 55%) e semi-gordo (entre 25 e 44,9% de gordura no extrato seco total).

Fabricado a partir de leite de vaca, a principal característica do QMF é o sabor agradável, ligeiramente ácido, aroma delicioso, cor branca e consistência macia (SILVA et al., 2003). Possui alta atividade de água, pH maior que 5,0, baixo teor de sal e ausência de conservantes (BURITI et al., 2005b). Saboya et al. (1998) obtiveram queijos Minas frescal com pH de 5,52, acidez de 0,56% de ácido láctico, 57,31% de umidade e 50,59% de gordura no extrato seco. A inclusão de cálcio na fabricação do queijo altera a forma como as proteínas interagem. Parece que o cálcio promove interação proteína-proteína provavelmente através da ponte de cálcio e neutralização da carga. Essas interações aumentam e fortalecem as ligações proteicas e promovem a expulsão do soro da matriz. À medida que a matriz proteica se torna menos hidratada, e as interações interproteicas são promovidas, mais energia deve ser aplicada para superar estas interações e permitir que as proteínas fluam quando aquecidas. Assim a dureza do queijo aumenta e a coesão e derretimento diminui quando o teor de cálcio dos queijos aumenta (PASTORINO et al., 2003a).

O rendimento do queijo tem como fatores limitantes a caseína e a gordura presentes no leite utilizado para elaboração do queijo. A capacidade do fabricante do

queijo de recuperar a gordura e a caseína na forma de queijo é outro fator que influencia no rendimento. Por fim, a umidade e o conteúdo de sal adicionado compõem os fatores que vão determinar o rendimento do queijo. Portanto, o rendimento máximo possível do queijo com umidade e sal específicos fica limitado pela concentração de gordura e proteína do leite. O EST pode ser diretamente correlacionado com os rendimentos obtidos na fábrica (MELILLI et al, 2002).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Amostras

As amostras de leite foram obtidas em um entreposto-usina localizado na região metropolitana de Porto Alegre – RS, no período de 19/03/14 a 15/07/14. O leite foi coletado diretamente dos tanques isotérmicos dos caminhões na plataforma de recebimento, após sua homogeneização. Cada amostra correspondeu a uma alíquota de um tanque transportador e tinha o volume médio de 1,5L. A amostra foi acondicionada em caixas isotérmicas com gelo reciclável e transportada até o laboratório.

Coletaram-se 53 amostras, das quais se selecionaram 46, excluindo-se as amostras que apresentaram acidez $<0,14$ g de ácido láctico/100mL de leite, por serem consideradas leite alcalino.

Na chegada ao laboratório, as amostras foram homogeneizadas e colhidas alíquotas para determinação da composição, contagem bacteriana total e contagem de células somáticas que foram encaminhadas a laboratório credenciado da Rede Nacional de Qualidade do Leite da UNIVATES. A determinação da composição foi feita por radiação infravermelha média (MID) e por citometria de fluxo, para contagem bacteriana e de células somáticas, segundo Pople (2000).

Uma terceira alíquota foi colhida para determinação da estabilidade ao etanol e acidez titulável. A estabilidade ao etanol foi medida segundo Suñé (2010) utilizando-se etanol na concentração mínima de 66°GL, até 80°GL, em intervalos de dois graus, sendo definido o grau de estabilidade como sendo a menor graduação alcoólica na qual o leite não apresentou floculação. A acidez titulável foi medida segundo Brasil (2006a), sendo considerado normal o leite que apresentou entre 0,014 a 0,018g de ácido láctico em 100 mL de leite e que se apresentou negativo ao álcool 72°GL.

As amostras de leite foram classificadas como: - leite normal (estabilidade ao etanol $\geq 72^\circ\text{GL}$ e acidez entre 0,014 e 0,018g/100mL); leite instável não ácido (estabilidade $<72^\circ\text{GL}$ e acidez entre 0,014 e 0,018g/100mL) e leite ácido (acidez $>0,018\text{g}/100\text{mL}$).

Foram realizadas as determinações do ponto de congelamento e pH (BRASIL, 2006a) e condutividade elétrica do leite (ROMERO, 2012).

As amostras analisadas foram armazenadas em refrigeração por 11-12 horas, para após serem produzidas coalhadas (massas de queijo Minas frescal, sem salga), conforme fluxograma apresentado na Figura 1. As coalhadas foram preparadas com exatamente 1 litro de leite e optou-se por não realizar a salga a fim de que a mesma não interferisse na retenção de umidade e dessoragem dos queijos.

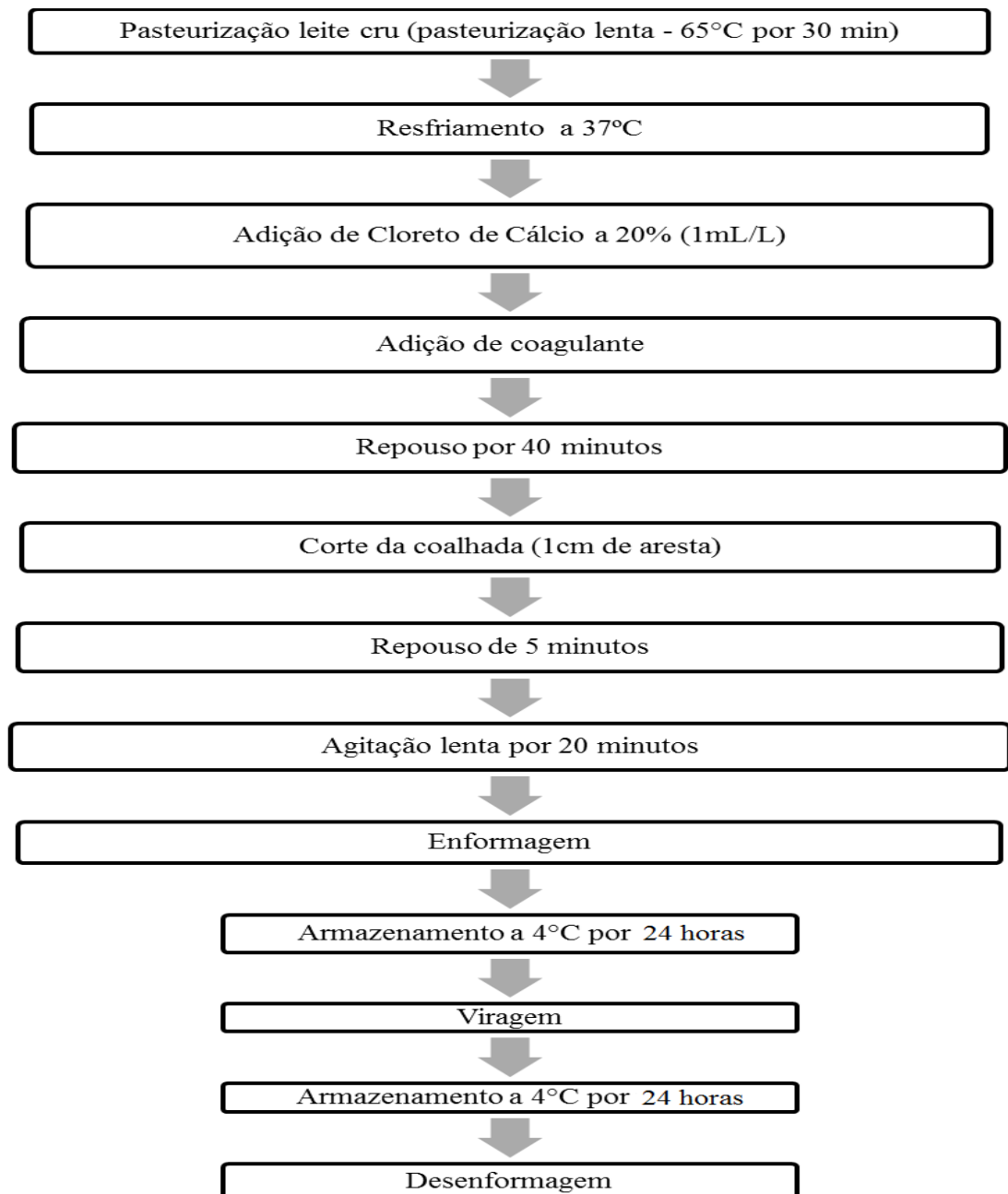


Figura 1- Fluxograma de fabricação do queijo Minas frescal (Adaptado de SOUZA, 2005).

Após a produção dos queijos, no momento da enformagem, foi mensurada a quantidade de soro de leite expulso no processo produtivo, ou sinérese. Os queijos foram armazenados em refrigeração a 4°C por 24 horas, quando o mesmo foi virado e medido o soro residual. Após 48 horas da produção, novamente a quantidade de soro foi medida e o queijo foi pesado para aferição do rendimento. Calculou-se o rendimento dividindo o volume de leite utilizado no processo (1 litro) pela quantidade (Kg) de massa da coalhada obtida (SILVEIRA; ABREU, 2003).

Foram determinados teores de sólidos totais, gordura e ácido lático dos queijos segundo Brasil (2006a).

3.2 Análise estatística

Os valores da contagem de células somáticas e bacteriana total foram transformados em logaritmo de base 10 (\log_{10}) para análise estatística, mas são apresentadas as contagens no texto. Foram criadas três diferentes categorias: leite normal; leite instável não ácido e leite ácido. Foi realizada análise de contraste para a análise de variância (ANOVA), teste de Tukey ($P < 0,05$). Utilizou-se o software estatístico SPSS 20.0.

4 RESULTADOS

Das 53 amostras de leite coletadas, foram identificadas 37,74% (20/53) amostras de leite normal (LN), 28,30% (15/53) de leite instável não ácido (LINA), 20,76% (11/53) de leite ácido (LA) e 13,21% (7/53) de leite alcalino (LALC). Estas últimas foram descartadas e não compuseram o número total de amostras que tiveram suas características analisadas.

4.1 Qualidade do leite

4.1.1 Composição do leite

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados referentes à composição do leite.

Tabela 2- Composição média do leite cru caracterizado como normal (LN), instável não ácido (LINA) e ácido (LA).

Componente	LN	LINA	LA
Proteína	3,23±0,11	3,24±0,09	3,19±0,06
Lactose	4,29±0,09 ^a	4,22±0,10 ^{ab}	4,12±0,12 ^b
Gordura	3,74±0,23	3,79±0,21	3,79±0,17
Extrato seco total	12,32±0,34	12,27±0,28	12,16±0,21
Extrato seco desengordurado	8,58±0,11	8,48±0,07	8,37±0,04

Médias seguidas por letra diferente, na mesma linha, diferem entre si ($\alpha = 0,05$).

4.1.2 Características físicas e químicas do leite

Os resultados das análises de acidez titulável, pH, crioscopia, grau de estabilidade ao etanol e condutividade elétrica estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3- Médias e desvio-padrão do leite quanto a estabilidade ao álcool, crioscopia, condutividade elétrica, acidez Dornic e pH do leite cru caracterizado como normal (LN), instável não ácido (LINA) e ácido (LA).

	LN	LINA	LA	VN*
Estab. ao Álcool	74,90±1,84 ^a	64,13±3,22 ^b	62,36±1,15 ^b	≥72°GL
Acidez °Dornic	15,04±0,66 ^a	16,36±0,73 ^b	19,81±1,53 ^c	14 -18
pH	6,84±0,07 ^a	6,78±0,12 ^a	6,60±0,14 ^b	-
Índice criosc. (°H)	-0,534±0,006 ^a	-0,535±0,006 ^a	-0,543±0,006 ^b	-0,530 -0,550
Cond. Elétrica (mS)	5,61±0,19	5,73±0,21	5,78±0,24	-

Médias seguidas por letra diferente, na mesma linha, diferem entre si ($\alpha = 0,05$).

* Valores normais definidos pela legislação (BRASIL, 2011).

Os resultados demonstram, no que se refere ao grau de estabilidade média ao etanol, que os valores encontrados entre LINA e LA são semelhantes (não há significância), indicando que é, por esta prova apenas, impossível caracterizar o leite como ácido ou instável não ácido. Entretanto, o leite normal apresentou-se com estabilidade média maior que a mínima exigida pela legislação.

Do contrário, os valores de acidez titulável para LINA foram semelhantes, embora significativamente diferentes ($P < 0,05$), ao obtido para LN.

O leite ácido apresentou temperatura de congelamento significativamente menor que o leite normal e o instável não ácido.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 3 o LINA e o LA apresentaram-se significativamente diferentes ($P < 0,05$) quando avaliados quanto a acidez Dornic (o que era esperado pois fez parte da segmentação dos grupos), crioscopia e pH, sendo a temperatura de congelamento e o pH do leite ácido menores.

Porém, usando a acidez e a lactose como indicadores das variações do ponto crioscópico, verifica-se que os três grupos de leite apresentaram diferença quanto à acidez, mas somente o LN e o LA diferiram estatisticamente no quesito lactose.

Não foi observada diferença significativa entre a CE dos diferentes leites (5,61mS no LN, 5,73mS no LINA e 5,78mS no LA).

4.1.3 Contagem de Células Somáticas (CCS) e Contagem Bacteriana Total (CBT)

A CCS e CBT são parâmetros de extrema importância na determinação da qualidade do leite e sua aptidão para o processamento industrial.

No que se refere à CCS e CBT, Brasil (2011) definia os padrões máximos de $6,0 \times 10^5$ células/mL⁻¹ no período da coleta das amostras. A Tabela 4 apresenta as contagens de células somáticas e bacteriana total médias encontradas.

Tabela 4- Média das contagens de células somáticas (CCS) e bacteriana total (CBT) para o leite cru caracterizado como normal (LN), instável não ácido (LINA) e ácido (LA).

	LN	LINA	LA
CCS (Células/mL)	$8,90 \times 10^5$	$8,79 \times 10^5$	$7,90 \times 10^5$
CBT (UFC/mL)	$6,66 \times 10^6$ ^a	$1,00 \times 10^7$ ^b	$9,94 \times 10^6$ ^b

Médias seguidas por letra diferente, na mesma linha, diferem entre si ($\alpha = 0,05$).

Não foram encontradas diferenças significativas na CCS das diferentes categorias do leite estudado (LN, LINA e LA). Já, quando se avalia a CBT, identifica-se que no leite normal, a contagem média foi significativamente menor que no LINA e no LA ($P < 0,05$), mas que, na média, também não atendeu o previsto em legislação.

O leite normal apresentou a menor CBT ($6,66 \times 10^6$ UFC/mL), diferindo estatisticamente do LINA e do leite ácido, que respectivamente apresentam $1,00 \times 10^7$ UFC/mL e $9,94 \times 10^6$ UFC/mL. Nota-se que, não houve variabilidade entre as amostras de LINA, sendo que todas as amostras avaliadas apresentaram-se com a contagem máxima dada pelo equipamento de citometria de fluxo.

4.2 Características da coalhada/queijo produzida

De todas as amostras utilizadas, foram produzidas coalhadas/QMF a fim de identificar as características de qualidade das mesmas. A caracterização dos mesmos, de acordo com a classificação do leite utilizado está apresentada na Tabela 5.

Tabela 5- Caracterização física e química, rendimento e sinérese dos QMF produzidos com leite cru caracterizado como normal (LN), instável não ácido (LINA) e ácido (LA).

	LN	LINA	LA
pH	7,12±0,12 ^a	7,04±0,09 ^{ab}	7,00±0,11 ^b
Acidez %	0,024±0,007	0,027±0,011	0,027±0,006
Gordura %	17,43±1,54 ^a	18,36±1,33 ^{ab}	19,39±2,17 ^b
Umidade	62,91±2,44	61,08±2,24	61,99±5,49
Matéria Seca	37,09±2,44	38,92±2,24	38,00±5,49
Rendimento (L/Kg)	5,50±0,51	5,62±0,40	5,56±0,30
Gordura no extrato seco	47,06±3,77 ^a	47,30±3,73 ^{ab}	51,77±7,63 ^b
Sinérese no dia 0	669,00±38,39	677,33±38,51	700,90±54,89
Sinérese no dia 1	87,75±23,80	87,27±21,16	89,10±25,56
Sinérese no dia 2	5,43±3,96	6,20±3,49	4,38±3,05
Sinérese Total	762,18±22,80 ^a	770,81±22,52 ^{ab}	794,40±29,55 ^b

Médias seguidas por letra diferente, na mesma linha, diferem entre si ($\alpha = 0,05$).

Conforme observado na Tabela 2, o leite utilizado para a produção dos queijos não apresentou diferenças no que se refere a gordura e proteína, mantendo, assim essas características nos queijos produzidos, conforme observado na Tabela 5 (gordura no extrato seco (GES) do LN de 47,06% e no LINA 47,30%). Porém o queijo feito com o LN apresentou menos gordura que o feito com LA com diferença significativa (17,43% no LN e 19,39% no LA), apesar da gordura do leite não ter apresentado diferença significativa (3,74% no LN e 3,79% no LA).

De acordo com a Tabela 5 os queijos produzidos com LINA não apresentaram sinérese significativamente diferente que os queijos produzidos com leite normal nem com leite ácido ($P < 0,05$), embora esta diferença tenha sido observada nos queijos produzidos com leite ácido e leite normal. Não houve diferença significativa no rendimento dos queijos produzidos com os leites de diferentes qualidades (LN, LINA e LA).

5 DISCUSSÃO

Foram identificadas 37,74% amostras de leite normal (LN), 28,30% de leite instável não ácido (LINA), 20,76% de leite ácido (LA) e 13,21,% de leite alcalino (LALC) das 53 amostras de leite coletadas. Estas últimas foram descartadas e não compuseram o número total de amostras que tiveram suas características analisadas. Ciprandi et al. (2012) obtiveram resultados semelhantes quanto a ocorrência de leite normal - LN (42,40%) e leite instável não ácido - LINA (33,70%), porém maior número de leite alcalino - LALC (22,82%) e apenas 1,08% de leite ácido - LA. Marx et al. (2011) também encontraram 33% das amostras analisadas como sendo de LINA. Marques et al (2007) encontraram um número superior, 58% e Zanela et al (2009) obtiveram dados semelhantes a esse, de 55,2% de ocorrência. Portanto observa-se um padrão de prevalência do LINA que varia da casa dos 30 aos 60%.

5.1 Qualidade do leite

5.1.1 Composição do leite

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados referentes à composição do leite. Segundo Brasil (2011) os requisitos físicos e químicos para o leite cru refrigerado são de no mínimo 3% de gordura, 2,9% de proteína e 8,4% de extrato seco desengordurado (ESD).

As amostras de leite apresentaram-se, em média, de acordo com a legislação vigente (BRASIL, 1952; BRASIL, 2011). Entretanto, 12 (26%) apresentaram baixo teor de ESD e 35 (76%) baixo teor de lactose.

O leite das diferentes categorias (LN, LINA e LA) não apresentaram diferenças significativas quanto a sua composição ($P < 0,05$); entretanto, quando se observa a concentração de lactose verifica-se que o leite normal apresentou maiores teores. Quando se avalia o percentual de amostras fora do padrão legal para este componente, foram obtidos percentuais de adequação de 40% para leite normal, 20% para LINA e 0% para leite ácido. Oliveira; Timm (2006) também obtiveram valores menores para o leite instável (4,16% de lactose) que no leite normal (4,33% de lactose). O ESD foi de

7,95% e 8,13% para LINA e LN, respectivamente. Os autores concluem que essa característica, juntamente com os teores de gordura analisados, são características de animais alimentados com dietas fibrosas. Silva (1997) menciona que dos $-0,531^{\circ}\text{C}$ da crioscopia, $-0,296^{\circ}\text{C}$ são causados pela lactose quando essa se apresenta a 4,75% em um ES de 12,5%. Apesar de observarem-se valores de lactose inferiores aos exigidos pela legislação (Tabela 2), os valores de crioscopia (Tabela 3) encontraram-se dentro da normalidade.

Marques et al (2007) encontraram amostras de LINA com baixos teores de proteína e lactose e maiores teores de gordura do que no leite normal; entretanto, o LINA não apresenta diferenças composicionais significativas. Marx et al. (2011) não encontraram diferença significativa ($p>0,05$) no teor de lactose quando compararam leite normal e LINA; entretanto, os mesmos autores não verificaram diferença significativa nos teores de extrato seco total, proteína e gordura.

A maior quantidade de lactose no LN provavelmente é devido à transformação da lactose em ácido láctico, diminuindo o seu teor e aumentando a acidez do leite. Caprita et al. (2003) mencionam que a partir de uma molécula de lactose quatro moléculas de ácido láctico são formadas devido à fermentação láctica de lactose. De outro lado, a precipitação da caseína ocorrerá também caso haja diminuição do pH proveniente da formação de ácido láctico a partir da lactose (Zanela et al; 2006).

Marx et al (2011) não encontraram diferença significativa ($p>0,05$) entre o LN e LINA para os lipídios, proteínas, lactose, CCS, acidez titulável, crioscopia e EST. Zanela et al. (2009), avaliando 2.205 amostras, concluíram que o LINA tem menores teores dos componentes proteína bruta, lactose, sólidos desengordurados e sólidos totais. Marques et al. (2007) encontraram diferenças significativas entre o LN e o LINA quanto aos teores de lactose (4,42% para LN e 4,32% para LINA), proteína (3,06% para LN e 3,03% para LINA) e gordura (3,52% para LN e 3,62% para LINA). Oliveira et al. (2011) obtiveram valores para o LINA de $3,08\pm 0,04\%$ de proteína, quantidade de gordura de $3,67\pm 0,11\%$, lactose de $4,37\pm 0,04\%$ e EST de $11,93\pm 0,12\%$.

Oliveira; Timm (2006) utilizaram para classificação de LINA o álcool 70%. Os autores mencionam que uma alimentação rica em fibras explicaria as alterações de composição da gordura do leite. Essa alimentação poderia estar ligada à ocorrência de instabilidade da caseína, por meio de desequilíbrios minerais que causariam um desequilíbrio iônico no leite. Os autores afirmam que, provavelmente, os animais que produziram o leite com caseína estável tenham recebido suplementação na dieta com

concentrados, que normalmente são mais balanceados, e isso permitiria a produção de leite com caseína estável e com equilíbrio iônico normal. Eles não encontraram diferença estatisticamente significativa ($p < 0,01$) entre o teor de proteína do LN (2,91%) e do LINA (2,89%). Afirmam, ainda, que pelo conteúdo proteico do leite não ser tão variável quanto à gordura, as causas que fizeram aumentar a gordura não foram fortes o suficiente para modificar os teores de proteína do leite com caseína instável. Eles também não encontraram diferença significativa no teor de EST no LN (11,17%) e no LINA (11,25%). Os autores explicam tal fato devido a uma compensação dos teores de lactose e gordura, pois no LN a lactose compreende 4,33% e a gordura 3,04%, enquanto no LINA a lactose representa 4,16% e a gordura 3,30%.

5.1.2 Características físicas e químicas do leite

Os resultados das análises de acidez titulável, pH, crioscopia, grau de estabilidade ao etanol e condutividade elétrica estão apresentados na Tabela 3.

Os resultados demonstram, no que se refere ao grau de estabilidade média ao etanol, que os valores encontrados entre LINA e LA são semelhantes (não há significância), indicando que é, por esta prova apenas, impossível caracterizar o leite como ácido ou instável não ácido. Entretanto, o leite normal apresentou-se com estabilidade média maior que a mínima exigida pela legislação.

Do contrário, os valores de acidez titulável para LINA foram próximos, embora significativamente diferentes ($P < 0,05$), ao obtido para LN. O leite ácido apresentou temperatura de congelamento significativamente menor que o leite normal e o instável não ácido. Silva (1997) informa que leite contendo 12,5% de extrato seco (4,75% de lactose e 0,1% de cloretos) possui o ponto de congelamento próximo de $-0,531^{\circ}\text{C}$. Sendo que a lactose representa $-0,296^{\circ}\text{C}$.

Marques et al (2007) não observaram diferenças na temperatura de congelamento do leite normal, comparado com LINA (respectivamente, $-0,544^{\circ}\text{H}$ e $-0,544^{\circ}\text{H}$). Marx et al (2011) encontraram no LN $-0,546^{\circ}\text{H}$, e no LINA $-0,542^{\circ}\text{H}$, mas não observaram diferença significativa entre estes valores, justificando que a não significância pode ser devido aos valores também similares para acidez e para lactose e são estas características as que mais influenciam no ponto de congelamento do leite. Porém, usando a acidez e a lactose como indicadores das variações do ponto

crioscópico, verifica-se que os três grupos de leite apresentaram diferença quanto à acidez, mas somente o LN e o LA diferiram estatisticamente no quesito lactose.

Não foi observada diferença significativa entre a CE dos diferentes leites (5,61mS no LN, 5,73mS no LINA e 5,78mS no LA). Há relação direta entre a condutividade elétrica e a contagem de células somáticas (TEIXEIRA et al., 2008). A concentração de íons sódio, potássio e cloreto no leite são os principais determinantes da CE. Nos casos de mastite, diminui a concentração de potássio no leite e aumenta os íons sódio e cloreto pelo aumento da permeabilidade dos capilares sanguíneos e aos danos dos sistemas de bombeamento iônico. Isso leva ao aumento da condutividade do leite (NIELEN et al, 1992). Em 1973 El-Naggar observou que, durante os processos inflamatórios, o íon cloreto presente no sangue atravessava os capilares e chegava ao lúmen alveolar da glândula mamária pela destruição das ligações celulares e do sistema de bombeamento ativo, e pelo aumento da permeabilidade vascular (ZAFALON et al, 2005). Caprita et al. (2003) relatam que a CE tem uma correlação negativa com o teor de lactose e positiva com o íon cloreto. Afirmam, ainda, que a determinação da condutividade elétrica pode ser usada para apreciação da qualidade do leite. A CE aumenta também com a acidificação do leite, quando a partir de uma molécula de lactose quatro moléculas de ácido láctico são formadas devido à fermentação láctica. A proporção de sais iônicos dispersos aumenta também, quando a caseína muda de caseinato de cálcio para caseína livre devido à acidificação. Marx et al. (2011) não encontraram diferença significativa ($p>0,05$) para os lipídios, proteínas, lactose, CCS, acidez titulável, crioscopia e EST ao compararem o LN com o LINA.

5.1.3 Contagem de Células Somáticas (CCS) e Contagem Bacteriana Total (CBT)

A CCS e CBT são parâmetros de extrema importância na determinação da qualidade do leite e sua aptidão para o processamento industrial.

No que se refere à CCS e CBT, a Instrução Normativa 62, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2011) definia os padrões máximos de $6,0 \times 10^5$ células/mL⁻¹ no período da coleta das amostras. Na Tabela 4 são apresentadas as contagens médias de células somáticas e bacteriana total encontradas.

Não foram encontradas diferenças significativas na CCS das diferentes categorias do leite estudado (LN, LINA e LA). Já, quando se avalia a CBT, identifica-se

que no leite normal, a contagem média foi significativamente menor que no LINA e no LA ($P < 0,05$), mas que, na média, também não atendeu o previsto em legislação.

Marx et al. (2011) obtiveram resultados similares aos aqui apresentados, com $9,26 \times 10^5$ cél/mL para CCS do LN e $7,86 \times 10^5$ cél/mL para LINA. Os mesmos autores também verificaram que a CCS não diferiu estatisticamente entre o LN e LINA e estavam além dos limites estabelecidos pela legislação. Diferentemente, Oliveira et al. (2011) obtiveram para o LINA a CCS média de $4,13 \times 10^5$ cél/mL. Altas contagens de células somáticas podem relacionar-se com a instabilidade da caseína (SANTOS; FONSECA, 2006) apud Silva et al. (2012). A presença de células somáticas no leite ocorre pela descamação do epitélio secretor e de leucócitos de origem sanguínea. Quando aumenta a CCS no leite aumenta, também, o teor de enzimas (plasmina e outras proteases provenientes do sangue ou das células de defesa), que provocam lise da caseína, podendo provocar instabilidade da mesma ao aquecimento (MOUSSAOUI et al., 2002).

De forma diferente, Marques et al. (2007) encontraram diferenças significativas nas contagens de CCS para LN e LINA, sendo a contagem no leite normal, para estes autores, significativamente menor do que para o leite instável não ácido. Entretanto, estes autores não avaliaram o leite entregue em plataforma de recebimento e sim de propriedades rurais e, por isso, ficam aparentes as diferenças de manejo preventivo à mastite, o que não acontecem neste estudo.

O leite normal apresentou a menor CBT média ($6,66 \times 10^6$ UFC/mL), diferindo estatisticamente do LINA e do leite ácido, que respectivamente apresentam $1,00 \times 10^7$ UFC/mL e $9,94 \times 10^6$ UFC/mL. Nota-se que, não houve variabilidade entre as amostras de LINA, sendo que todas as amostras avaliadas se apresentaram com a contagem máxima dada pelo equipamento de citometria de fluxo.

A higienização correta das mãos dos ordenadores e dos equipamentos utilizados, e a refrigeração adequada são procedimentos que minimizam a carga bacteriana e melhoram a qualidade microbiológica, físico-química e sensorial do leite (NETTO et al., 2009). Depois da ordenha o armazenamento, o transporte e a industrialização influenciam também na contagem bacteriana (HORST, 2006). A falta de higiene, temperaturas inadequadas e tempo de armazenamento elevado do leite levam a contaminação e proporcionam a multiplicação de microrganismos maléficos (MONARDES, 2004). Peres (2001) escreve que a causa mais comum dos altos valores de acidez no leite é os elevados níveis de ácido láctico, que são originados da conversão

do açúcar do leite em ácido láctico por bactérias. Portanto uma alta contagem bacteriana, associada a falhas de resfriamento vai acarretar alta acidez.

5.2 Características da coalhada/queijo produzida

De todas as 46 amostras utilizadas, foram produzidas coalhadas/QMF a fim de identificar as características de qualidade das mesmas. A caracterização dos mesmos, de acordo com a classificação do leite utilizado está apresentada na Tabela 5.

Na Tabela 5 é possível verificar que os queijos produzidos se classificam como gordos, em desacordo com a legislação que prevê que o queijo Minas Frescal deve apresentar teor de gordura na matéria seca entre 25 e 44,9%. Entretanto, verifica-se que o teor de gordura do leite que ficou acima do mínimo de 3% estabelecido pela legislação (Brasil, 2011). A umidade dos queijos produzidos estava de acordo com o previsto na legislação brasileira, que os classifica como de muito alta umidade – umidade maior que 55% (Brasil, 2004).

Backes et al. (2012) concluíram que o LINA pode ser utilizado para alimentação humana através da fabricação de derivados que não precisam passar pelo processo UHT, como leite pasteurizado, iogurtes, queijos e manteigas. No presente estudo os queijos/coalhadas produzidos com LINA foram semelhantes aos produzidos com LN, não havendo diferença significativa nas características de qualidade avaliadas.

A formação do ácido láctico é fundamental para o sabor do QMF assim como para sua qualidade e vida de prateleira. Entretanto, uma produção excessiva de ácido láctico pode conduzir a um sabor muito ácido no queijo (CASAGRANDE, 1988). No presente estudo não foi adicionado ácido láctico para a fabricação dos queijos. Este fato pode explicar a diferença dos resultados de acidez observados (0,024% no LN e 0,027% no LINA) para com os trabalhos de Saboya et al. (1998) que obtiveram acidez de 0,56%; Buriti et al (2005b) com $0,386 \pm 0,257\%$, Carvalho (2007) com $0,394 \pm 0,221\%$ e Buriti et al (2005a) com acidez titulável de $0,185 \pm 0,043\%$.

A legislação Brasileira (BRASIL, 1996b) classifica os queijos pelos teores de umidade e gordura, sendo os de muito alta umidade com mínimo de 55% e os semi-gordos com gordura no extrato seco entre 25 e 44,9% e os queijos gordos com 45 a 59,9%. Brasil (2004) afirma que o Queijo Minas Frescal é um queijo semi-gordo e de muito alta umidade. Porém os queijos produzidos por Saboya et al. (1998) apresentaram

GES de 50,59% (queijo gordo), umidade de 57,31%, pH de 5,52 e acidez de 0,56%. Sant'ana et al. (2013) encontraram nos queijos quantidades de gordura de $17,44 \pm 1,42\%$ (48,40% de GES, queijo gordo), umidade de $63,97 \pm 1,84\%$ e rendimento de $19,40 \pm 1,08\%$. A Tabela 5 apresenta resultados semelhantes quanto à gordura, pois os queijos classificam-se como gordos, visto que o LN possui 47,06% de GES, o LINA 47,30% e o LA 51,77%.

Gomes et al. (2011) obtiveram resultados dos queijos analisados no dia de fabricação de 68,20% de umidade, 22,35% de gordura e pH de 6,2. Fritzen-Freire (2010) obtiveram os resultados para os QMF analisados no dia 1 de $19,64 \pm 0,71\%$ de rendimento, $16,17 \pm 0,12\%$ de gordura e $66,47 \pm 0,36\%$ de umidade, acidez de $0,091 \pm 0,017\%$, pH de $6,99 \pm 0,02$. Carvalho (2007) produziu os queijos com adição de cultura láctica e os resultados foram de $5,9 \pm 0,4$ para o pH, acidez Dornic de $39,4 \pm 22,1$ e umidade de $57,3 \pm 3,8\%$. Buriti et al. (2005b) obtiveram os resultados no dia da fabricação dos queijos, com pH de $5,35 \pm 0,56$, acidez titulável $0,386 \pm 0,257\%$, umidade $64,23 \pm 0,98$. Buriti et al (2005a) mostraram resultados de rendimento de $20,82 \pm 2,0\%$, umidade $67,53 \pm 0,59\%$, gordura $15,45 \pm 0,37\%$, pH $6,16 \pm 0,46$, acidez titulável $0,185 \pm 0,043\%$. ALVES et al (2011) encontraram umidade de 64,61%, gordura de 18,88% e GES de 53,35%. Uma característica comum a todos os autores citados neste trabalho refere-se à umidade dos queijos, pois todos apresentaram umidade superior a 55%, sendo considerados queijos de muito alta umidade (BRASIL, 2004). O mesmo ocorre quando se observa os resultados expressos na Tabela 5 (LN com 62,91%, LINA com 61,08% e LA com 61,99%).

5.3 Gordura do queijo

O teor de gordura do leite é função da quantidade de precursores disponíveis à glândula mamária para sintetizá-la, de ácidos graxos provenientes diretamente da dieta e mobilizados da gordura corporal (PERES, 2001).

O leite LINA tem características nutricionais próximas do LN, entretanto com teores maiores para gordura e menores de caseína em sua composição (BACKES et al., 2012). Porém conforme observado na Tabela 2 não apresentou maiores teores para gordura (LN com 3,74% e LINA 3,79%) e nem menores para proteína (LN com 3,23% e LINA com 3,24%), e manteve as características nutricionais dos queijos semelhantes

para LN e LINA, conforme observado na Tabela 5 (gordura no extrato seco (GES) do LN de 47,06% e no LINA 47,30%). Porém o queijo feito com o LN apresentou menos gordura que o feito com LA com diferença significativa (17,43% no LN e 19,39% no LA), apesar da gordura do leite não ter apresentado diferença significativa (3,74% no LN e 3,79% no LA).

Alves et al. (2011) obtiveram queijos gordos (GES entre 45% e 59,9%), assim como os dados apresentados na Tabela 5 (LN com 47,06%, LINA com 47,30% e LA com 51,77%). Os autores mencionam a probabilidade dessa ocorrência devido ao maior teor de gordura do leite utilizado como matéria prima, pois não ocorreu padronização do teor de gordura do leite. Essa probabilidade também pode ser atribuída a este trabalho, pois não houve padronização do teor de gordura do leite utilizado para elaboração dos queijos.

Alves et al. (2011) encontraram dados de gordura do queijo minas frescal de 18,88% e GES de 53,35%. Estes valores estão próximos aos observados no presente estudo (LN com 17,43% e GES com 47,06%; LINA com 18,36% e GES com 47,30%; LA com 19,39% e GES com 51,77%).

5.4 Dessoragem do queijo

O volume de lactossoro expelido durante a produção dos queijos não variou ao longo dos dias, entretanto, o queijo produzido com leite ácido apresentou uma sinérese total significativamente maior que os queijos produzidos com leite normal. A acidez promove uma desestabilização proteica, podendo haver o aumento da perda de líquido (PAULA et al; 2009).

Queijos produzidos com LINA não apresentaram sinérese significativamente diferente que os queijos produzidos com leite normal nem com leite ácido ($P < 0,05$). A inclusão de cálcio na fabricação do queijo altera a forma como as proteínas interagem. O cálcio promove uma interação das proteínas, aumentando e fortalecendo as ligações proteicas e promovendo a expulsão do soro da matriz (PASTORINO et al., 2003a). No processo de fabricação do queijo do presente estudo foi adicionado CaCl_2 .

Pastorino et al. (2003b) afirmam que adicionar uma solução acidulante no queijo altera as interações proteicas. Com baixos níveis de injeção de acidulante, a

solubilização do cálcio predomina e as interações entre as proteínas diminuem. No processo de fabricação dos queijos do presente estudo não foi adicionado ácido láctico.

Walstra et al. (1999) mencionam que a sinérese aumenta conforme diminui o pH, porém diminui drasticamente quando o pH passar para menos de 5,1. Na prática da fabricação dos queijos com coagulação pelo coalho, uma maior produção de ácido sempre ocasiona uma sinérese mais rápida e conseqüentemente um menor teor de umidade final.

5.5 Rendimento do queijo

Não houve diferença significativa no rendimento dos queijos produzidos com os leites de diferentes qualidades (LN, LINA e LA).

Souza; Silva (2005) obtiveram rendimento de 16,67% no queijo feito com coagulante microbiano, não apresentando diferença significativa para o queijo feito com coalho bovino (16,41%). Sant´Ana et al. (2013) obtiveram rendimento de $19,40 \pm 1,08\%$. Fritzen-Freire (2010) obtiveram para os QMF analisados no dia 1 de $19,64 \pm 0,71\%$ de rendimento. Buriti et al. (2005a) foram os que apresentaram o maior rendimento, com $20,82 \pm 2,0\%$.

Os valores encontrados pelos autores supracitados são próximos aos observados no presente estudo (5,50 L/KG de rendimento no LN, 5,62 L/Kg para o LINA e 5,56 L/Kg no LA). As variações ocorrem principalmente pela composição do leite utilizado para fabricação destes queijos, pois de acordo com Souza; Silva (2005) a transição dos componentes do leite para o QMF são de 73% para as proteínas, 85,33% para gordura e 53,30% para EST.

Melilli et al. (2002) afirmam que o rendimento teórico do queijo é limitado pela gordura e caseína contida no leite utilizado, pela capacidade do fabricante do queijo de recuperar a gordura e a caseína como queijo, e ao grau de umidade e conteúdo de sal desejados. O rendimento máximo teórico de queijo com um teor de umidade e sal específicos é limitado pela concentração de gordura e proteína do leite. Para os queijos sem uma equação teórica bem estabelecida para estimar o rendimento, a mensuração do EST poderia ser diretamente correlacionada com os rendimentos obtidos na fábrica. Isso pode refletir mais precisamente o rendimento esperado para essa fábrica.

6 CONCLUSÃO

O queijo produzido com LINA teve rendimento semelhante com aquele produzido com o leite normal

O queijo produzido com LINA apresentou características físico-químicas similares aos produzidos com leite normal.

O LINA pode ser utilizado na fabricação do QMF sem prejuízo ao rendimento e a composição do produto, nas condições experimentais.

A qualidade do leite coletado no entreposto não atendeu às exigências de legislação.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sugere-se a realização de mais estudos referentes à qualidade microbiológica e análise sensorial dos QMF para verificar se existe diferença entre as três categorias de leite utilizadas neste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, C.C.C., GEMAL, N.D.H., CORTEZ, M.A.S., FRANCO, R.M., MANO, S.B. Utilização de *Lactobacillus acidophilus* e de acidificação direta na fabricação de queijo de minas frescal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v.63, n.6, p.1559-1566. 2011.

BACKES, R.G., STEFANI, L.M., PASETTI, M. Leite termicamente instável – problemas e soluções tecnológicas. **Revista de Ciências Agroveterinárias**. Lages. v.11, n.3, p.254-260. 2012.

BARBOSA, R.S., FISCHER, V., RIBEIRO, M.E.R., ZANELA, M.B., STUMPF, M.T., KOLLING, G.J., SCHAFHÄUSER, J.JR., BARRO, L.E., EGITO, A.S. Caracterização eletroforética de proteínas e estabilidade do leite em vacas submetidas à restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.47, n.4, p. 621-628. 2012.

BARROS, L. Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite. In: GONZÁLEZ, F.H.D., DURR, J.W., FONTANELI, R.S. (Eds.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: UFRGS Editora, 2001. p. 44-57.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Decreto N.º 1812 de 08 de fevereiro de 1996a. **Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. Brasília. Disponível em: <http://www3.servicos.ms.gov.br/iagro_ged/pdf/182_GED.pdf>. Acesso em: 14 de dezembro de 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal – DIPOA. Portaria N° 146 de 07 de março de 1996b. **Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos; ANEXO I: Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos**. Brasília. Disponível em: <<http://www.sfdk.com.br/imagens/lei/MA%20-%20Portaria%20146.htm>>. Acesso em: 14 de dezembro de 2014.).

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de origem Animal. Portaria N° 352, de 04 de Setembro de 1997. **Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Queijos Minas Frescal**. Disponível em: <<http://www.cda.sp.gov.br/www/legislacoes/popup.php?action=view&idleg=644>>. Acesso em: 09 de janeiro de 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 22, de 14/04/2003. Diário Oficial da União, Brasília, DF, seção I, p. 3, 2 maio 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de origem Animal. Instrução Normativa nº 4, de 01 de março de 2004. **Altera o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Queijo Minas Frescal.** Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=5974>>. Acesso em: 09 de janeiro de 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária, Instrução Normativa Nº 68, de 12 Dezembro de 2006a. **Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos.** Brasília. Disponível em: <<http://www.diariodasleis.com.br/busca/exibelink.php?numlink=1-77-23-2006-12-12-68>>. Acesso em: 14 de dezembro de 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento- MAPA. Instrução Normativa nº62, de 29/12/2011. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite Cru Refrigerado.** Brasília. Disponível em: <http://www.sindilat.com.br/gomanager/arquivos/IN62_2011%282%29.pdf>. Acesso em: 14 de dezembro de 2014.

BURITI, F.C.A., ROCHA, J.S., SAAD, S.M.I. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. **International Dairy Journal. Barking.** n.15, p.1279-1288. 2005a.

BURITI, F.C.A., ROCHA, J.S., ASSIS, E.G., SAAD, S.M.I. Probiotic potential of minas fresh cheese prepared with the addition of *Lactobacillus paracasei*. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie.** London. n.38, p.173-180, 2005b.

CAPRITA, R., CAPRITA, A., BENSCIK, I. The electric conductivity as parameter for milk quality appreciation. **Acta Veterinaria Scandinavica.** Copenhagen, v.44, n.1, p. 264. 2003.

CARVALHO, J.D.G., VIOTTO, W.H., KUAYE, A.Y. The quality of Minas Frescal cheese produced by different technological processes. **Food Control.** Guildford. v.18, n. 3, p.262-267, 2007.

CASAGRANDE, H.R.; WOLFSCHOON-POMBO, A.F. Fermentação da lactose no queijo minas frescal. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. Juiz de Fora. v.43, n.258, p.38, 1988.

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

CIPRANDI, A., PEREIRA, B.P., PINTO, A.T. Ocorrência de leite instável não ácido (LINA) em uma usina de beneficiamento da região metropolitana de Porto Alegre/RS. **Veterinária em Foco**. Canoas, v.9, n.2, p.128-133. 2012.

DÜRR, J.W., FONTANELI R.S., MORO, D.V. Determinação laboratorial dos componentes do leite. In: GONZÁLEZ, F.H.D., DURR, J.W., FONTANELI, R.S. (Eds.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: UFRGS Editora, 2001. p. 29-43.

FISCHER, V., RIBEIRO, M.E.R, ZANELA, M.B., MARQUES, L.T., ABREU, A.S., MACHADO, S.C., FRUSCALSO, V. BARBOSA, R.S., STUMPF, M.T. Leite instável não ácido: um problema solucionável? **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. Salvador, v. 13, n.3, p.838-849, 2012.

FRITZEN-FREIRE, C.B., MÜLLER, C.M.O., LAURINDO, J.B., PRUDÊNCIO, E.S. The influence of *Bifidobacterium* Bb-12 and lactic acid incorporation on the properties of Minas Frescal cheese. **Journal of Food Engineering**. Essex, v.96, n.4, p.621-627. 2010.

GOMES, A.P.; CRUZ, A.G., CADENA, R.S., CELEGHINI, R.M.S., FARIA, J.A.F., BOLINI, H.M.A., POLLONIO, M.A.R., GRANATO, D. Manufacture of low-sodium minas fresh cheese: Effect of the partial replacement of sodium chloride with potassium chloride. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v.94, n.6, p.2701-2706. 2011.

GONZÁLEZ, F.H.D. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; DURR, J.W.; FONTANELI, R.S. (Eds.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: UFRGS Editora, 2001. p. 5-22.

HORST, J.A. Impacto da refrigeração na contagem bacteriana do leite. In: MESQUITA, A.J., DURR, J.W., COELHO, K.O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Vol. 1. Goiânia: Talento, 2006, p.163-174.

IBGE- INSTITUTO DE BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Indicadores IBGE. **Produção da pecuária municipal**, 2012. Disponível em: < http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2012_v40_br.pdf > Acesso em: 10 de novembro de 2014.

LANGONI, H. Tendências de modernização de setor lácteo: monitoramento da qualidade do leite pela contagem de células somáticas. **Revista educação continuada do CRMV SP**. São Paulo, v. 3 n.3, p.57-64, 2000.

MARQUES, L.T., ZANELA, M.B., RIBEIRO, M.E.R., STUMPF JR., W., FISCHER, V. Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (LINA) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. **Revista Brasileira Agrociência**. Pelotas, v. 13, n.1, p.91-97, 2007.

MARX, I.G., LAZZAROTTO, T.C., DRUNKLER, D.A., COLLA, E. Ocorrência de leite instável não ácido na região Oeste do Paraná. **Revista Ciências Exatas e Naturais**. Guarapuava, v.13, n.1, p. 101-112. 2011.

MELILLI, C., LYNCH, J.M., CARPINO, S., BARBANO, D.M., LICITRA, G., CAPPALÀ, S. An empirical method for prediction of cheese yield. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v.85, n.10, p.2699-2704. 2002.

MONARDES, H. Reflexões sobre a qualidade do leite. In: **O compromisso com a qualidade do leite no Brasil**. Passo Fundo: Editora Universitária, 2004. p. 11-37.

MOUSSAOUI, F.; MICHELUTTI, I.; LE ROUX, Y.; LAURENT, F. Mechanisms involved in milk endogenous proteolysis induced by a lipopolysaccharide experimental mastitis. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v. 85, n. 10, p. 2562-2570. 2002.

NETTO, A.S., FERNANDES, R.H.R., AZZI, R., LIMA, Y.V.R. Estudo comparativo da qualidade do leite em ordenha manual e mecânica. **Revista do Instituto de Ciências da Saúde**. Mirandópolis, v. 27, n. 4, p. 345-349. 2009.

NIELEN M., DELUYKER H., SCHUKKEN Y.H., BRAND, A. Electrical conductivity of milk: measurement, modifiers, and meta analysis of mastitis detection performance. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v. 75, n. 2, p. 606-614. 1992.

OLIVEIRA, D.S., TIMM, C.D. Composição do leite com instabilidade da caseína. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.26, n.2, p.259-263. 2006.

OLIVEIRA, D.S., MORAES, C.M., ROOS, T.B., BERMUDEZ, R.F., TIMM, C.D. Ocorrência de leite com instabilidade da caseína em Santa Vitória do Palmar, RS. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**. Niterói, v. 14, n.2, p.101-104, 2007.

OLIVEIRA, C.A.F., LOPES, L.C., FRANCO, R.C., CORASSIN, C.H. Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido recebido em laticínio do Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. Salvador, v.12, n.2, p.508-515. 2011.

PASTORINO, A.J., RICKS, N.P., HANSEN, C.L., MCMAHON, D.J. Effect of calcium and water injection on structure-function relationships of cheese. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v.86, n.1, p. 105-113, 2003a.

PASTORINO, A.J., HANSEN, C.L., MACMAHON, D.J. Effect of pH on the chemical composition and structure-function relationships of cheddar cheese. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v.86, n. 9, p. 2751-2760, 2003b.

PAULA, J.C.J., CARVALHO, A.F., FURTADO, M.M. Princípios básicos de fabricação de queijo: do histórico à salga. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, n.367/368, 64, p.19-25, 2009.

PERES, J.R. O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; DURR, J.W.; FONTANELI, R.S. (Eds.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: UFRGS Editora, 2001. p. 29-43.

RIBEIRO, M. E. R., KROLOW, A.C.R., BARBOSA, R.S., BORGES, C.D., ZANELA, M.B., FISCHER, V., HAUSEN, L.J.V. Ensaio preliminar sobre o efeito do Leite Instável Não Ácido (Lina) na industrialização do iogurte batido. In 9º CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2006, Goiania. Anais. Gráfica e Editora Talento, 2006. Disponível em: <<http://www.terraviva.com.br/IICBQL/p056.pdf>> Acesso em: 10 de novembro de 2014.

ROBITAILLE, G., BRITTEN, M., PETITCLERC, D. Effect of a differential allelic expression of kappa-casein gene on ethanol stability of bovine milk. **Journal of Dairy Research**. Cambridge, v. 68, n. 1, p. 145-149, 2001.

ROCHA, J.S., BURITI, F.C.A., SAAD, S.M.I. Condições de processamento e comercialização de queijo de minas frescal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v.58, n.2, p. 263-272. 2006.

SABOYA, L.V., OLIVEIRA, A.J., FURTADO, A.J.M., SPADOTI, L.M. Efeitos físico-químicos da adição de leite reconstituído na fabricação de queijo minas frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas**, v. 18, n.4, 1998.

SANT´ANA, A.M.S., BEZERRIL, F.F., MADRUGA, M.S., BATISTA, A.S.M., MAGNANI, M., SOUZA, E.L., QUEIROGA, R.C.R.E. Nutritional and sensory characteristics of minas fresh cheese made with goat milk, cow milk, or a mixture of both. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v.96, n.12, p.7442-7453. 2013.

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

SILVA, P.H.F. Leite: aspectos de composição e propriedades. **Química nova na escola**. São Paulo, n.6, 1997.

SILVA, I.M.M., ALMEIDA, R.C.C., ALVES, M.A.O., ALMEIDA, P.F. Occurrence of *Listeria* spp. In critical control points and the environment of Minas Frescal cheese processing. **International Journal of Food Microbiology**. Amsterdam, v. 81, n. 3, p. 241-248, 2003.

SILVA, L.F.M., FERREIRA, K.S. Avaliação de rotulagem nutricional, composição química e valor energético de queijo minas frescal, queijo minas frescal *light* e ricota. **Alimentos e Nutrição**. Araraquara, v.21, n.3, p.437-441. 2010.

SILVA, L.C.C., BELOTI, V., TAMANINI, R., YAMADA, A.K., GIOMBELLI, C.J., SILVA, M.R.. Estabilidade térmica da caseína e estabilidade ao álcool 68, 72, 75 e 78%, em leite bovino. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. Juiz de Fora, v. 67, n.384, p.55-60, 2012.

SILVEIRA, P.R., ABREU, L.R. Rendimento e composição físico-química do queijo prato elaborado com leite pasteurizado pelo sistema HTST e injeção direta de vapor. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, v. 27, n. 6, p. 1340-1347. 2003.

SOUZA, R.D.N., SILVA, R.S.S.F. Estudo de custo-rendimento do processamento de queijos tipo minas frescal com derivado de soja e diferentes agentes coagulantes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.25, n.1, p. 170-174. 2005.

STUMPF, M.T., FISCHER, V., MCMANUS, C.M., KOLLING, G.J., ZANELA, M.B., SANTOS, C.S., ABREU, A.S., MONTAGNER, P. Severe feed restriction increases permeability of mammary gland cell tight junctions and reduces ethanol stability of milk. **Animal**, Göttingen, v.7, n.7, p.1137-1142, 2013.

TEIXEIRA, P., RIBEIRO C. E SIMÕES J. (Eds.). Prevenção de mamites em explorações de bovinos leiteiros: da teoria à prática. 2008. p. 54. Disponível em < <http://veterinaria.com.pt/media/Mastites.pdf> >. Acessado em: 1 de fevereiro de 2015.

WALSTRA, P., GEURTS, T.J., NOOMEN, A., JELLEMA, A., BOEKEL, M.A.J.S.V. (Eds.). **Dairy technology: principles of milk properties and processes**. New York: Marcel Dekker, 1999. p. 485-515.

ZAFALON, L.F., NADER, A.F., OLIVEIRA, J.V., RESENDE, F.D. Comportamento da condutividade elétrica e do conteúdo de cloretos do leite como métodos auxiliares de diagnóstico na mastite subclínica bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p. 159-163. 2005.

ZANELA, M.B., FISCHER, V., RIBEIRO, M.E.R., BARBOSA, R.S., MARQUES, L.T., STUMPF JR., W., ZANELA, C. Leite instável não-ácido e composição do leite de vacas Jersey sob restrição alimentar. **Pesquisa agropecuária brasileira**. Brasília, v. 41, n.5, p.835-840, 2006.

ZANELA, M.B., RIBEIRO, M.E.R., FISCHER, V., GOMES, J.F., STUMPF JR., W. Ocorrência do leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v. 61, n.4, p.1009-1013, 2009.

ZANELA, M.B., FISCHER, V. Fatores que afetam a estabilidade do leite ao álcool. In: DIAZ GONZÁLEZ, F.; PINTO, A. T.; ZANELA, M. B.; FISCHER, V.; BONDAN, C. (Eds.). **Qualidade do leite bovino: variações no trópico e no subtópico**. Passo Fundo: Ed. Universidade de Passo Fundo, 2011. p. 161-190.

ZENEBON, O. PASCUET, N.S., TIGLEA, P. (Eds.). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4ª ed. São Paulo. 2008. Disponível em: http://www.crq4.org.br/sms/files/file/analisedealimentosial_2008.pdf. Acessado em: 1 de fevereiro de 2015.