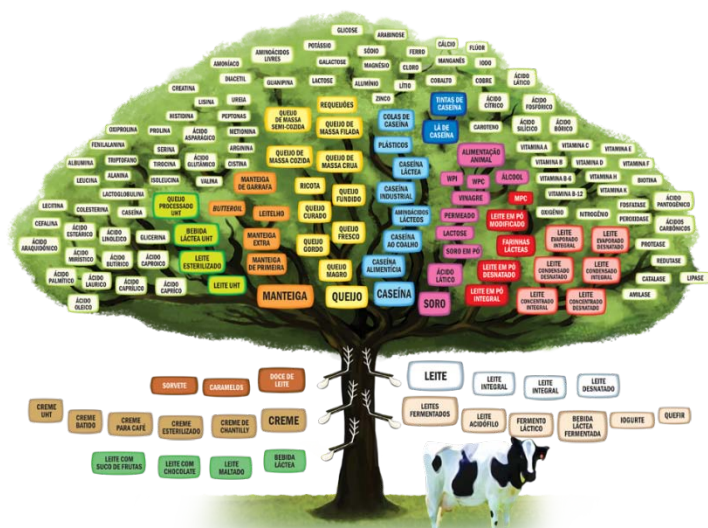




www.arvoredoleite.org

Esta é uma cópia digital de um documento que foi preservado para inúmeras gerações nas prateleiras da biblioteca *Otto Frensel* do **Instituto de Laticínios Cândido Tostes (ILCT)** da **Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG)**, antes de ter sido cuidadosamente digitalizada pela **Arvoredoleite.org** como parte de um projeto de parceria entre a Arvoredoleite.org e a Revista do **Instituto de Laticínios Cândido Tostes** para tornarem seus exemplares online. A Revista do ILCT é uma publicação técnico-científica criada em 1946, originalmente com o nome **FELCTIANO**. Em setembro de 1958, o seu nome foi alterado para o atual.

Este exemplar sobreviveu e é um dos nossos portais para o passado, o que representa uma riqueza de história, cultura e conhecimento. Marcas e anotações no volume original aparecerão neste arquivo, um lembrete da longa jornada desta REVISTA, desde a sua publicação, permanecendo por um longo tempo na biblioteca, e finalmente chegando até você.

Diretrizes de uso

A **Arvoredoleite.org** se orgulha da parceria com a **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes** da **EPAMIG** para digitalizar estes materiais e torná-los amplamente acessíveis. No entanto, este trabalho é dispendioso, por isso, a fim de continuar a oferecer este recurso, tomamos medidas para evitar o abuso por partes comerciais.

Também pedimos que você:

- Faça uso não comercial dos arquivos. Projetamos a digitalização para uso por indivíduos e ou instituições e solicitamos que você use estes arquivos para fins profissionais e não comerciais.
- Mantenha a atribuição **Arvoredoleite.org** como marca d'água e a identificação do **ILCT/EPAMIG**. Esta atitude é essencial para informar as pessoas sobre este projeto e ajudá-las a encontrar materiais adicionais no site. Não removê-las.
- Mantenha-o legal. Seja qual for o seu uso, lembre-se que você é responsável por garantir que o que você está fazendo é legal. O fato do documento estar disponível eletronicamente sem restrições, não significa que pode ser usado de qualquer forma e/ou em qualquer lugar. Reiteramos que as penalidades sobre violação de propriedade intelectual podem ser bastante graves.

Sobre a **Arvoredoleite.org**

A missão da **Arvoredoleite.org** é organizar as informações técnicas e torná-las acessíveis e úteis. Você pode pesquisar outros assuntos correlatos através da web em <http://arvoredoleite.org>.

REVISTA do INSTITUTO DE LATICÍNIOS "CÂNDIDO TOSTES"

DAIRY JOURNAL Bimonthly
Published By The "Cândido
Tostes" Dairy Institute

Nº 336 a 338 JUIZ DE FORA JAN/JUN DE 2004 VOL.59

GOVERNO DE MINAS GERAIS
SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO.
EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS.
CENTRO TECNOLÓGICO
INSTITUTO DE LATICÍNIOS CÂNDIDO TOSTES.



EPAMIG

digitalizado por arvoreadireito.org

REVISTA DO INSTITUTO DE LATICÍNIOS "CÂNDIDO TOSTES"

DAIRY JOURNAL BIMONTHLY PUBLISHED BY THE "CÂNDIDO TOSTES" - DAIRY INSTITUTE

ÍNDICE - CONTENT

- 1 Investigação preliminar dos efeitos da contagem de células somáticas no leite sobre as características químicas do queijo tipo *mozzarella*. Paula Tavoraro, Luis Fernando Laranja Fonseca, José César Panetta, Carol Letícia Quaini Sousa, Paulo Henrique Fonseca Silva, Adauto de Matos Lemos, Otacílio Lopes Vargas, Luis Carlos Ferreira, Carlos Augusto Fernandes Oliveira 3
- 2 Determinação do coeficiente efetivo de difusão do cloreto de sódio em queijo mussarela. Rafael da C. I. Fontan, Marcelo M. Carvalho, Paulo S. Monteiro, Luis A. Minim, Jane S. R. Coimbra 7
- 3 Funcionalidade dos lipídios. Rocha, F. A., Araújo, W. M. C., Borgo, L. A., Ito, M. K. 10
- 4 Determinação da atividade antimicrobiana *in vitro* de sorbato de potássio sobre leveduras isoladas de ricotas. Fátima Aparecida Carnicel, Jacqueline Tanury Macruz Peresi, Ulisses Foggetti, Tânia Maria Vinturim Gonçalves, Fernando Leite Hoffmann 19
- 5 Composição protéica do leite de vacas da raça holandesa suplementadas com metionina. Juliana Borsari Dourado Sanganari, Jane Maria Bertocco Ezequiel, Expedita Maria de Oliveira Pereira, Luciola de Sá, Sérgio do Nascimento Kronka, José Adolfo Sanganari 25
- 6 Salga de queijos em salmoura: uma revisão. Renata Golin Bueno Costa, Verônica Lobato, Luiz Ronaldo de Abreu, Fernando Antônio Resplande Magalhães 41
- 7 Uso do borbulhamento do gás ozônio na redução de *Pseudomonas fluorescens* inoculadas em leite cru. Daise Aparecida Rossi, Talita Thomaz Nader, Jupyracyara J. de Carvalho Barros, César Augusto Garcia, Fabiana Almeida Miranda 50
- 8 Composição protéica do leite de vacas da raça holandesa alimentadas com ração deficiente em proteína e suplementadas com metionina. Juliana Borsari Dourado Sanganari, Jane Maria Bertocco Ezequiel, Expedita Maria de Oliveira Pereira, Luciola de Sá, Sérgio do Nascimento Kronka, José Adolfo Sanganari 56
- 9 Características microbiológicas de Queijo Catiaira comercializado em Lavras - MG. Victor Maximiliano Reis Tebaldi, Thales Leandro Coutinho de Oliveira, Guilherme Cabral de Ávila Ramalho, Luis Ronaldo de Abreu, Roberta Hilsdorf Piccoli 71
- 10 Pontos críticos de controle na pasteurização do leite em microusinas. Timm, C.D., Roos, T.B., Gonzalez, H.L., Oliveira, D.S. 75
- 11 Queijo Minas artesanal da Região do Serro: avaliação de *Staphylococcus aureus* e suas Enterotoxinas. Maximiliano Soares Pinto, José Manoel Martins, Romilda A. B. Monteiro Araújo, Maria Crisolita Cabral da Silva, Célia Lúcia de Lucas Fortes Ferreira 82
- 12 Impactos tecnológicos causados na fabricação de queijos pelos resíduos de antibióticos no leite. Renata Golin Bueno Costa, Verônica Lobato 87
- 13 Composição físico-química do leite de búfalas da Raça Murrah de uma fazenda leiteira no Estado de Corrientes, Argentina. Exequiel M. Patiño, Eduardo L. Faisal, Fernando I. Mendez, Jose F. Cedres, Maria C. Guanziroli Stefani, Gustavo Angel Crudeli 96

Rev. Inst. Latic. "Cândido Tostes" - Juiz de Fora - Vol. 59 (336 a 338); 1-100 - Jan/Jun de 2004

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS
Centro Tecnológico
Instituto de Laticínios "Cândido Tostes"
Revista Bimestral

Endereço: Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes"
Rua Tenente Freitas, 116 - Santa Terezinha
36.045-560 - Juiz de Fora - Minas Gerais - Brasil
Tel.: 3224-3116 - DDD: 32 / Fax: 3224-3113 - DDD 32

digitalizado por arvoredoleite.org

Governo do Estado de Minas Gerais
Aécio Neves da Cunha

Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Odelmo Leão Carneiro Sobrinho

Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais
Baldonado Arthur Napoleão - Presidente
Artur Fernandes Gonçalves Filho - Diretor de Operações Técnicas

Centro Tecnológico - Instituto de Laticínios Cândido Tostes

Comitê Gerencial
Gerson Occhi - Chefe do CT/ILCT
José Alberto Bastos Portugal - Sec. Executivo Prog. Proc. Agroindustrial
Regina Célia Mancini - Coord. do Programa Ensino Leite e Derivados
José Lourenço Pereira Russi - Supervisor do Núcleo de Administração e Finanças
Nelson Tenchini Macedo - Supervisor do Núcleo de Indústria e Comércio

Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes
Coordenadora de Edição
Luiza Carvalhaes Albuquerque
Técnica em Laticínios e Especialista em Marketing e Qualidade Total

Jornalista Responsável
Vania Lucia Alves Lacerda
Reg. Prof. 4.729/MG

Corpo Revisor
Célia Lucia Luces Fortes Ferreira
Daise Aparecida Rossi
Edna Froeder Arcuri
José Alberto Bastos Portugal
Luiz Ronaldo de Abreu
Luiza Carvalhaes de Albuquerque
Maria Cristina Drumond e Castro
Paulo Henrique Fonseca da Silva

Os trabalhos apresentados são de inteira responsabilidade de seus autores.

Juiz de Fora, julho de 2004

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS
- EPAMIG -

Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", n. 1 - 1946 - Juiz de Fora. Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", 1946.

v. ilustr. 23 cm

n. 1-19 (1946-48), 27 cm, com nome de Felctiano, n. 20-73 (1948-57), 23 cm, com o nome de Felctiano.

A partir de setembro de 1958, com o nome de Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes".

1. Zootecnia - Brasil - Periódicos. 2. Laticínios - Brasil - Periódicos
1. Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, Juiz de Fora, MG, ed.

ISSN 0100-3674

CDU 636/637(81)(50)

INVESTIGAÇÃO PRELIMINAR DOS EFEITOS DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS NO LEITE SOBRE AS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DO QUEIJO TIPO *MOZZARELLA*

Preliminary investigation of the effects of milk somatic cell count on chemical characteristics of *mozzarella* cheese

Paula Tavoraro¹
Luis Fernando Laranja Fonseca²
José César Panetta³
Carol Letícia Quaini Sousa⁴
Paulo Henrique Fonseca Silva⁵
Adauto de Matos Lemos⁵
Otacílio Lopes Vargas⁵
Luis Carlos Ferreira⁶
Carlos Augusto Fernandes Oliveira⁷

RESUMO

A mastite é considerada uma das doenças mais comuns que afetam os rebanhos leiteiros, originando enormes prejuízos econômicos aos produtores de leite. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a correlação entre diferentes contagens de células somáticas (CCS), estimadas através do *Wisconsin Mastitis Test* (WMT) no leite de vacas holandesas, e algumas características químicas do leite, do soro de queijo e do queijo *Mozzarella* produzido com estes leites. Os resultados demonstraram que não houve correlação significativa ($P > 0,05$) entre os valores de WMT no leite (baixa: = 6.5 mm, média: 6.6 to 12.4 mm e alta: = 12.5 mm) e os percentuais de caseína e cálcio no leite; proteólise no leite e no soro de queijo; peso e proteólise no queijo. Considerando que os valores de WMT usados no experimento corresponderam à variação de cerca de = 103.684 células/mL a = 264.196 células/mL, recomenda-se a realização de estudos que avaliem os possíveis efeitos de altos níveis de CCS no leite sobre o rendimento industrial e a qualidade do queijo *Mozzarella*.

Palavras-chave: células somáticas; queijo *Mozzarella*; análises químicas.

INTRODUÇÃO

Existe uma relação muito próxima entre a ocorrência de mastite e a lucratividade da produção leiteira. Além de afetar a saúde dos animais, a doença pode alterar as características químicas, físicas e microbiológicas do leite, sendo os efeitos sentidos tanto pelos produtores quanto pela indústria leiteira. Para o produtor, a mastite leva a perdas na produção de leite, descarte prematuro de animais e do leite, gastos com assistência veterinária e com o tratamento dos animais (BLOSSER, 1979). Para a indústria leiteira, as perdas estão relacionadas às modificações químicas e microbiológicas observadas no leite, diminuindo a qualidade do produto final e o rendimento industrial da produção de derivados.

A ocorrência de mastite pode ser verificada pelo aumento na contagem de células somáticas (CCS) no leite, que tem que ser superior a 200.000/mL para produzir efeitos visíveis (KITCHEN, 1981). O dano à atividade da glândula mamária e o aumento na permeabilidade vascular causados pela resposta inflamatória levam a mudanças na composição do leite (NG-KWAI-HANG et al., 1984) que acompanha a intensidade do aumento na contagem de células somáticas. O aumento na CCS também ocorre com o aumento da idade da vaca, o final da lactação, o estresse e processos patológicos sistêmicos. Os efeitos tecnológicos deste aumento da CCS são os mesmos daqueles observados nos casos clínicos ou subclínicos de mastite.

As seguintes alterações na composição do leite foram descritas, associadas com o aumento da

- 1 Médica Veterinária. Mestre. Doutoranda. FMVZ/USP. E-mail: ptavolaro@yahoo.com (autor para correspondência).
- 2 Médico Veterinário. Professor Assistente Doutor. Departamento de Nutrição e Produção Animal/FMVZ/USP.
- 3 Médico Veterinário. Professor Titular. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal/FMVZ/USP.
- 4 Médica Veterinária.
- 5 Pesquisadores. Instituto de Laticínios Cândido Tostes/EPAMIG. E-mail: paulo.henrique@epamig.br/
- 6 Técnico em Laticínios. Instituto de Laticínios Cândido Tostes/EPAMIG.
- 7 Médico Veterinário. Professor Associado. Departamento de Zootecnia. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo.

CCS: diminuição dos níveis de lactose e gordura; alteração qualitativa no teor de proteínas, sem alterações quantitativas significativas (aumento na quantidade de proteínas vindas do sangue e diminuição daquelas sintetizadas na glândula mamária); modificações na concentração de minerais (aumento na concentração de sódio e cloro, diminuição na concentração de potássio, cálcio, magnésio e fósforo inorgânico); e efeitos negativos no rendimento e qualidade de produtos lácteos, especialmente queijos (ALI et al., 1980; KITCHEN, 1981; KLEI et al., 1998; MA et al., 2000).

O objetivo do presente estudo foi avaliar algumas características químicas do leite, soro e queijo tipo *Mozzarella* fabricado com leite contendo diferentes níveis de células somáticas.

MATERIAIS E MÉTODOS

O leite usado no experimento foi fornecido pelo rebanho Holandês puro do Centro Nacional de Pesquisa em Gado de Leite da EMBRAPA, em Coronel Pacheco, Minas Gerais. Antes do início do experimento, 70 vacas do rebanho foram testadas pelo Wisconsin Mastitis Test (WMT) para estimativa da CCS individual. Quinze vacas foram selecionadas e divididas em três categorias de CCS no leite: baixa (WMT = 6,5 mm); média (WMT de 6,6 a 12,4 mm), e alta (WMT = 12,5 mm). Cada um dos três grupos forneceu cerca de 20 litros de leite por dia, que foi enviado ao laticínio.

No momento da chegada, a CCS do leite de conjunto de cada um dos grupos foi verificado novamente pelo WMT para a estimativa do número de leucócitos no leite, que foi feita usando-se a fórmula de Haenlein et al. (1972), como se segue: $Y = 1,14 + 0,32X$, onde Y é a raiz quadrada do número de leucócitos, multiplicada por 10^4 e X, a medida em mm obtida no WMT. Amostras do leite de cada um dos grupos foram coletadas para a análise de proteólise, conteúdo de caseína e cálcio.

Seis partidas de queijo tipo *Mozzarella* foram fabricados em seis dias diferentes usando o leite selecionado como descrito acima. Assim, três queijos, feitos com leite de alta, média e baixa CCS foram produzidos em seis dias de experimento, em um total de 18 lotes de queijo (seis por categoria de CCS). A fabricação foi feita de acordo com o procedimento descrito por Furtado & Neto (1994), usando-se procedimentos padrão da indústria leiteira. Os queijos foram pesados individualmente e mantidos a 5°C.

Durante a fabricação de cada queijo, amostras de soro foram coletadas para a análise do nível de proteólise imediatamente após a separação do coágulo. Amostras dos queijos também foram coletadas para a análise da proteólise após 48 horas da produção.

As amostras de leite foram submetidas à análise dos níveis de proteína e cálcio de acordo com os métodos recomendados pela AOAC (1985)

e Vargas (1995), respectivamente. A proteólise no leite e soro foram determinadas pelo método colorimétrico descrito por Citti et al. (1963), usando-se um espectrofotômetro a 650nm.

Para a estimativa da proteólise no queijo, o nitrogênio total (NT), o nitrogênio solúvel (NS) em pH 4,4 e o nitrogênio não-proteico (NNP) foram determinados pelo método de Kjeldhal (AOAC, 1985), e a proteólise nas amostras de queijo foi expressa através de duas relações: NPN/NT, que determina a profundidade da proteólise, e NS/NT, que determina a extensão da proteólise.

Para a análise dos resultados, o número de leucócitos/mL de cada categoria de CCS foi transformado em $\log_{10}$. Os resultados obtidos para os dezoito lotes de leite foram usados para se determinar o coeficiente de correlação de Pearson (r) entre o log dos valores de leucócitos e os parâmetros químicos estudados. O teste t de Student com aproximação normal foi usado para comparar os valores de correlação em um nível de significância de 5% (GACULA & SINGH, 1984).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise estatística indicou uma correlação não significativa ($P > 0,05$) entre os valores de log do número de leucócitos/mL e todos os parâmetro estudados (conteúdo de caseína e cálcio no leite, proteólise no leite e soro, peso dos queijos e proteólise em queijo expressa como NPN/NT ou NS/NT), como mostrado na Tabela 1. De acordo com Barbano et al. (1991) e Le Roux et al. (1995), o leite apresenta uma grande variabilidade intrínseca. Estes autores observaram que a correlação entre a CCS e a composição dos parâmetros no leite melhora quando o leite dos quartos individuais da mesma vaca são utilizados, e se torna gradualmente menos significativa quando se usa o leite dos quatro quartos ou o leite de conjunto, como ocorreu no presente estudo. Devido a esta grande variabilidade intrínseca, a relação entre a CCS e o peso dos queijos não foi linear.

Grandison & Ford (1986), trabalhando com queijo Cheddar, não observaram modificações no rendimento, embora alterações de qualidade e composição tenham sido claramente visíveis. Além disso, de acordo com Barbano et al. (1991), para que se demonstre modificações no rendimento, é necessária a recuperação cuidadosa de toda a proteína e gordura durante o procedimento de fabricação, o que tornaria o procedimento de produção de queijos diferente daquele que normalmente se utiliza na indústria. Além disso, o peso maior dos queijos fabricados com leite de alta CCS deve ser analisados com cuidado, comparando-se o valor em termos de matéria seca do produto final, porque este tipo de queijo tende a reter mais umidade em sua massa (ALI et al., 1980; GRANDISON & FORD, 1986; BARBANO et al., 1991; KLEI et al., 1998).

Tabela 1. Coeficiente de correlação entre o log do número de leucócitos/mL no leite e parâmetros selecionados no leite, soro e queijo tipo *Mozzarella*.

Parâmetros comparados com o log de leucócitos /mL	Coeficiente de correlação (r)	
	Leite	
Teor de cálcio		0,36
Teor de caseína		0,09
Proteólise		-0,22
	Soro	
Proteólise		-0,07
	Queijos	
Peso individual		-0,05
Profundidade da proteólise (NPN/NT)		-0,24
Extensão da proteólise (NS/NT)		-0,52

NNP/NT – nitrogênio não-proteico / nitrogênio total

NS/NT – nitrogênio solúvel / nitrogênio total

O conteúdo de caseína obtido durante o experimento não se correlacionou estatisticamente com as categorias de CCS do leite. Uma explicação possível para este fato é que, embora o epitélio mamário possa estar lesado, as células restantes continuariam a produzir leite de composição normal, o que é geneticamente determinado (WEAVER & KROSER, 1977). Barbano et al. (1991) mostraram que o efeito da CCS no leite de vacas individuais é apenas observado quando os aumentos estão em torno de 100.000 a 127.000 células/mL, e o rendimento do queijo Cheddar é afetado usando-se leite com CCS dentro destes valores. Acima destes valores, estes autores relataram que as diferenças não foram tão significativas. Ao se utilizar a fórmula de Haenlein et al. (1972) para transformar o valor em mm do WMT no número de leucócitos/mL, observou-se no presente estudo que a categoria baixa CCS apresentou = 103.684 células/mL e a categoria alta CCS, = 264.196 células/mL, onde se esperaria verificar alterações de rendimento. Entretanto, nenhum efeito foi observado, provavelmente pelo uso do leite de conjunto.

Klei et al. (1998) relataram a ocorrência de proteólise mais rápida durante o armazenamento sob refrigeração de queijo Cottage fabricado com leite de alta CCS, o que poderia ser esperado no queijo tipo *Mozzarella*. Ma et al. (2000) relataram menor qualidade sensorial devido à alta proteólise no leite pasteurizado de alta CCS mantido sob refrigeração. Esta comparação, entretanto, não foi possível no presente estudo, uma vez que não se avaliou a ocorrência de proteólise sob refrigeração.

A proteólise que ocorre durante o armazenamento e maturação do queijo é devido aos efeitos residuais do coalho e aos efeitos da plasmina. A proteólise devido à grande quantidade de plasmina no leite mamífero foi relatada por diversos autores (POLITIS & NG-KWAI-HANG, 1988; SEAMAN et al., 1988; BARBANO et al., 1991; LE ROUX et al., 1995). A plasmina pode

estar aumentada devido à maior permeabilidade do epitélio lesado ou pela maior conversão do plasminogênio em plasmina no úbere afetado pela mastite. Somers & Kelly (2002) mostraram a intensidade da ativação da plasmina devido ao tratamento térmico. Estes autores afirmaram que quanto mais intenso o tratamento térmico, mais plasmina pode ser ativada. No presente estudo, a pasteurização lenta em baixa temperatura foi utilizada (63-65°C por 30 minutos), e, mesmo se o leite com alta CCS tivesse apresentado mais plasmina, ela poderia ter ficado inativa pela baixa intensidade do tratamento térmico, e nenhum efeito de proteólise ter sido visível, mesmo com o aumento da CCS.

CONCLUSÕES

O queijo tipo *Mozzarella* fabricado com leite de baixa (= 6,5 mm), média (6,6 a 12,4 mm), e alta (= 12,5 mm) CCS, como medido pelo WMT, não apresentou modificações nos parâmetros químicos selecionados, quando fabricada usando-se procedimentos padrão da indústria leiteira. Entretanto, como os valores da CCS do presente estudo apresentaram uma amplitude restrita, variando de = 103.684 células/mL (baixa CCS) e = 264.196 células/mL (alta CCS), recomenda-se maiores estudos sobre a influência de valores mais altos de CCS no rendimento e qualidade de queijo tipo *Mozzarella*.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP.

ABSTRACT

Mastitis is one of the most common diseases affecting dairy cattle, and it brings great economic losses to the milk producer. This research trial was

undertaken in order to assess the correlation between different somatic cell counts (SCC), estimated using the Wisconsin Mastitis Test (WMT) in milk from Holstein cows, and chemical characteristics of milk, whey and *Mozzarella* cheese manufactured from this milk. There were no significant correlation ($P > 0.05$) between WMT categories in milk (low: = 6.5 mm, medium: 6.6 to 12.4 mm, and high: = 12.5 mm) and casein and calcium content of milk; proteolysis in milk and whey; weight and proteolysis in cheese. Considering that the WMT range values used in the experiment corresponded to nearly = 103,684 cells/mL to = 264,196 cells/mL, the importance of studies regarding the possible effect of higher SCC values in milk on the yield and quality of *Mozzarella* cheese is stressed.

Key words: somatic cells; *Mozzarella* cheese; chemical analysis.

REFERÊNCIAS

- ALI, A.E., ANDREWS, A.T., CHEESEMAN, G.C. Influence of elevated somatic cell count on casein distribution and cheese-making. *J. Dairy Sci.*, v. 47, p. 393-400, 1980.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official methods of analysis*. 13. ed. Washington: AOAC, 1985. 1141p.
- BARBANO, D.M., RASMUSSEN, R.R., LYNCH, J.M. Influence of somatic cell count and milk age on cheese yield. *J. Dairy Sci.*, v. 74, p. 369-388, 1991.
- BLOSSER, T.H. Economic losses from and the national research program on mastitis in the United States. *J. Dairy Sci.*, v. 62, p. 119-124, 1979.
- FURTADO, M.M., NETO, J.P.M.L. *Tecnologia de queijos: manual técnico para a produção industrial de queijos*. 1. ed. São Paulo: Ed. Dipemar, 1994. 118p.
- CITTI, J.E., SANDINE, W.E., ELLIKER, P.R. *J. Dairy Sci.*, v. 46, p. 337, 1963.
- GACULA, J.R., SINGH, J. *Statistical Methods in Food and Consumer Research*. Orlando: Academic Press, 1984. 505p.
- GRANDISON, A.S., FORD, G.D. Effects of variations in somatic cell count on rennet coagulation properties of milk and on yield, composition and quality of Cheddar cheese. *J. Dairy Res.*, v. 53, p. 645-655, 1986.
- HAENLEIN, G.F.W., SCHULTZ, L.H., ZIKAKIS,

J.P. Composition of proteins in milk with varying leukocyte contents. *J. Dairy Sci.*, v. 56, p. 1017-1024, 1972.

KITCHEN, B.J. Review of the progress of dairy science. Bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic test. *J. Dairy Res.*, v. 48, p. 167-188, 1981.

KLEI, L., YUN, J., SAPRU, A., LYNCH, J., BARBANO, D.M., SEARS, P., GALTON, D. Effect of milk somatic cell count on cottage cheese yield and quality. *J. Dairy Sci.*, v. 81, p. 1205-1213, 1998.

LE ROUX, Y., COLIN, O., LAURENT, F. Proteolysis in samples of quarter milk with varying somatic cell counts. 1. Comparison of some indicators of endogenous proteolysis in milk. *J. Dairy Sci.*, v. 78, p. 1289-1297, 1995.

MA, Y., RYAN, C., BARBANO, D.M., GALTON, D.M., RUDAN, M.A., BOOR, K.J. Effect of somatic cell count on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk. *J. Dairy Sci.*, v. 83, p. 264-274, 2000.

NG-KWAI-HANG, K.F., HAYES, J.F., MOXLEY, J.E., MONARDES, H.G. Variability in test-day milk production and composition and relation of somatic cell counts with yield and compositional changes of bovine mastitis. *J. Dairy Sci.*, v. 67, p. 361-366, 1984.

POLITIS, I., NG-KWAI-HANG, K.F. Effects of somatic cell counts and milk composition on the coagulation properties of the milk. *J. Dairy Sci.*, v. 71, p. 1740-1746, 1988.

SEAMAN, A.I., VERDI, R.J., GALTON, D.M., BARBANO, D.M. Effect of mastitis on proteolytic activity in bovine milk. *J. Dairy Sci.*, v. 71, p. 505-512, 1988.

SOMERS, J., KELLY, A.L. Contribution of plasmin to primary proteolysis during ripening of cheese: effect of milk heat treatment and cheese cooking temperature. *Lait*, v. 82, p. 181-191, 2002.

VARGAS, O.L. *Manual for physical and chemical analysis of the Centro de Pesquisa e Ensino Instituto de Laticínios Cândido Tostes*. Juiz de Fora: EPAMIG, 1995. 52p.

WEAVER, J.C., KROSER, M. Protein, casein and non-casein protein percentages in milk with high somatic cell counts. *J. Dairy Sci.*, v. 60, p. 878-881, 1977.

DETERMINAÇÃO DO COEFICIENTE EFETIVO DE DIFUSÃO DO CLORETO DE SÓDIO EM QUEIJO MUSSARELA*

Determination of Diffusion Coefficient of Sodium Chloride (NaCl) in *Mozzarella* Cheese

Rafael da C. I. Fontan^{1**}

Marcelo M. Carvalho¹

Paulo S. Monteiro¹

Luis A. Minim²

Jane S. R. Coimbra²

RESUMO

O presente trabalho aborda a determinação do coeficiente efetivo de difusão (D_{eff}) do cloreto de sódio (NaCl) em queijo mussarela. Uma matriz de queijo cilíndrica teve sua superfície revestida com parafina, exceto nas pontas, uma das quais foi mantida em contato com uma solução salina agitada de tal forma que o sal pudesse se difundir axialmente através do queijo. Considerando o processo difusivo do sal no queijo, foi desenvolvido um modelo matemático, a partir do balanço diferencial de massa e da aplicação da segunda lei de Fick para difusão. Os experimentos foram realizados em banho termostático com temperatura controlada e concentração de sal conhecida. Através da consideração de sólido semi-infinito, a solução analítica do modelo foi obtida, tendo como parâmetro a determinar o coeficiente efetivo de difusão D_{eff} . O perfil de concentração de sal no queijo foi característico de difusão em sólidos. O ajuste do modelo aos dados experimentais, por meio de regressão não-linear, forneceu um valor de D_{eff} igual a $0,91 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$, valor este condizente com valores de D_{eff} encontrados na literatura.

1. INTRODUÇÃO

O emprego de cloreto de sódio (NaCl) na conservação de alimentos é feito desde tempos remotos, podendo ser citado como exemplo o seu uso na conservação de peixes, empregado ao longo da história da humanidade (WANG, TANG e CORREIA, 2000). Em queijos, além de prevenir o crescimento de microrganismos, previne também o desenvolvimento de acidez, melhora o *flavor*, textura e cor, além de ajustar o teor de umidade do queijo (PAYNE e MORISON, 1999).

O processo de salga de queijos pode ser feito por meio de salmoura, misturado à massa ou espalhado superficialmente sobre ele (BEHMER, 1985; FURTADO, 1991). Na salga em salmoura, os blocos de queijo são imersos em soluções concentradas de sal por um período que varia normalmente de 12 horas a sete dias, dependendo do tipo de queijo. Como resultado, tem-se a difusão do sal para dentro do queijo, acompanhada de um transporte contracorrente de água em direção à salmoura. Ao fim do período de salga, o queijo é retirado da salmoura e estocado para que ocorra a maturação, enquanto o sal e a água

continuam a se difundir no interior do mesmo até atingir uma condição de equilíbrio.

O teor final de sal e de umidade nos queijos é influenciado pelo tempo de imersão na salmoura, pela temperatura e pelo tamanho dos blocos. Desse modo, conhecer a taxa com que o sal ou a umidade se difundem pelo queijo torna-se de fundamental importância para prever e aperfeiçoar o tempo de salga, além de permitir uma melhor padronização do produto final (PAYNE e MORISON, 1999).

Uma das maneiras de se tentar descrever o transporte de sal e água durante o processo clássico de salga por salmoura é utilizar a segunda lei de Fick para a difusão, considerando constante o coeficiente de difusão (CUSSLER, 1997). Esse coeficiente de difusão representa a difusão aparente no queijo, considerando-o uma matriz sólida e o sal como um dos dois componentes que formam a mistura binária em difusão (PAJONK, SAUREL e ANDRIEU, 2003).

O objetivo do presente trabalho foi determinar o coeficiente de difusão efetiva (D_{eff}) do NaCl na matriz de queijo mussarela, baseando-se na segunda lei de Fick para a difusão. Desta forma, pode-se

* Trabalho realizado no Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), campus universitário, s/n, Viçosa - MG - Brasil, 36571-000.

** e-mail para contato: rafaelfontan@yahoo.com.br

1 Mestrandos em Ciência e Tecnologia de Alimentos, DTA/UFV.

2 Professores Adjuntos, DTA/UFV

descrever o processo difusivo de sal para qualquer geometria e tamanho do queijo, possibilitando calcular o tempo de salga para uma dada concentração média final especificada, bem como o tempo em que o queijo terá sua concentração de sal uniformizada.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Procedimento Experimental

Para o experimento em questão foi utilizado o queijo tipo mussarela, obtido, na etapa imediatamente anterior a salga, de um pequeno produtor da região de Viçosa - MG. Amostras de queijo foram preparadas cortando-se o mesmo em cilindros de 5,0 cm de altura e 1,5 cm de diâmetro. Os cilindros foram revestidos com camadas alternadas de parafina e filme plástico comercial de PVC, de modo que apenas a seção transversal do cilindro pudesse entrar em contato com a salmoura, garantindo a difusão unidimensional longitudinal do sal no queijo. A salmoura utilizada continha uma concentração de 185,5 g/L de cloreto de sódio e foi mantida a uma temperatura de 12°C com o auxílio de um banho termostático, simulando as condições encontradas na indústria.

As amostras foram mergulhadas parcialmente na salmoura, de acordo com a Figura 1, de modo a garantir a difusão unidimensional do sal no queijo. O volume da salmoura era muito superior ao volume das amostras de queijo, de tal forma que foi possível considerar a concentração do sal na salmoura constante. A solução da salmoura foi agitada vigorosamente durante todo o experimento de tal forma que a resistência à transferência de massa do sal através da interface sólido fluido foi minimizada. Foram retiradas amostras para análise em intervalos de tempo de uma hora, até um tempo final de imersão de oito horas.

Após isto, a amostra era retirada da salmoura e seu revestimento removido. O cilindro de queijo era então imediatamente cortado em fatias de aproximadamente 1,5 mm de espessura para a determinação do teor de sal.

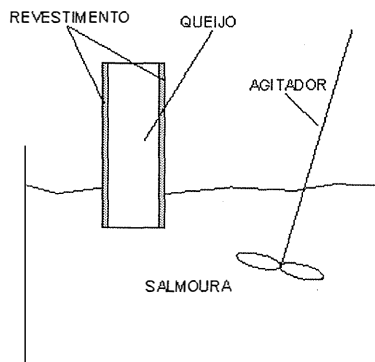


Figura 1: Representação esquemática do experimento realizado.

2.2. Metodologia analítica

A concentração do cloreto de sódio na salmoura foi obtida por determinação titulométrica com nitrato de prata (AgNO_3), sendo o cromato de potássio (K_2CrO_4) o agente indicador. A metodologia utilizada foi adaptada do método oficial 960.29 da AOAC (1996) em que se utilizou a solução de nitrato de prata a uma concentração de 0,005 N em vez da concentração de 0,1 N descrita no método oficial. Tal adaptação foi necessária em virtude da pequena massa das amostras que foram analisadas (cerca de 0,6 g em cada fatia) e do pequeno teor de sal nas mesmas.

2.2. Teoria

O modelo matemático para descrever o processo difusivo foi desenvolvido através do balanço diferencial de massa em um cilindro. Foi assumido que não existiam efeitos convectivos dentro do queijo, que a difusão era unidimensional (direção axial no cilindro), que a concentração de sal na superfície do queijo em contato com a salmoura era constante e igual à da salmoura e que a concentração do sal na outra extremidade do queijo não variava durante o tempo de experimentação (conceito de sólido semi-infinito). Desse modo, a equação diferencial resultante do modelo, após a introdução da lei de Fick, é dada pela equação 1:

$$\frac{\partial C(z,t)}{\partial t} = D_{\text{eff}} \cdot \frac{\partial^2 C(z,t)}{\partial z^2} \quad (1)$$

com as seguintes condições inicial e de contorno:

$$\begin{aligned} t=0 &\Rightarrow C(z,0)=C_0 \\ t>0 &\Rightarrow \begin{cases} C(0,t)=C_s \\ C(\infty,t)=C_0 \end{cases} \end{aligned} \quad (2)$$

Após manipulação matemática, a solução analítica da equação 1 é (CUSSLER, 1997):

$$\frac{C_s - C(z,t)}{C_s - C_0} = \text{erf}\left(\frac{z}{\sqrt{4 \cdot D_{\text{eff}} \cdot t}}\right) \quad (3)$$

onde: C é a concentração de NaCl no queijo
 C_s é a concentração de NaCl na salmoura
 C_0 é a concentração inicial de NaCl no queijo
 D_{eff} é o coeficiente de difusão efetivo
 O valor de D_{eff} foi obtido por regressão não linear, utilizando-se o método da secante (SAS; 1999), assumindo como critérios de aceitação do valor obtido o teste de F, a soma dos quadrados dos erros e a análise de dispersão de resíduos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O perfil de concentração de NaCl ao longo do tempo no queijo mussarela é apresentado na Figura 2. Pode-se observar o aumento da concentração de NaCl no interior do queijo com o passar do tempo, fato este causado pela difusão do sal na amostra.

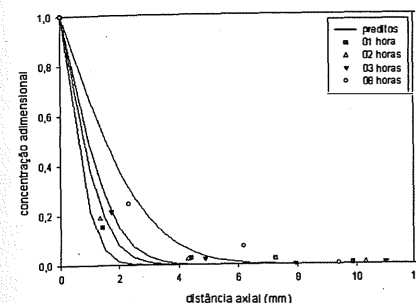


Figura 2: Perfil de concentração de NaCl ao longo do tempo.

A regressão não-linear usada para a determinação de D_{eff} a partir da equação 3, forneceu um valor de $0,91 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ para a temperatura de trabalho de 12°C. Este valor foi aceito dada a significância do teste F ($p < 0,05$), a baixa soma de quadrados dos erros (0,012) e a dispersão aleatória do resíduo obtida.

O valor estimado é próximo ao encontrado na literatura para alguns queijos de massa dura e semi-dura, como no trabalho realizado por PAJONK, SAUREL e ANDRIEU (2003) com queijo Emmental, onde foram obtidos valores entre $0,62$ e $2,22 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ para o coeficiente de difusão do NaCl na faixa de temperatura de 4°C a 18°C. GROS e RÜEGG (1987) estimaram valores de D_{eff} entre $0,81$ e $2,18 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ para a difusão do NaCl em queijo Sbrinz para temperaturas da salmoura entre 7°C e 20°C, enquanto que GEURTS, WALSTRA e MULDER (1974) obtiveram, para o queijo Gouda a 12,5°C, valores de D_{eff} entre $1,16$ e $2,99 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$.

4. CONCLUSÕES

O valor estimado para o coeficiente efetivo de difusão do NaCl em queijo mussarela, à temperatura de 12°C, foi igual a $0,91 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$, valor próximo ao encontrado na literatura para a difusão do sal em outros tipos de queijo.

ABSTRACT

The goal of this work was to obtain the effective diffusion coefficient (D_{eff}) of sodium chloride in mozzarella cheese. A cylindrical cheese matrix was used, with its surface covered with paraffin, except at one end which was kept in contact with an agitated salt solution, allowing the axial diffusion through the cheese. Considering the cheese as a semi-infinite solid, a mathematical model was developed based on the differential mass balance and the application of Fick's law of diffusion. Temperature and salt concentration were

maintained constant throughout the experiments. The obtained salt concentration profile in the cheese was characteristic of diffusion in solids and the adjustment of the model to experimental data by a non-linear regression resulted in a D_{eff} value equal to $0,91 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$, which in accordance to the values found in literature.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC – Official methods of analysis of AOAC INTERNATIONAL, 16th edition, Gaithersburg, MD. method 960.29, 1996.

BEHMER, M. L. A. *Tecnologia do leite: leite, queijo, manteiga, caseína, iogurte, sorvetes e instalações – produção, industrialização, análise*. 15ª edição, Livraria Nobel, São Paulo, p. 136-137, 1985.

CUSSLER, E. L. *Diffusion, mass transfer in fluid systems*, 2nd edition, Cambridge University Press, New York, 580p, 1997.

FURTADO, M. M. *A arte e a ciência do queijo*, Editora Globo, São Paulo, p. 149, 1991.

GEURTS, T. J., WALSTRA, P. and MULDER, H., Water binding to milk protein, with particular reference to cheese, *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 28, p. 46-72, 1974.

GROS, J. B. and RÜEGG, M., Determination of the apparent diffusion coefficient of sodium chloride in model foods and cheese, In F. Jowitt, B. Escher, M. Kent, B. McKenna, & M. Roques (Eds.), *Physical properties of foods--2* (pp. 71-108). London: Elsevier, 1987.

PAJONK, A. S., SAUREL, R. and ANDRIEU, J., Experimental study and modeling of effective NaCl diffusion coefficients values during Emmental cheese brining, *Journal of Food Engineering*, 60, p. 307-313, 2003.

PAYNE, M. R. and MORISON, K. R., A multi-component approach to salt and water diffusion in cheese, *International Dairy Journal*, 9, p. 887-894, 1999.

SAS Institute Inc. SAS User's guide: Statistics Version 8 edition, Cary, North Caroline, USA (1999).

WANG, D., TANG, J., CORREIA, L. R. Salt diffusivities and salt diffusion in farmed Atlantic salmon muscle as influenced by rigor mortis, *Journal of Food Engineering*, 43, p. 115-123, 2000.

FUNCIONALIDADE DOS LIPÍDIOS

Lipid functionality

ROCHA, F. A.¹
ARAÚJO, W. M. C.²
BORGO, L. A.³
ITO, M. K.⁴

RESUMO

Este artigo apresenta uma revisão sobre a importância dos lipídios na alimentação, sua classificação e distribuição nos alimentos, assim como a sua funcionalidade, principalmente em leites e queijos. Discute a importância das gorduras no desenvolvimento do *flavor*, identificando as possíveis substâncias envolvidas no processamento destes produtos.

Palavras-chave: leite, queijos, lipídios, funcionalidade

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o aumento na oferta de produtos industrializados influenciou padrões alimentares da população, levando a um aumento no consumo de alimentos ricos em gorduras gerando, posteriormente, uma preocupação com o excesso da ingestão desses nutrientes e, sobretudo, de alimentos ricos em gorduras e com alto teor de ácidos graxos saturados.

Os leites e derivados são importantes fontes dietéticas de cálcio e proteína, porém contribuem com quantidades significativas de gorduras saturadas e colesterol. As gorduras são nutrientes responsáveis por funções importantes no organismo, como o fornecimento de energia; são excelentes veículos para as vitaminas lipossolúveis; fornecem ácidos graxos essenciais e, além disso, possuem importante função sensorial, incrementando o paladar dos alimentos. Por outro lado, o consumo excessivo de gorduras saturadas e colesterol é fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e obesidade (Pereira, 1998).

Considerando a relação consumo de alimentos e qualidade de vida, as indústrias de alimentos buscaram desenvolver novos produtos para atender a estes requisitos e que sensorialmente fossem bem aceitos.

Esta revisão apresenta a importância dos lipídios no desenvolvimento das características sensoriais de queijos, justificando as mudanças produzidas com a redução do teor de gordura.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Aspectos gerais

Os lipídios são quimicamente um grupo heterogêneo de compostos relacionados com os ácidos graxos. Têm a propriedade de ser relativamente insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos. Na alimentação, são relevantes não apenas por seu valor energético, mas, também, por transportarem vitaminas lipossolúveis, ácidos graxos essenciais e serem parcialmente responsáveis pela estrutura de membranas celulares (Murray *et al.*, 1994).

São classificados em simples quando, por hidrólise total, originam somente ácidos graxos e álcoois; em compostos, quando, por hidrólise total, produzem ácidos graxos e álcoois que apresentam em suas moléculas um outro grupo funcional: fosfolipídios, glicolipídios e sulfolipídios. Os lipídios derivados são aqueles provenientes da hidrólise dos lipídios simples e compostos: ácidos graxos, hidrocarbonetos, vitaminas lipossolúveis, pigmentos, compostos nitrogenados (Bobbio, 1995). Óleos e gorduras são lipídios simples; são ésteres de ácidos graxos de alto peso molecular e glicerol. Podem ser utilizados como sinônimos, visto que ambos possuem a mesma estrutura química básica; diferem apenas quanto à consistência à temperatura ambiente: as gorduras são sólidas e os óleos, líquidos (Robinson, 1991; Bobbio, 1995).

A maioria das gorduras é ingerida na forma de triacilgliceróis e fosfolipídios, que são compostos por ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados, de acordo com a presença ou não de duplas ligações na cadeia carbônica. Os triacilgliceróis são os lipídios mais simples e abundantes, e os principais componentes no armazenamento ou depósito de gordura nas células das plantas e animais (Lehninger, 1993).

Os triacilgliceróis são formados por três moléculas de ácidos graxos esterificados com glicerol. Podem ocorrer em fontes naturais não-modificadas (gorduras animais e vegetais) ou em produtos alimentícios industrializados. Os fosfolipídios são lipídios que contêm, além de ácidos graxos e álcool, resíduos de ácido fosfórico. São os principais constituintes lipídicos das membranas celulares (Lehninger, 1993).

Os ácidos graxos possuem, em sua constituição, uma cadeia hidrocarbonada e um grupo carboxílico terminal. Os ácidos graxos que apresentam uma ligação insaturada recebem o nome de monoinsaturados e os que contêm mais de uma ligação insaturada são chamados de poliinsaturados. Os que não possuem insaturação são denominados saturados (Lehninger, 1993).

Segundo Mayes (1990), os ácidos graxos são classificados também de acordo com o número de carbonos presente em suas moléculas. Ácidos graxos de cadeia curta são os que apresentam 2 a 4 carbonos (ácidos propiônico, butírico, acético); ácidos graxos de cadeia média, 6 a 12 carbonos (ácidos caprílico, láurico, capríco, capríco); ácidos graxos de cadeia longa, 14 a 24 carbonos (ácidos mirístico, palmítico, esteárico). Para Innis (1991), ácidos graxos com 16 a 18 carbonos, com uma dupla ligação, são chamados de monoinsaturados (ácidos oléico, elaidico, palmitoléico); e ácidos graxos poliinsaturados são os que possuem de 18 a 24 carbonos com mais de uma dupla ligação (ácidos linoléico, linolênico, araquidônico, eicosa-pentaenóico e docosaexaenóico).

O organismo humano não produz dois importantes ácidos graxos: o linoléico e o linolênico, por não possuir as enzimas necessárias para a sua produção; por conseguinte, estes têm que ser obtidos na dieta alimentar (Innis, 1991). Além disso, os ácidos araquidônico, eicosa-pentaenóico e docosaexaenóico são sintetizados a partir dos ácidos linoléico e linolênico (Moore, 1990).

As principais fontes alimentares dos ácidos linoléico e linolênico são os óleos ricos em gorduras poliinsaturadas. O ácido linoléico é abundante em óleos de girassol, milho e soja. O óleo de linhaça é excelente fonte de ácido linolênico. Os ácidos eicosa-pentaenóico e docosaexaenóico são encontrados em quantidades

maiores em peixes de água fria e mamíferos marinhos (Belda, 1991).

Os ácidos graxos insaturados podem ser subcategorizados pelo isômero posicional da dupla ligação em *cis* e *trans*. Os ácidos graxos insaturados com configuração *trans* são produzidos mediante a hidrogenação de ácidos graxos poliinsaturados e monoinsaturados (Sommerfield, 1983). Os ácidos graxos *trans* estão presentes em margarinas (White, 1999).

Diversos estudos sugerem que os ácidos graxos com configuração *trans* elevam a concentração de colesterol total e colesterol-LDL e demonstram que a ingestão de ácidos graxos *trans* está associada à prevalência de hiperlipidemias nas populações com consumo excessivo de *fast-foods* (Troisi, 1992).

As gorduras com configuração *cis* são encontradas tanto em tecidos animais como em vegetais. O ácido monoinsaturado *cis* mais comum é o oléico. A maioria das gorduras animais é rica em ácido graxo saturado. Dietas ricas em ácidos graxos *cis* e pobres em ácidos graxos saturados, como as consumidas na região Mediterrânea, estão associadas a baixos índices de doenças cardíacas (Sirtori *et al.*, 1986).

Muitos estudos demonstram a relação entre a diminuição da incidência de doenças cardiovasculares em resposta à menor ingestão de gordura total, gordura saturada e colesterol e sugerem que, para a prevenção das dislipidemias, é fundamental controlar a ingestão de lipídios, bem como a sua qualidade, enfatizando principalmente a proporção entre os tipos de gorduras existentes na dieta (Giannini, 1998). A ingestão de ácidos graxos poliinsaturados e/ou monoinsaturados e de fibras se apresenta como fator preventivo para as dislipidemias (Lolio *et al.*, 1995).

Para Varnam (1994), a ingestão de alimentos com altos níveis de gordura se tornou relevante, especialmente aqueles relacionados com a ingestão de gorduras do leite, por estarem associadas com o desenvolvimento de cardiopatias, estabelecendo uma imagem do não saudável ao consumo de leites e produtos lácteos por três fatores: elevado conteúdo de gordura do leite integral e derivados, alto conteúdo de colesterol e de ácido graxos saturados.

O Brasil encontra-se em fase de transição nutricional, uma vez que se observa um aumento progressivo da obesidade e suas consequências, emergindo como problema de saúde pública. Resultados apresentados pelo Programa Nacional de Saúde e Nutrição (PNSN), em 1989, e comparados a estudos do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) permitem verificar um expressivo aumento da obesidade em adultos entre 25 e 64 anos de idade (Monteiro, 1995).

1 Nutricionista. Pós-graduanda em Nutrição Humana. Universidade de Brasília. fernanda.alvares@ibest.com.br
2 Doutora em Tecnologia de Alimentos. Universidade de Brasília. wilma.araujo@terra.com.br
3 Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade de Brasília. borgo@unb.br
4 Doutora em Nutrição. Universidade de Brasília. marina@unb.br

Esta transição nutricional é representada pela mudança do padrão alimentar da população, com a adoção da chamada dieta ocidental, rica em gorduras – principalmente de origem animal, em açúcares e reduzida em carboidratos complexos e fibras (Monteiro, 1995).

O consumo de leite e derivados apresenta um crescimento constante (Ferraz, 2001), e sua produção se destaca como um dos seis produtos mais importantes da agropecuária brasileira, com um aumento de 150% nos últimos 25 anos (Vilela, 2002).

2.2. Lipídios em alimentos – aspectos funcionais

A tabela 1 apresenta as principais fontes e quantidades de gorduras saturadas, monoinsaturadas e poliinsaturadas em alimentos de origem animal e vegetal, segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA).

Os lipídios possuem 3 funções nos alimentos: gastronômica/sensorial, fisiológica e nutricional. Sensorialmente, são responsáveis por conduzir substâncias responsáveis por odores e sabores, por contribuir para a palatabilidade, maciez, textura (Pomeranz, 1991).

O leite bovino contém cerca de 3,5–5,0g/100ml de gordura, na forma de glóbulos emulsificados (Jensen *et al.*, 1991). Predominam os triacilgliceróis, que perfazem cerca de 98% da composição lipídica, acompanhados de pequenas concentrações de diacilgliceróis, monoacilgliceróis

e ácidos graxos livres (Gunstone *et al.*, 1994). Mensuráveis teores de fosfolipídios, colesterol, ésteres de colesterol, cerebrosídeos e gangliosídeos estão também presentes (Jensen *et al.*, 1991). Outros constituintes presentes em pequenas concentrações – vitaminas lipossolúveis, componentes do *flavor* e pigmentos carotenóides – são importantes no desenvolvimento das características sensoriais e nutricionais do leite (Varnam, 1994).

A textura do leite e de seus derivados é consequência da estrutura química de seus constituintes. Segundo Caruso e Oliveira (1984), o leite é uma emulsão de glóbulos graxos estabilizada por substâncias albuminóides em soro que contém em solução lactose, proteínas, sais orgânicos, minerais e demais produtos em quantidades mínimas: lecitina, uréia, aminoácidos, ácidos cítrico, láctico e acético, vitaminas, enzimas e outros.

Entre as propriedades funcionais dos lipídios do leite, a mais relevante se relaciona ao sabor, dependente da qualidade e quantidade de lipídios, ácidos graxos de cadeia curta e seus derivados. Os triacilgliceróis são predominantes e podem ser hidrolisados em ácidos graxos e glicerol por enzimas presentes no leite ou por ação do calor. O armazenamento em temperaturas flutuantes e a agitação mecânica podem romper a proteção da membrana dos glóbulos de gordura acelerando a hidrólise enzimática, provocando o

Tabela 1: Concentração de gorduras de origem vegetal e animal (USDA, 2001).

Fonte	Gordura Saturada, %	Gordura poliinsaturada, %	Gordura mono insaturada, %	Lipídios totais, %
Óleo de canola	7	30	59	100
Óleo de girassol	10	40	45	100
Óleo de milho	13	59	24	100
Óleo de oliva	14	8	74	100
Óleo de soja	14	58	23	100
Óleo de amendoim	17	32	46	100
Óleo de algodão	26	52	18	100
Óleo de palma	49	9	37	100
Óleo de coco	87	2	6	100
Margarina	14	27	37	80
Manteiga	50	3	23	81
Leite integral	2	0	1	3
Queijo Cheddar	21	1	9	33
Queijo Mussarela	13	1	7	22
Queijo Prato	17	1	9	28
Ricota (leite integral)	8	0	4	13
Iogurte integral	2	0	1	3
Bacon cru	21	7	26	58
Sebo bovino	50	4	42	100

aumento na concentração de ácidos graxos livres – ácidos butírico, capríco e cáprico, que participam das reações químicas relacionadas ao desenvolvimento do sabor (Pomeranz, 1991).

Esses ácidos graxos de cadeia curta (butírico, capríco, cáprico), contidos na gordura do leite, quando liberados pela atividade da lipase, contribuem para o desenvolvimento do *flavor* em queijos (Mistry, 2001).

O queijo é definido como um produto obtido pela coagulação enzimática da caseína; o processo envolve a concentração dos principais componentes do leite e é regulado por diferentes fatores, como pH, temperatura, tempo e agitação (Law, 1997).

A produção do *flavor* em queijos maturados resulta de uma série de mudanças bioquímicas que ocorrem durante a maturação do coalho, causadas pela interação de bactérias iniciadoras, enzimas do leite, enzimas da renina e lipases presentes na flora secundária (Urbach, 1997). Os componentes envolvidos no aroma e no *flavor* em queijos derivam de dois importantes caminhos metabólicos: catabolismo das proteínas e de lipídios (Molimard & Spinnler, 1996).

O *flavor* de origem proteolítica resulta da degradação das proteínas, formando aminoácidos livres e peptídeos de cadeia curta que, por reações de desaminação, transaminação e descarboxilação, resultam na formação de ácidos graxos, aminas, aldeídos e álcoois, que possuem propriedades flavorizantes (Adda *et al.*, 1982). Uma intensa atividade proteolítica pode desenvolver sabor amargo, porque a hidrólise das proteínas leva à formação de elevadas taxas de peptídeos hidrofóbicos de cadeia curta (Walstra *et al.*, 2001).

A lipólise em queijos é devida à presença de enzimas lipolíticas – hidrolases, que clivam a ligação éster entre o ácido graxo e o glicerol do triacilglicerol, produzindo ácidos graxos livres, mono e diacilgliceróis (Deeth & Touch, 2000). As enzimas lipolíticas podem ser classificadas em esterases ou lipases. As esterases hidrolisam a cadeia acil-éster entre os carbonos 2 a 8 e atuam em substratos solúveis em soluções aquosas, enquanto a lipase hidrolisa as cadeias acil-éster de 10 ou mais átomos de carbono e age em substratos emulsificados (Chich *et al.*, 1997).

A hidrólise lipídica resulta na formação de ácidos graxos livres que podem contribuir, diretamente, para a formação do *flavor* em queijos e servir de substrato para a produção de catabólitos e produtos altamente flavorizantes, como as metilcetonas, lactonas, ésteres, álcoois secundários e aldeídos (Tomasini *et al.*, 1993). Como parte dessas substâncias é solúvel em lipídios, a gordura também modifica a percepção e a volatilidade desses componentes, principalmente na boca (Degouy, 1993).

Geralmente, níveis reduzidos de ácidos butírico, capríco e cáprico indicam baixa atividade lipolítica, resultante da ação de microrganismos. Esses ácidos graxos livres de cadeia curta e média são derivados principalmente da lipólise dos triacilgliceróis, e uma proporção pequena, com mais de 6 átomos de carbono, é derivada da degradação da lactose, de aminoácidos e da oxidação de cetonas, ésteres e aldeídos.

Os ácidos graxos de cadeia longa, com mais de 12 átomos de carbono, têm um papel secundário na formação do *flavor* por possuírem um alto limiar de percepção (Molimard & Spinnler, 1996), enquanto os de cadeia curta e média – 4 a 12 átomos de carbono – possuem um limiar de percepção baixo; cada ácido graxo é responsável por um *flavor* próprio. O ácido butanóico contribui com o *flavor* rançoso. O ácido hexanóico possui um *flavor* pungente de queijo azul, o ácido octanóico apresenta um *flavor* similar ao da cera, ao azedo e ao rançoso.

Dependendo de suas concentrações e do limiar de percepção, os ácidos graxos voláteis podem contribuir positivamente para o aroma dos queijos ou para defeitos de rancificação. O efeito do *flavor* produzido por ácidos graxos livres é função do pH. Em queijos com elevado valor de pH, como as superfícies de queijos maturados por bactérias, o efeito do *flavor* pode ser neutralizado (Molimard & Spinnler, 1996).

Woo *et al.* (1984) encontraram altos teores de ácidos butanóico e hexanóico em queijo Limburger e atribuíram a estes compostos o desenvolvimento de um aroma forte, característico desse tipo de queijo. Os ácidos graxos livres são importantes contribuintes para o *flavor* em variedades de queijo italiano duro, como o romano, o parmesão e o provolone (Aston & Dulley, 1982). O queijo mussarela possui baixa concentração de ácidos graxos livres, que está relacionado com seu *flavor* suave (Woo & Lindsay, 1982). Ácidos graxos livres, em particular o butanóico, o propanóico e o etanóico, foram correlacionados com *flavor* em queijo suíço (Vangtal & Hammond, 1986).

Quanto aos componentes voláteis, os acetaldeídos são os mais comuns aldeídos encontrados em queijos e se caracterizam pelo sabor adocicado (Langsrud & Reinbold, 1973). As cetonas possuem um componente, o diacetil, que é responsável pelo sabor amanteigado. É formado pela ação de vários microrganismos e pode ser reduzido a acetofina (3-hidroxi-2-butanona) e, conseqüentemente, acetona (Molimard & Spinnler, 1996). Acetofina é um componente que contribui para o sabor amanteigado em queijo Cheddar (Chin & Rosenberg, 1997). Trabalhos realizados por esses autores mostram que amostras de queijo Cheddar,

produzido com leite integral, apresentam maiores concentrações de acetofina, quando comparadas a resultados obtidos por Felton & Guinee (2000) para queijos Cheddar com reduzido teor de gordura. O ácido acético é caracterizado pelo sabor ácido (Milo & Reineccius, 1997). É produzido de aminoácidos – alanina e serina – por ação bacteriana (Molimard & Spinnler, 1996).

Os aldeídos são formados pela transaminação dos aminoácidos, pela degradação de Strecker e podem ainda ser formados por ação microbiana (Wilkins *et al.*, 1986). Alguns aldeídos de cadeia linear, como o butanal, heptanal e nonanal, podem ser formados pela β -oxidação de ácidos graxos insaturados. O queijo gruyere e o parmesão possuem altas concentrações de aldeídos com cadeias lineares (Moio *et al.*, 1993); estudo realizado por Engels *et al.* (1997) detectou a presença de aldeído nas frações hidrossolúveis de queijo, em todas as variedades analisadas.

Em queijos com *flavor* muito intenso, como os queijos de pasta azul, predominam as metilcetonas, formadas pela degradação dos lipídios por microrganismos (Walstra *et al.*, 2001). As metilcetonas são formadas no queijo por ação das lipases de fungos como o *Penicillium roquefort* (Urbach, 1997) e o *Penicillium camembert* (Molimard & Spinnler, 1996). As taxas de produção de metilcetonas e de ácidos graxos são afetadas pela temperatura, pelo pH e pelo estado fisiológico destes microrganismos (Fan *et al.*, 1976). O aumento das concentrações de metilcetonas também foi verificado durante a maturação de queijo emmental (Thierry *et al.*, 1999).

Ésteres são produtos do catabolismo dos ácidos graxos e são componentes voláteis em queijos (Urbach, 1997). São formados pelas reações de esterificação entre os ácidos graxos de cadeia curta e média e álcoois derivados da fermentação da lactose ou do catabolismo de aminoácidos (Yoshioka & Hashimoto, 1983). São importantes contribuintes para o *flavor* do queijo parmigiano-reggiano (Meinhart & Schreier, 1986).

Os álcoois secundários são resultantes da lipólise e podem contribuir para o *flavor* em queijos (Arora *et al.*, 1995). Propanol, butanol, octanol e nonanol são encontrados na maioria dos queijos e são típicos componentes do queijo azul; podem ainda ser formados pela redução enzimática de metilcetona (Engels *et al.*, 1997).

Lactonas são componentes cíclicos (Fox *et al.*, 1993) formadas pela esterificação intramolecular dos hidroxiácidos (Christie, 1983). Estudos sobre a formação das lactonas em gorduras do leite demonstram que elas são produzidas pelo calor, na presença de água; os hidroxiácidos são seus precursores (Eriksen, 1976). A hidroxilação dos ácidos graxos pode ser resultante do

catabolismo normal dos ácidos graxos. As lactonas também podem ser originadas de ácidos graxos insaturados através da ação de lipoxigenases e hidratases (Dufossé *et al.*, 1994). O potencial de produção de lactonas depende de fatores como alimentação e raça do animal, estação do ano e estágio de lactação (Fox *et al.*, 2000). Em queijos, as lactonas contribuem com o sabor amanteigado (Dirinck & De Winne, 1999).

Industrialmente, as transformações responsáveis pelo *flavor* e pela textura dos queijos são conduzidas por dois processos enzimáticos: queijo modificado enzimaticamente e queijo com maturação acelerada. As enzimas lipolíticas e/ou proteolíticas são adicionadas em pequenas quantidades para incrementar a formação do *flavor* e da textura do queijo, objetivando-se a redução do tempo de maturação e, conseqüentemente, a liberação mais rápida do produto, com menor custo de estocagem (Kosikowski, 1988).

A gordura contribui para características físicas e tem influência na reologia do queijo. Também confere cremosidade ao alimento, realça as propriedades de suavidade e palatabilidade, facilitando sua mastigação e deglutição (Degouy, 1993).

A reologia está relacionada ao corpo e à firmeza do produto, consistindo, principalmente, na sua viscosidade e elasticidade. A viscosidade é controlada, principalmente, pela umidade e pelo conteúdo de cálcio, enquanto a elasticidade correlaciona-se com a extensão da lavagem do coalho e o grau de maturação (Davis, 1986).

Segundo a legislação brasileira, os queijos são classificados de acordo com seu conteúdo de matéria gorda no extrato seco em: extra gordo ou duplo creme (mínimo de 60%); gordo (de 45% a 59,9%); semigordo (25% a 44,9%), magro (10% a 24,9%) e desnatado (menos de 10%).

Trabalhos recentes demonstram a correlação entre ingestão de lipídios e o incremento de doenças crônico-degenerativas (Pereira, 1998; Giannini, 1998). Com o intuito de minimizar ou prevenir problemas de saúde pública, a indústria de alimentos procura desenvolver produtos para atender a demanda de produtos alimentícios modificados quanto ao teor e quantidade de nutrientes, especialmente com respeito às gorduras.

A remoção da gordura altera o *flavor* em queijos, comprometendo sua textura, que se torna "emborrachada" e permite maior percepção de seus defeitos organolépticos por parte dos consumidores (Kantor, 1990). Quanto maior for a redução de gordura, mais severos serão os defeitos (Banks *et al.*, 1989). O desenvolvimento da textura ocorre devido à hidrólise da caseína durante a maturação (Lawrence *et al.*, 1987); portanto, a gordura do leite fornece uma maciez

aos queijos do tipo integral devido à distribuição uniforme da caseína dentro da matriz do queijo. Quando a gordura é removida ocorre uma inadequada hidrólise da caseína, tornando a textura mais firme. A extensão da hidrólise depende da umidade e do conteúdo de sal dos queijos (Mistry & Kasperson, 1998).

Outro defeito comum é o precoce desenvolvimento do sabor amargo no processo de maturação, em parte devido ao baixo conteúdo de sal e à alta umidade. Esses fatores composicionais, juntamente com os processos industriais que são usados na fabricação de queijos com reduzido teor de gordura, induzem a uma excessiva proteólise (Mistry & Kasperson, 1998). Essa proteólise produz componentes hidrofóbicos, que são ótimos intensificadores do sabor amargo. Em queijos produzidos com leite integral esse defeito é menos perceptível, uma vez que estes componentes interagem com moléculas de gordura (Olson & Johnson, 1990).

Para minimizar estes defeitos, McMahon (1996) recomenda que, durante a produção de queijos com teor reduzido de gordura, as propriedades organolépticas podem ser melhoradas com o aumento do conteúdo de água, por modificações no processamento, com a incorporação de proteínas do soro na massa coagulada do queijo ou por adição de ingredientes que elevem a retenção de umidade e que dêem características similares à gordura, quando incorporadas à matriz do queijo.

Em relação à natureza química do *flavor* em queijos, a utilização de técnicas modernas de análises está tornando possível detectar e mensurar essas substâncias responsáveis pelo *flavor* em níveis de 1ppm ou menos podendo, agora, ser separados como constituintes de avaliação sensorial. Esforços têm sido feitos para correlacionar estes componentes químicos específicos. Enquanto a importância de ácidos graxos livres tem sido confirmada, trabalhos relatam a participação de muitas substâncias diferentes no desenvolvimento do *flavor* em queijos (Davis, 1986).

3. CONCLUSÃO

Relatos evidenciam a importância nutricional e funcional dos lipídios nos alimentos, principalmente em leites e derivados. Em queijos, os lipídios possuem papel fundamental no desenvolvimento de características sensoriais – aparência, palatabilidade e suavidade – e interferem nas características reológicas, refletidas no corpo e na maciez aos produtos.

Para atender a necessidades dietéticas que regulam o consumo de alimentos ricos em gordura, a indústria de laticínios mostra relevante

crescimento na oferta de queijos com reduzido teor de gorduras, entretanto tais produtos apresentam comprometimento com respeito aos parâmetros sensoriais, dadas a funcionalidade das moléculas de lipídios neste sistema de alimentos.

SUMMARY

This paper is a review on the importance of lipids in nutrition, classification and distribution in food, as well as its functionality, mainly in milks and cheeses. This paper discusses the importance of fat in the development of flavor in these products, identifying the possible substances involved in the process.

Keywords: milk, cheese, lipids, functionality

4. BIBLIOGRAFIA

ADDA, J. GRIPON. J.C., VASSAL, L. The chemistry of flavour and texture generation in cheese. *Food Chemistry*, v. 9, p. 115-129, 1982.

ARBIGE, M.V., SILVER, S.C., ZELKO J.T. Novel lipase for Cheddar cheese flavor development. *Food Technology*, v. 4, p. 91-98, 1986.

ARORA, G., CORNIER, F., LEE, B. Analysis of odor-active volatiles in Cheddar cheese headspace by multidimensional GC/MS/ sniffing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 43, p. 748-752, 1995.

ASTON, J. W., DULLEY, J. R. Cheddar cheese flavor. *Australian Journal of Dairy Technology*, v. 37, p. 59-64, 1982.

BANKS, J.M., BRECHANY, E.Y., & CHRISTIE, W.W. The production of low fat Cheddar cheese types. *Journal of Society of Dairy Technology*, v. 42, p. 6-9, 1989.

BELDA, M.C.R., POURCHET-CAMPOS M.A. Ácidos graxos essenciais em nutrição: uma visão atualizada. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 11, n. 5, p. 35, 1991.

BOBBIO, P.A., BOBBIO, F.O. *Introdução a química dos alimentos*. 2ª ed. Editora varela. São Paulo, 1995.

BRASIL, 1996. Portaria MA n.º 146, de 07 de março de 1996. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Produtos Lácteos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 11 de março de 1996. Seção 1, 3977-3986.

CARUSO, J.G.B., OLIVEIRA, A.J. *Leite. Obtenção, controle de qualidade e processamento*.

Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia do Estado de São Paulo, 116p, 1984.

CHICH, J. F., MARCHESSEAU, K., GRIPON, J.C. Intracellular esterase from *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* NCDO 763: Purification and characterization. **International Dairy Journal**. v.7, p. 169-174, 1997.

CHIN, H.W., & ROSENBERG, M. Accumulation of some flavour compounds in full and reduced-fat Cheddar cheese under different ripening conditions. **Journal of Food Science**, v. 62(3), p. 468-474, 1997.

CHRISTIE, W.W. The composition and structure of milk lipids. In P. F. Fox (ed). **Developments and dairy chemistry 2** (p. 1-35). London: Applied Science Publishers, 1983.

DAVIS, J.G. Quality control in the food industry. **Dairy Products**. Volume 2. Ed S.M. Herschdoerfer. 2ª ed., London, 1986.

DEETH, H. C., TOUCH, V. Methods for detecting lipase activity in milk and products. **Australian Journal of Dairy Technology**. v. 55, p. 153-168, 2000.

DEGOUY, E. The low fat cheese challenge. **Dairy Industries International**, v. 58, n. 10, p. 41-43, 1993.

DIRINCK, P., DE WINNE, A. Flavor characterization of cheeses by chromatographic-mass spectrometric profiling. **Journal of Chromatography**. v. 847, p. 203-208, 1999.

DUFOSSÉ, L., LATRASSE, A., SPINLER, H. E. Importance des lactones dans les arômes alimentaires: structures, distribution, propriétés sensorielles et biosynthèse. **Science Alimentaire**. v. 14, p. 17-50, 1994.

ENGELS, W. J. M., DEKKER, R., DE JONG, C., NEETER, R., VISSER, S. A comparative study of volatile compounds in the water-soluble fraction of various types of ripened cheese. **International Dairy Journal**. v. 7, p. 255-263, 1997.

ERIKSEN, S. Flavors of milk and milk products. I. The role of lactones. **Milchwissenschaft**. v. 31, p. 549-550, 1976.

FAN, T.Y., HWANG, D. H., KINSELLA, J. E. Methyl ketone formation during germination of *Penicillium roqueforti*. **Journal of Agricultural**

and Food Chemistry. v. 24, p. 443-448, 1976.

FENELON, M.A., & GUINEE, T.P. **Flavour development in low - fat cheese**. In T.M. Cogan, P.L.H. Mc Sweeney, & T.P. Guinee. **Proceedings of sixth Moorepark cheese symposium** (pp. 31-42). Dublin: Teagasc, 2000.

FERRAZ, E. e MACHADO, F.M. A importância da qualidade do leite e seus derivados, seus benefícios e riscos para o consumidor. **Revista Balde Branco**, São Paulo, 2001.

FOX, P. F., GUINEE, T.P., COGAN, T. M., MCSWEENEY, P. L. H. **Fundamentals of cheese science**. Gaithersburg, MD: Aspen Publishers Inc, 2000.

FOX, P. F., LAW, J., MACSWEENEY, P. L. H., WALLACE, J. Biochemistry of cheese ripening. In Fox, P. F. (Ed). **Cheese: Chemistry, physics and microbiology** (2ª ed). v. 1, p. 389-438. London: Chapman & Hall, 1993.

GIANNINI, D. S. **Aterosclerose e Dislipidemias: Clínica e Terapêutica**. BG Editora e Produções Culturais, 1ª edição. 158 p. 1998.

GUNSTONE, F. D., HARWOOD, J. L., PADLEY, F. B. **Milks lipids**. In The lipid handbook (2ª ed). London: Chapman & Hall, 1994.

INNIS, S.M. Essential fatty acids in growth and development. **Prog Lipid Res**. v. 30, n. 39, p. 103, 1991.

JENSEN, R. G., FERRIS, A. M., LAMMI-KEEFE, C. J. The composition of milk fat. **Journal of Dairy Science**. v. 74, p. 3228-3243, 1991.

KANTOR, M.A. Light dairy products: The need and the consequences. **Food Technology**, v. 44, n. 10, p. 81-84, 1990.

KOSIKOWSKI, F.V. Enzyme behavior and utilization in dairy technology. **Journal Dairy Science**. v. 75, p. 557-573, 1988.

LANGSRUD, T., & REINBOLD, G.W. Flavor development and microbiology of Swiss-cheese - a review. III. Ripening and flavor production. **Journal of Milk Food and Technology**, v. 36(12), p. 593-609, 1973.

LAW, B.A. Microbiology and biochemistry of cheese and ferment milk. 2ª ed, Chapman e Hall, London, 1997.

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

LEHNINGER, A.L., NELSON, D.L., COX, M.M. **Principles of biochemistry**. 2ª ed., New York: Worth Publishers, 1993.

LOLIO, C.A., LOTUFO, P.A., LIRA, A.C., ZANETTA, D.M.T., MASSAD, E. Tendência da mortalidade por doença esquêmica do coração nas capitais de regiões metropolitanas do Brasil, 1979-89. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. V. 64(3), p. 213-216, 1995.

MAYES, P.A. **Lipídios de significado fisiológico**. In: Harper HÁ. **Bioquímica**. São Paulo: Atheneu Editora, p. 133-145, 1990.

McMAHON, D.J. et al. Use of fat replaces in low fat mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. 11, p. 1911-1921, 1996.

MEINHART, E., SCHREIER, P. Study of flavor compounds from Parmigiano Reggiano cheese. **Milchwissenschaft**. v. 41, p. 689-691, 1986.

MILO, C., & REINECCIUS, G.A. Identification and quantification of potent odorants in regular-fat and low-fat mild Cheddar cheese. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 45(9), p. 3590-3594, 1997.

MISTRY, V.V. Low fat cheese technology. **International Dairy Journal**. v. 11, p. 413-422, 2001.

MISTRY, V.V., & KASPERSON, K.M. Influence of salt on quality of reduced fat Cheddar cheese. **Journal of Dairy Science**. v. 81, p. 1214-1221, 1998.

MOIO, L., DEKIMPE, J., ETIEVANT, P. X., ADDEO, F. Volatile flavor compounds of water buffalo mozzarella cheese. **Italian Journal of Food Science**. v. 5, p. 57-68, 1993.

MOLIMARD, P., & SPINLER, H.E. Review: compounds involved in the flavor of surface mold-ripened cheese: Origins and properties. **Journal of Dairy Science**, v. 79(2), p. 169-184, 1996.

MONTEIRO, C.A., MONDINI, L., SOUZA, A.L.M., POPKIN, B.M.D. **Da desnutrição para a obesidade: A transição nutricional no Brasil**. In: Velhos e novos males da saúde no Brasil: A evolução do País e de suas doenças (C.A.

Monteiro, Org.), p. 248-255, São Paulo: Hucitec, 1995.

MOORE, A.S., YODERK, L., SPECTOR, A. A. Role of the blood brain barrier in the formation of long-chain ω -3 and ω -6 fatty acids from essential fatty acid precursors. **J Neurochem**. v.55, p. 391-402, 1990.

MURRAY, R.K., GRANNER, D.K., MAYES, P.A., RODWELL, V.W. **Harper: bioquímica**. 7a ed., Editora Atheneu, São Paulo, 1994.

OLSON, N.F., & JOHNSON, M.E. Light cheese products: characteristics and economics. **Food Technology**. v. 44(10), p. 93-96, 1990.

PEREIRA, R.A. Avaliação antropométrica do estado nutricional. In: Sichieri R. **Epidemiologia da Obesidade**. Rio de Janeiro, EDUERJ, p. 44-64, 1998.

POMERANTZ, Y. **Functional properties of food components**. Academic Press, 2ª ed, 1991.

ROBINSON, D.S. **Bioquímica y valor nutritivo de los alimentos**. Editora Acríbia, 3ª ed, España, 1991.

SIRTORI, C.R. et al. Controlled evaluation of fat intake in the Mediterranean diet: Comparative activities of olive oil and corn oil on plasma lipids and platelets in high-risk patients. **Am J Clin Nutr**, v. 44, p. 635-42, 1986.

SOMMERFIELD, M. Trans unsaturated fatty acids in natural products and processed foods. **Prog Lipid Res**, v. 22, p. 221-233, 1983.

THIERRY, A., MAILLARD, M. B., LE QUERE, J. L. Dynamic headspace analysis of emmental aqueous phase as a method to quantify changes in volatile flavor compounds during ripening. **International Dairy Journal**. v. 9, p. 453-463, 1999.

TOMASINI, A., BUSTILLO, G., LEBEAULT, J.M. Fat lipolysed with a commercial lipase for the production of blue cheese flavor. **International Dairy Journal**. v. 3. P. 117-127, 1993.

TROISI, R., WILLET, W.C., WEISS, S.T. Trans-fatty acid intake in relation to serum lipid concentrations in adult man. **Am J Clin Nutr**, v. 56, p. 1019-1024, 1992.

UNITED STATES OF AMERICA. **Food Composition data**. Agricultural Research Service. USDA Nutrient database for Standard

Reference. 2001. Disponível em URL: <http://www.nal.usda.gov/fni>. Acessado em 10/05/2003.

URBACH, G. The flavor of milk and dairy products: II. Cheese: contribution of volatile compounds. *International Journal of Dairy Technology*. v. 50, p. 79-89, 1997.

VANGTAL, A., HAMMOND, G. Correlation of the flavor characteristics of Swiss-type cheeses with chemical parameters. *Journal of Dairy Science*. v. 69, p. 2982-2993, 1986.

VARNAM, A.H. AND SUTHERLAND, J.P. Milk and milk products. Technology, chemistry and microbiology. Volume 1, Food products series. 4ª ed. Chapman e Hall, London, 1994.

VILELA, D. Leite: sua importância econômica, social e nutricional. Associação brasileira de criadores de gado pardo-suiço, 2002.

WASLTRA, P., GEURTS, T.J., NOOMEN, A., JELLEMA, A., VAN BOEKEL, M.A.J.S. *Ciencia de la leche y tecnologia de los productos lácteos*, Ed. Acribia S.A., 713 p., España, 2001.

WHITE, P.J. AND KING, J.M. Impact of

processing on formation of trans fatty acids. *Proc Food Safety*, v. 4. p. 51-65, 1999.

WILKINS, D. W., SCHMIDT, R. H., SHIREMAN, R. B., SMITH, K. L., JEZESKI, J. J. Evaluating acetaldehyde synthesis from L-[14C(U)] threonine by *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. *Journal of Dairy Science*. v. 69, p. 1219-1224, 1986.

WONG, N.P., ELLIS, R.L.A., CROIX, D., ALFORD, J.A. Lactones in Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, v. 56, p. 636, 1973.

WOO, A. H., KOOLIDGE, S., LINDSAY, R. C. Quantification of major free fatty acids in several cheese varieties. *Journal of Dairy Science*. v. 67, p. 874-878, 1984.

WOO, A. H., LINDSAY, R. C. Rapid method for quantitative analysis of individual free fatty acids in Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*. v. 65, p. 1102-1109, 1982.

YOSHIOKA, K., HASHIMOTO, N. Cellular fatty acid and ester formation by brewers' yeast. *Agricultural and Biological Chemistry*. v. 47, p. 2287-2294, 1983.

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DE SORBATO DE POTÁSSIO SOBRE LEVEDURAS ISOLADAS DE RICOTAS

Fátima Aparecida Carnicel¹
Jacqueline Tanury Macruz Peresi¹
Ulisses Foggetti¹
Tânia Maria Vinturim Gonçalves²
Fernando Leite Hoffmann³

RESUMO

Com base na legislação em vigor, os conservantes alimentícios podem ser definidos como "substâncias que impedem ou retardam a alteração dos alimentos provocada por microrganismos ou enzimas". Das diferentes propriedades de um produto alimentício, o pH é possivelmente a que mais influencia no aumento da ação antimicrobiana do conservante. O uso do ácido sórbico (INS - 200) é bastante divulgado podendo ser utilizado puro ou ainda como sais de sódio (INS - 201), de cálcio (INS - 203) ou de potássio (INS - 202). Os sorbatos são eficazes principalmente contra bolores e leveduras, embora ajam também sobre uma ampla diversidade de bactérias, podendo inibir a germinação de esporos, o crescimento e a divisão de células vegetativas. Seu emprego mundial é bastante amplo, devido ao fato de ele não interferir no sabor e ser fisiologicamente inócuo. A sua principal desvantagem é o custo relativamente maior que o dos benzoatos e propionatos. Entretanto, em produtos de maior pH, eles são geralmente usados em quantidades menores que os outros dois conservadores de modo a obter o efeito desejado. De acordo com os aspectos citados anteriormente, este trabalho objetivou determinar a atividade antimicrobiana *in vitro* de sorbato de potássio sobre leveduras isoladas de ricotas. Foram empregadas, para tanto, placas de Petri contendo ágar sabouraud dextrose com pH ajustado para 5,1 acrescido das seguintes concentrações do conservante (0 = controle; 0,05; 0,1; 0,2 e 0,4%), em que foram inoculadas em triplicata, pela técnica de plaqueamento em réplica, culturas previamente desenvolvidas em caldo sabouraud dextrose com pH = 5,1. Depois de 21 dias de incubação a 25°C, verificou-se que 9,09; 18,18; 36,36 e 45,45% das leveduras testadas foram sensíveis ao sorbato de potássio (INS - 202), respectivamente nas concentrações de 0,05; 0,1; 0,2 e 0,4%.

Palavras-chave: atividade antimicrobiana, sorbato de potássio, leveduras, ricotas.

1. INTRODUÇÃO

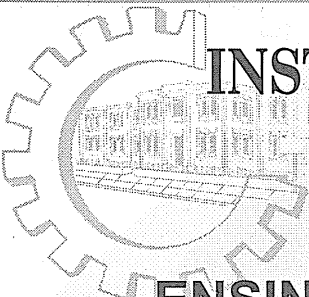
As substâncias químicas com propriedades antimicrobianas adicionadas aos alimentos, processados ou não, são denominadas conservantes. A sua função no alimento é inibir o crescimento e/ou desenvolvimento de microrganismos, aumentando a vida útil e garantindo o consumo com segurança (ARAÚJO, 1988; BRASIL, 1965).

A adição de conservantes ou conservadores aos alimentos, em concentrações aceitáveis, promove a inibição de microrganismos, até que estes sejam eliminados por volatilização, metabolismo, degradação ou por meio de interações químicas com outros componentes do próprio alimento (ARAÚJO, 1988).

Diferentes tipos de conservadores são empregados, dependendo do tipo de alimento, método de processamento, armazenamento e do tipo de microrganismo envolvido (ANTUNES & CANHOS, 1986).

O controle do crescimento e/ou desenvolvimento de microrganismos em alimentos por meio do uso de conservantes está relacionado com o pH do meio. A forma não dissociada da molécula é que confere a característica antimicrobiana dos conservadores. Os valores de pKa da maioria dos conservantes encontram-se na faixa de pH entre 3,0 e 5,0; portanto, a concentração da forma não dissociada aumenta com a elevação da acidez do alimento, garantindo uma maior eficiência no controle de microrganismos (ANTUNES & CANHOS, 1986).

- 1 Alunos do Curso de Pós - Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos (Mestrado) - Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos - UNESP - Rua: Cristóvão Colombo, nº. 2265 - Jd. Nazareth - 15054-000 - São José do Rio Preto - SP,
- 2 Auxiliar acadêmica do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos - UNESP - São José do Rio Preto - SP,
- 3 Professor Doutor do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos - UNESP - São José do Rio Preto - SP.



INSTITUTO DE LATICÍNIOS CÂNDIDO TOSTES

ENSINO TÉCNICO MÉDIO

PESQUISA COM COMPETÊNCIA E QUALIDADE

Visite nossa Home Page
www.candidotostes.com.br




EPAMIG

GOVERNO DE
MINAS
GERAIS

A não dissociação das moléculas dos conservadores facilita a penetração destas pela membrana celular dos microrganismos, sobre os quais ocorrerá a ação inibidora, alterando a permeabilidade da membrana celular, a atividade de enzimas intracelulares e o mecanismo genético (ARAÚJO, 1988).

Com base na legislação em vigor, os conservantes alimentícios podem ser definidos como "substâncias que impedem ou retardam a alteração dos alimentos provocada por microrganismos ou enzimas" (BRASIL, 1988).

Das diferentes propriedades de um produto alimentício, o pH é possivelmente a que mais influencia no aumento da ação antimicrobiana do conservante.

O ácido sórbico foi isolado pela primeira vez em 1859 pelo químico alemão A. W. Von Hofmann, a partir do fruto de *Sorbus aucuparia* L. (SOFOS & BUSTA, 1993). Entretanto, foi apenas por volta de 1939 que sua ação antimicrobiana foi descoberta por E. Muller, na Alemanha e por C. M. Gooding, nos Estados Unidos.

Dentre os conservadores, o ácido sórbico é o único ácido orgânico insaturado produzido sinteticamente e permitido como conservador em alimentos. Em face de sua característica neutra no sabor, é recomendável para uso também em sucos e bebidas. É eficiente no controle de bolores e leveduras e pouco eficiente no controle de bactérias. O ácido sórbico é ligeiramente solúvel em água e o seu sal de potássio é bastante solúvel. O pH ótimo de atuação estende-se até pH = 6,0 (ARAÚJO, 1988).

O ácido sórbico tem pKa 4,8 e apresenta maior atividade em pH superior a 6,5. Em pH entre 4,0 e 6,0, o ácido sórbico e seus sais são mais eficientes que os benzoatos (JAY, 2000).

O uso do ácido sórbico (INS - 200) é bastante divulgado podendo ser utilizado puro ou ainda como sais de sódio (INS - 201), de cálcio (INS - 203) ou de potássio (INS - 202).

Os sorbatos são eficazes principalmente contra bolores e leveduras, embora ajam também sobre uma ampla diversidade de bactérias (JAY, 2000), podendo inibir a germinação de esporos, o crescimento e a divisão de células vegetativas (SOFOS et al., 1986).

Seu emprego mundial é bastante amplo, devido ao fato dele não interferir no sabor e ser fisiologicamente inócuo (LUCK, 1977).

A sua principal vantagem é o custo relativamente maior que o dos benzoatos e propionatos.

Entretanto, em produtos de maior pH, eles são geralmente usados em quantidades menores que os outros dois conservadores de modo a obter o efeito desejado (ROBACH, 1980).

A resistência das bactérias lácticas aos sorbatos, especialmente em pH 4,5 ou maior, permite o uso

desses como agentes fungistáticos em produtos que sofrem fermentação láctica (JAY, 2000).

Segundo LUCK (1977), as faixas de mínima concentração para inibição variam de 10 a 10000 ppm (bactérias), 25 a 400 ppm (leveduras) e 10 a 1000 ppm (fungos).

Sabe-se que em pH inferior a 4,0 (alimentos muito ácidos) a microbiota capaz de se desenvolver é constituída, principalmente por bolores e leveduras, ao lado de bactérias acéticas e lácticas (LEITÃO et al., 1977).

As leveduras, por sua vez, podem representar o principal grupo de microrganismos que pode ocasionar deterioração em alimentos, sendo que seu crescimento é comumente acompanhado da formação de CO₂ e álcool. Algumas leveduras também desenvolvem turbidez, floculação, película e depósito. Elas podem também degradar ácidos orgânicos, promovendo o aumento do pH e podem formar o acetaldeído, contribuindo também na fermentação do açúcar (WALKER, 1977; WALKER & AYRES, 1970).

De acordo com os aspectos citados anteriormente, este trabalho objetivou determinar a atividade antimicrobiana *in vitro* de sorbato de potássio sobre leveduras isoladas de ricotas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção das leveduras

As leveduras utilizadas neste trabalho foram isoladas de vinte e seis diferentes amostras de ricotas obtidas no município de São José do Rio Preto - SP.

2.2. Ensaio de resistência ao conservante

Para esta prova foi utilizado o ágar sabouraud dextrose, com pH ajustado para 5,1; em que foi acrescentado o conservante sorbato de potássio nas seguintes concentrações: 0 = controle; 0,05; 0,1; 0,2 e 0,4%.

O pH do meio foi acertado para 5,1; com HCl 0,1 N, uma vez que boa parte das amostras de ricotas examinadas apresentava pH em torno desse valor e também porque nesta faixa de pH se obtém uma melhor atividade antimicrobiana do conservante empregado. Foram também esterilizados separadamente por autoclavagem o meio básico (sem o ágar) e o ágar, enquanto que o conservante foi esterilizado por filtração em membrana "Millipore" (0,45 µm).

2.3. Técnica de replica - plate

Na preparação do inóculo, foram empregadas culturas *over night* desenvolvidas em caldo sabouraud dextrose com pH = 5,1. A partir daí,

cada inóculo foi transferido, em triplicata, asepticamente para um sistema *replica-plate* (LEDERBERG & LEDERBERG, 1952; SHEREE LIN, FUNG & COX, 1987), que permite a inoculação de 25 colônias / placa de Petri.

Todas as placas foram incubadas em estufa a 25°C e as leituras feitas após 7, 14 e 21 dias de incubação.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a TABELA 1 pode-se verificar que, depois do período final de incubação, 9,09; 18,18; 36,36 e 45,45% das leveduras testadas foram sensíveis ao sorbato de potássio (INS - 202), respectivamente, nas concentrações de 0,05; 0,1; 0,2 e 0,4%.

Nas condições empregadas os resultados de nosso trabalho diferem dos 100,00% encontrados por SILVA (2003); que utilizou as mesmas concentrações por nós empregadas. MANSOR (2001), usando as de 0,05; 0,1 e 0,2%, obteve também 100,00% de inibição, ao passo que COELHO (2001), utilizando as mesmas concentrações de MANSOR (2001), obteve, respectivamente, a inibição de 93,33; 99,58 e 100,00%.

Não obstante a legislação vigente (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ALIMENTAÇÃO - ABIA, 2001) estabelecer a adição desse conservante para queijos em geral no limite máximo de 0,1%, verificou-se que mesmo quando empregado a 0,4% ocasionou a inibição de apenas 45,45% das leveduras isoladas.

Tabela 1. Resistência das leveduras isoladas frente ao sorbato de potássio (continuação).
Legenda: (+) = desenvolvimento (-) = inibição

Número	Controle (0%)	0,05%	0,1%	0,2%	0,4%
01	+	+	-	-	-
02	+	+	+	-	-
03	+	+	-	-	-
04	+	+	+	+	+
05	+	+	+	+	+
06	+	+	+	+	+
07	+	+	+	-	-
08	+	+	+	-	-
09	+	+	+	-	-
10	+	+	+	-	-
11	+	+	+	-	-
12	+	+	+	-	-
13	+	+	+	+	+
14	+	+	+	+	+
15	+	+	-	-	-
16	+	+	+	-	-
17	+	+	+	+	+
18	+	+	+	+	+
19	+	+	+	+	+
20	+	+	+	+	-
21	+	+	+	+	+
22	+	+	+	+	+
23	+	+	+	+	+
24	+	+	+	+	-
25	+	+	+	+	-
26	+	+	+	+	-
27	+	+	+	+	-
28	+	+	+	+	+
29	+	+	+	+	+
30	+	+	+	+	-
31	+	+	+	+	-
32	+	+	+	+	+
33	+	+	+	+	+

Continua

Continuação

Número	Controle (0%)	0,05%	0,1%	0,2%	0,4%
34	+	+	+	+	-
35	+	+	+	+	+
36	+	+	+	+	+
37	+	+	+	+	+
38	+	+	+	+	+
39	+	+	+	+	+
40	+	-	-	-	-
41	+	+	-	-	-
42	+	-	-	-	-
43	+	-	-	-	-
44	+	-	-	-	-
45	+	-	-	-	-
46	+	+	+	+	+
47	+	+	+	+	+
48	+	+	+	+	+
49	+	+	+	+	+
50	+	+	+	+	+
51	+	+	+	+	+
52	+	+	+	+	+
53	+	+	+	+	+
54	+	+	+	+	+
55	+	+	-	-	-
56	+	+	-	-	-
57	+	+	+	+	+
58	+	+	+	-	-
59	+	+	+	-	-
60	+	+	+	+	+
61	+	+	+	-	-
62	+	+	+	-	-
63	+	+	+	+	+
64	+	+	+	+	+
65	+	+	+	+	+
66	+	+	+	+	+
67	+	+	+	+	+
68	+	+	+	+	+
69	+	+	-	-	-
70	+	+	-	-	-
71	+	+	+	-	-
72	+	+	+	+	+
73	+	+	+	-	-
74	+	+	+	-	-
75	+	+	+	+	+
76	+	+	+	-	-
77	+	+	+	+	+
78	+	+	+	+	+
79	+	+	+	+	+
80	+	+	+	+	+
81	+	-	-	-	-
82	+	+	+	+	+
83	+	-	-	-	-
84	+	-	-	-	-
85	+	+	+	+	+
86	+	+	+	+	+
87	+	+	+	+	+
88	+	+	+	+	+

Apesar dos resultados encontrados acreditamos que por meio de procedimentos adequados de limpeza e desinfecção os problemas de deterioração, que porventura puderem ocorrer, poderão ser evitados e/ou resolvidos.

4. CONCLUSÃO

Pode-se concluir por meio dos resultados obtidos, que o sorbato de potássio, na concentração de 0,1%, apresentou reduzida atividade antimicrobiana sobre as leveduras isoladas de ricotas.

5. SUMMARY

In vitro anti - microbial activity determination of potassium sorbate on yeasts isolated from *ricotta*

According to the presence legislation, food preservatives may be defined as "substances that avoid or retard alterations in foods caused by microorganisms or enzymes". Out of the various properties of a food product, the pH is possibly the one the stronger influence upon the increase on the anti-microbial action of the preservative. Sorbic acid (INS - 200) is widely employed, either as a pure substance or as sodium (INS - 201), calcium (INS - 203) or potassium (INS - 202) salts. Sorbates are efficient mainly against moulds and yeasts, even though they act also upon a wide variety of bacteria, inhibiting the germination of spores, as well as the growth and division of vegetative cells. It is employed worldwide due to the fact that it does not interfere on flavor and it is physiologically innocuous. Its main disadvantage is its cost, which is relatively greater than that of benzoates and propionates. However, in products with a higher pH, they are generally used in lower quantities than the other two preservatives in order to obtain the desired effect. According to the aspects cited before, the objective of this study was to determine the *in vitro* anti - microbial activity of potassium sorbate on yeasts isolated from *ricotta*. In order to achieve this goal, Petri dishes containing sabouraud dextrose agar have been employed, adjusting the pH to 5.1 and the following concentrations of the preservative (0 = control; 0.05; 0.1; 0.2 and 0.4%). The inoculation of cultures previously developed sabouraud dextrose broth with pH 5.1 was conducted in triples, according to the technique of replica plating. After 21 days of incubation at 25°C it was observed that 9.09; 18.18; 36.36 and 45.45% of the yeasts were sensible to the potassium sorbate (INS - 202), respectively in the concentrations of 0.05; 0.1; 0.2 and 0.4%.

Key - words: anti - microbial activity, potassium sorbate, yeasts, *ricotta*.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTUNES, A. J. & CANHOS, V. P. **Aditivos em alimentos**. FEALQ/FTPT. Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia. Coordenadoria da Indústria e Comércio. Governo do Estado de São Paulo - SP, 1986, 178 p.

ARAÚJO, J. M. A. **Conservadores químicos**. Apostila nº. 269. Universidade Federal de Viçosa. Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas. Departamento de Tecnologia de Alimentos - Viçosa - MG, 1988, 16 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ALIMENTAÇÃO (ABIA). **Compêndio da legislação de alimentos - Consolidação das normas e padrões de alimentos - Atos do Ministério da Saúde**. Revisão 8, v. 1, p. 3.76-3.81, 2001.

BRASIL. Decreto nº. 55871 de 26 de março de 1965. Modifica o decreto nº. 50040 de 24 de janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo decreto nº. 681 de 13 de março de 1962. **Diário Oficial**, Brasília, 29 de maio de 1965.

BRASIL. Resolução nº. 04 de 24 de novembro de 1988. Aprova a revisão das tabelas I, III, IV e V referente a aditivos intencionais, bem como os anexos I, II, III, IV e VII, todos do decreto nº. 55871 de 26 de março de 1965. **Diário Oficial**, Brasília, 19 de dezembro de 1988.

COELHO, A. R. **Qualidade microbiológica e ocorrência de leveduras em diferentes tipos de sorvetes**. São José do Rio Preto, 2001. 106 p. Dissertação (Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista (UNESP).

JAY, J. M. **Modern food microbiology**. 6a. Ed., Maryland: Aspen, 2000, 679 p.

LEDERBERG, J. & LEDERBERG, E. M. Replica plating and indirect selection of bacterial mutants. **Journal of Bacteriology**, v. 63, p. 399-406, 1952.

LEITÃO, M. F. F.; DELAZARI, I.; UBOLDI EIROA, M. N. & ARIMA, H. K. Avaliação de sucos, refrigerantes, refrescos, néctares e xaropes em face dos padrões microbiológicos brasileiros. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 49, p. 75-91, jan./fev., 1977.

LUCK, E. **Conservación química de los alimentos**. Editorial Acríbia: Zaragoza, 1977.

MANSOR, A. P. **Qualidade microbiológica e ocorrência de leveduras em diferentes tipos de manteiga**. São José do Rio Preto, 2001. 120 p. Dissertação (Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista (UNESP).

ROBACH, M. C. Use of preservatives to control microorganisms in food. **Food Technology**, v. 34, n.10, p. 81-84, 1980.

SHEREE LIN, C. C.; FUNG, D. Y. C. & COX, N. A. Conventional and rapid methods for yeast identification. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 14, n. 4, p. 273-289, 1987.

SILVA, J. V. da. **Qualidade microbiológica e ocorrência de leveduras em diferentes amostras de queijos tipo "Minas Frescal"**.

São José do Rio Preto, 2003. 112 p. Dissertação (Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista (UNESP).

SOFOS, J. N. & BUSTA, F. F. Sorbic acid and sorbates. In: DAVIDSON, P. M. & BRANEN, A. L. (Eds.). **Antimicrobials in foods**. New York, Marcel Dekker Inc., Cap. 3, p. 49-94, 1993.

SOFOS, J. N.; PIERSON, M. D.; BLOCAR, J. C. & BUSTA, F. F. Mode of action of sorbic acid on bacterial cells and spores. **International Journal of Food Microbiology**, v. 3, n. 1, p.1-17, 1986.

WALKER, H. W. Spoilage of foods by yeasts. **Food Technology**, v. 31, p. 61-65, 1977.

WALKER, H. W. & AYRES, J. C. Yeasts as spoilage organisms. In: **The yeasts**. ROSE, A. H. & HARRISON, J. S. (Eds.). New York: Academic Press, 1970, v. 3, p. 463-527.

ASSINE A REVISTA

ILCT

COMPOSIÇÃO PROTÉICA DO LEITE DE VACAS DA RAÇA HOLANDESA SUPLEMENTADAS COM METIONINA¹

Milk protein composition of holstein dairy cows supplemented with methionine

Juliana Borsari Dourado Sancanari²
Jane Maria Bertocco Ezequiel³
Expedita Maria de Oliveira Pereira⁴
Luciola de Sá⁵
Sérgio do Nascimento Kronka⁶
José Adolfo Sancanari⁷

RESUMO

O objetivo deste estudo foi verificar o efeito do fornecimento de 8,4 g/dia de metionina protegida (MPDR) ou não protegida da degradação ruminal (MNPDR) ou mistura de metioninas (50%MPDR +50% MNPDR) comparativamente a vacas controle sobre as frações nitrogenadas e proteína do leite no pico, pós-pico e meio da lactação. Utilizaram-se oito vacas da raça Holandesa, divididas em dois grupos de acordo com a produção de leite ao parto, sendo o grupo 1 constituído por vacas com produção de leite (PL) $\geq$ 25,0 kg/dia e o grupo 2, com PL < 25,0 kg/dia, ambos os grupos foram alimentadas com ração completa composta por silagem de milho e concentrado. Os teores e as produções de proteína do leite não foram influenciados pela suplementação com metionina durante a lactação. Durante o pico, pós-pico e meio da lactação, não foram observadas diferenças significativas nos teores de nitrogênio total, nitrogênio caseico, nitrogênio não protéico, nitrogênio do soro e nitrogênio uréico do leite quando as vacas foram suplementadas com metionina. Porém a produção de NV, apenas para vacas do grupo 1, no meio da lactação, foi afetada (P<0,05) pelas fontes de metionina suplementadas, sendo as menores produções de NV evidenciadas para vacas suplementadas com MNPDR. A resposta à suplementação com fontes de metionina para algumas variáveis protéicas foi afetada pelo nível de produção das vacas.

Palavras-chave: caseína, nitrogênio do soro, nitrogênio não protéico, nitrogênio total, nitrogênio uréico

INTRODUÇÃO

Em ruminantes, as proteínas e os aminoácidos são os primeiros nutrientes a sofrer degradação microbiana no rúmen. Tal evento dificulta prever a quantidade e a qualidade dos aminoácidos que estarão disponíveis para absorção no intestino (KUNG & RODE, 1996). No entanto, a proteína microbiana e os aminoácidos dietéticos não degradados geralmente são insuficientes para suprir os requerimentos de vacas produzindo elevadas quantidades de leite.

Neste aspecto, a suplementação com fontes de aminoácidos sobrepassantes tem sido considerada uma estratégia interessante do ponto de vista nutricional, visando melhorar o perfil de aminoácidos essenciais no intestino para absorção. Particularmente os aminoácidos, metionina e lisina, têm sido os mais estudados, visto que as dietas de vacas leiteiras normalmente são compostas por milho e soja, ingredientes deficientes em lisina e metionina, respectivamente. Para RODRIGUEZ (1996), o aminoácido limitante à produção de leite está relacionado ao tipo de

- 1 Projeto financiado pela FAPESP
- 2 Professora Dra. da Universidade de Franca - SP e-mail: julianasancanari@hotmail.com
- 3 Professora Dra. do Departamento de Zootecnia da FCAV-UNESP - e-mail: janembe@fcav.unesp.br
- 4 Aluna regular do curso de Pós-Graduação em Zootecnia na FCAV-UNESP
- 5 Médica Veterinária
- 6 Pesquisador do CNPq
- 7 Administrador de Empresas e Técnico Agropecuária da COPLANA

ingrediente utilizado nas rações. Para este autor, dietas ricas em derivados de soja apresentam elevadas deficiências de metionina.

Para KUNG & RODE (1996), metionina e lisina são os dois principais aminoácidos limitantes para bovinos SCHWAB et al. (1992 a e b) verificaram que a lisina é o primeiro aminoácido limitante para a produção e composição do leite no início da lactação, a metionina é o segundo e ambos são co-limitantes.

A proteína do leite tem sido ao longo dos últimos anos o nutriente de maior interesse para muitos pesquisadores, porque os laticínios, visando a um maior rendimento de derivados lácteos, têm remunerado melhor os produtores de acordo com a qualidade e não mais pela quantidade de leite. No entanto, a proteína do leite é um nutriente difícil de ser alterado.

Vacas da raça Holandesa criadas em regiões tropicais apresentam teores de 3% de proteína bruta no leite. Segundo FONSECA & SANTOS (2000) as proteínas correspondem a 95% da matéria nitrogenada do leite, sendo os 5% restantes compostos não nitrogenados (amônia, uréia, creatina, ácido úrico, vitaminas e aminoácidos livres). Destas proteínas, 78% são caseína e 17% são proteínas do soro (albuminas e globulinas).

Algumas estratégias alimentares têm sido utilizadas visando a esta alteração tais como as dietas com teores elevados de carboidratos fermentáveis no rúmen, forragem de boa qualidade, dietas com maiores teores de proteína não degradável no rúmen, fornecimento de aminoácidos essenciais: metionina e lisina (SCHWAB, 1994).

Este estudo teve por objetivo avaliar a composição protéica do leite de vacas da raça Holandesa alimentadas com ração total e suplementadas com diferentes fontes de metionina durante o pico, pós-pico e meio da lactação.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Fazenda Bela Vista, localizada no município de Pirangí, no Estado de São Paulo e teve a duração de 120 dias de lactação.

Foram utilizadas oito vacas multíparas, de 2ª a 4ª ordem de lactação, da raça Holandesa, puras de origem, malhadas de preto, com peso médio de 603 kg e produção média diária ao parto ≥ 20 kg/leite/dia em duas ordenhas diárias.

A produção inicial de leite das vacas após o parto foram: 25,0; 25,1; 25,4; 25,1; 20,6; 22,0; 20,0 e 22,0 kg/dia. De acordo com esta produção, as vacas foram divididas em dois grupos. O grupo 1 foi constituído por vacas com produção média de leite ≥ 25,0 kg/dia e o grupo 2, por vacas com

produção média de leite < 25,0 kg/dia, porém com produção de leite superior a 20,0 kg/dia. A diferença na data de parição entre a primeira e a última vaca foi de 13 dias. Após o parto, as vacas foram transferidas ao confinamento onde permaneceram durante todo o experimento.

As fontes de metionina utilizadas foram: metionina protegida da degradação ruminal (MPDR), produto comercial SMARTAMINE™ M composto por 70% de metionina e metionina não protegida da degradação ruminal (MNPDR), fabricados pela Avenis (Animal Nutrition) na França.

Segundo as recomendações do NRC (1989), foi formulada uma ração completa, para atendimento das exigências nutricionais de vacas de leite em proteína e energia, pesando aproximadamente 600 kg, com produção de leite de 26 kg/vaca/dia, matéria graxa de 3,5 %, cuja relação volumoso : concentrado foi de 46:54 % e o teor de proteína bruta de 18,1%, na matéria seca.

Na Tabela 1, encontra-se o consumo estimado de matéria seca e de nutrientes da ração.

Como volumoso utilizou-se silagem de milho confeccionada com milho AG 1051 da Agrocere. O concentrado foi composto por milho moído, polpa cítrica, farelo de soja, farelo de trigo, farelo de algodão, mistura vitamínico-mineral e tampicante.

As vacas foram alimentadas em grupo porque esta ração foi formulada para ser fornecida ao lote de vacas de maior produção da fazenda e não apenas as vacas do experimento. A ração completa foi oferecida em três refeições diárias: às 8 h, às 14 h e às 17 h e suplementadas ou não com as diferentes fontes e proporções de metionina, de modo a constituir quatro diferentes tratamentos:

- 1- Tratamento Controle - ausência de fontes de metionina, as vacas receberam 8,4 g/dia de ração concentrada (placebo);
- 2- Tratamento Metionina Protegida da Degradação Ruminal (MPDR) - as vacas receberam 8,4 g/dia de metionina protegida da degradação ruminal;
- 3- Tratamento Metionina Não Protegida (MNPDR) - as vacas receberam 8,4 g/dia de metionina não protegida da degradação ruminal (metionina solúvel);
- 4- Tratamento Mistura (MPDR + MNPDR) - as vacas receberam 4,2 g/dia de MPDR (produto comercial SMARTAMINE™ M) + 4,2 g/dia de MNPDR (metionina solúvel), respectivamente.

As fontes de metionina foram fornecidas aos animais, individualmente, após a ordenha da manhã (aproximadamente às 9 horas), diretamente na boca e separadamente dos alimentos, certi-

Tabela 1 – Consumo estimado de matéria seca e de nutrientes dos ingredientes da ração
Table 1 – Estimated voluntary intake of dry matter and nutrients of the ingredients of the ration

Ingredientes Ingredients	MS DM	PB CP	PDR DIP	PNDR UIP	FDN NDF	FDA ADF	NDT TND	MET MET	LIS LYS
					kg/dia kg /day				
Milho moído Corn ground	1,14	0,10	0,06	0,04	0,26	0,05	0,95	0,002	0,003
Polpa de Cítrica Citrus pulp	1,74	0,60	0,40	0,02	0,40	0,39	0,94	0,006	0,015
Farelo de Soja Soya bean meal	2,29	1,02	0,66	0,36	0,45	0,25	1,67	0,015	0,064
Farelo de Trigo Wheat meal	3,98	0,68	0,54	0,14	2,04	0,39	2,47	0,011	0,028
Farelo de Algodão Cotton seed meal	2,06	0,82	0,47	0,35	0,61	0,47	1,44	0,013	0,034
Mistura vit.-min. Mixture	0,33	-	-	-	-	-	-	-	-
Tampicante Buffer	0,11	-	-	-	-	-	-	-	-
Silagem de Milho Corn silage	10,12	0,75	0,52	0,23	5,65	2,62	6,98	0,011	0,019
Total	21,84	3,97	2,65	1,14	9,41	4,17	14,46	0,058	0,162

MS matéria seca; PB proteína bruta; PDR proteína degradável no rúmen; PNDR proteína não degradável no rúmen; FDN fibra em detergente neutro, FDA fibra em detergente ácido; NDT nutrientes digestíveis totais; MET metionina^{lis} lisina, ^{DM} dry matter; ^{CP} crude protein; ^{DIP} degradable intake protein; ^{UIP} undegradable intake protein; ^{NDF} neutral detergent fiber, ^{ADF} acid detergent fiber; ^{TND} total nutrients digestible; ^{MET} methionine^{lis} lysine

ficando que cada vaca houvesse ingerido a quantidade de metionina preestabelecida. As vacas controle receberam um "placebo", diretamente na boca, simulando o mesmo estresse das vacas suplementadas com fontes de metionina, para evitar variações nos resultados.

Os animais foram ordenhados duas vezes ao dia às 6 e às 15 horas. Antes de se iniciar cada ordenha, foi efetuada a limpeza pré ordenha nos tetos e o teste da caneca de fundo preto. Ao final de cada ordenha, foi realizada a limpeza pós ordenha.

O experimento iniciou-se no 13º dia, após a última vaca parir, e teve duração de 120 dias, sendo dividido em três períodos da lactação denominados: pico, pós-pico e meio da lactação.

Cada período da lactação foi subdividido em 4 subperíodos de 10 dias, correspondendo a 9 dias de adaptação e 1 dia de colheita de dados e amostragem de leite, de alimento e de sobras. Terminado cada subperíodo de 10 dias, as vacas foram adaptadas ao tratamento seguinte e, assim, consecutivamente (SCHWAB et al., 1992 a e b, SANCANARI et al., 2001).

O primeiro período de adaptação iniciou-se, aproximadamente, aos 25º e 13º dia de

lactação, respectivamente da primeira e da última vaca a parir, pois, nesta fase, as vacas já haviam encerrado a fase de colostro e os restos placentários haviam sido eliminados.

Ao longo do experimento, o período de adaptação teve a duração de 9 dias consecutivos e foi seguido sempre pelo período de colheita equivalente a 1 dia, de forma consecutiva e ininterrupta. Então, a cada subperíodo experimental de 10 dias, os primeiros 9 dias foram de adaptação ao tratamento, dentro do esquema experimental.

O planejamento e esquema das etapas experimentais encontra-se na Tabela 2.

Realizou-se o controle leiteiro individual para cada vaca, com anotação das produções de leite de cada ordenha. A amostragem do leite foi realizada da seguinte maneira: após a retirada das teteiras do teto, as mesmas foram viradas para cima e o vácuo novamente ligado, para se obter homogeneização do leite presente no balão e evitar variação na composição do leite entre o início e o final da ordenha. Em seguida, através de uma mangueira lateral, o leite foi recolhido em recipiente de vidro graduado, hermeticamente

Tabela 2 – Esquema e planejamento das etapas experimentais
Table 2 – Scheme and planning of the experiments stages

PERÍODOS DA LACTAÇÃO Periods of lactation	Pico Peak	Pós-Pico Post-peak	Meio Middle
INÍCIO DO EXPERIMENTO <i>Beginning of the experiment</i>			
Dias após o parto da primeira vaca <i>Days after first cow nursing</i>	25 a 64	65 a 105	106 a 145
Diferença entre partos (dias) <i>Difference among nursing (days)</i>	13		
TRATAMENTOS (g/dia) <i>Treatments (days)</i>			
Controle (ausência de fontes de metionina) <i>Control (absence of metionina sources)</i>	-	-	-
MPDR <i>RPM</i>	8,4	8,4	8,4
Mistura de metioninas (MPDR + MNPDR) <i>Mixture of methionines (RPM+RNPM)</i>	4,2 + 4,2	4,2 + 4,2	4,2 + 4,2
MNPDR <i>RNPM</i>	8,4	8,4	8,4
SUBPERÍODOS EXPERIMENTAIS (dias) <i>Experimental subperiods (days)</i>			
Adaptação <i>Adaptation</i>	9	9	9
Colheita <i>Crop</i>	1	1	1
Total Total	10	10	10
PERÍODO EXPERIMENTAL (dias) <i>Experimental periods (days)</i>		120	
Período de lactação <i>Period of lactation</i>	40	40	40

fechado e amostrado de acordo com a produção (10% da produção por ordenha).

O leite da ordenha da manhã foi armazenado em geladeira e, posteriormente, misturado ao leite da ordenha da tarde. A amostra de leite composta foi encaminhada aos laboratórios para serem efetuadas as análises.

O teor de nitrogênio do leite (N) foi determinado, segundo AOAC (1990), para posterior estimativa da proteína bruta (PB), utilizando-se o fator de 6,38 para conversão. Os teores de nitrogênio não protéico (NNP) e nitrogênio não caseico (NNC) foram determinados através das metodologias propostas pela IDF (1964). O teor de nitrogênio caseico (NC) foi estimado pela diferença entre o NT e o NNC e o teor de nitrogênio verdadeiro (NV) pela diferença entre o NT e NNP. O teor de nitrogênio do soro (NS) correspondeu à diferença entre o NV e NC (PIEPENBRINK et al., 1996; PISULEWSKI et al., 1996).

O nitrogênio uréico do leite (NUL) foi determinado no equipamento CHEMSPEC 150 (BENTLEY INSTRUMENTS).

Os teores de lisina e de metionina na digesta duodenal como porcentagem dos aminoácidos essenciais (%AAE) foram calculados segundo equações desenvolvidas por SOCHA & SCHWAB (1994). As equações foram:

Equação para lisina:

$$Y = 14,43 - 0,04 X_1 - 0,29 X_2 + 0,54 X_3 + C$$
 Onde:
 Y = Lisina na digesta duodenal, % AAE
 X_1 = PNDR dietético, % da PB dietética
 X_2 = PB dietética, % da matéria seca
 X_3 = Lisina na PNDR dietética, % do total AAE do PNDR
 C = constante para estágio da lactação (-0,13)

Equação para metionina:

$$Y = 5,36 - 0,08 X_1 + 3,94 X_2 + C$$
 Onde:
 Y = Metionina na digesta duodenal, % AAE
 X_1 = PNDR dietético, % da PB dietética
 X_2 = metionina na PNDR dietética, % PB dietética
 C = constante para estágio da lactação (-0,15)

As amostras dos ingredientes da ração foram colhidas em cada subperíodo experimental durante os dias de colheita, e submetidas a análises químico-bromatológicas para determinação da MS, PB, FDN e FDA segundo SILVA (1990). Os consumos estimados de NDT, PDR, PNDN, MET e LIS foram obtidos segundo NRC (1989).

As vacas foram distribuídas em quadrados latinos num ensaio rotativo balanceado 4 x 4, conforme PATTERSON & LUCAS (1962). Os dados de cada fase experimental foram submetidos

à análise de variância pelo teste de F, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Proteína bruta e relação proteína/gordura do leite

Os teores e as produções de proteína bruta do leite, nas diferentes fases da lactação estudadas para vacas de maior e de menor produção de leite encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3 – Teores e produções de proteína bruta (PB) e relação proteína/gordura (PB/G) no leite, nas diferentes fases da lactação, para vacas de maior produção (grupo 1) e de menor produção de leite (grupo 2).
Table 3 – Contents and production of crude protein (CP) and relationship protein/fat (CP/F) in the different phases of lactation, for cows with higher (group 1) and of smaller milk production (group 2)

Nutrientes Nutrients	Tratamentos Treatments	Fases da Lactação Phases of lactation					
		Pico Peak	Pós-pico Post-peak	Pico Peak	Pós-pico Post-peak	Meio Middle	
		Grupo 1 Group 1	Grupo 2 Group 2	Grupo 1 Group 1	Grupo 2 Group 2	Grupo 1 Group 1	Grupo 2 Group 2
PB	MPDR	2,82 aA	2,62 aA	2,75 aA	3,05 aA	3,02 aA	2,90 aA
CP	RPM						
(%)	MNPDR	2,72 aA	2,70 aA	2,65 aA	2,90 aA	2,72 aA	2,97 aA
	RNPM						
	Mistura	2,77 aA	2,70 aA	2,52 aA	2,97 aB	2,77 aA	2,92 aA
	Mixture						
	Controle	2,82 aA	2,75 aA	2,62 aA	3,05 aB	2,75 aA	2,95 aA
	Control						
PB	MPDR	0,71 aA	0,55 aB	0,60 aB	0,75 aA	0,72 aA	0,67 aA
CP	RPM						
(kg/dia)	MNPDR	0,69 aA	0,54 aA	0,61 aB	0,78 aA	0,61 aA	0,68 aA
(kg/day)	RNPM						
	Mistura	0,71 aA	0,54 aB	0,52 aB	0,80 aA	0,70 aA	0,71 aA
	Mixture						
	Controle	0,72 aA	0,59 aB	0,61 aB	0,81 aA	0,66 aA	0,64 aA
	Control						
PB/G	MPDR	0,97 aA	0,85 aA	0,82 aA	1,45 aA	0,74 aA	1,31 aA
CP/F	RPM						
	MNPDR	0,80 bA	1,04 aA	0,70 aA	1,38 aA	0,95 aA	1,30 aA
	RNPM						
	Mistura	0,92 abA	0,85 aA	1,06 aA	1,49 aA	0,96 aA	1,06 aA
	Mixture						
	Controle	0,89 abA	1,45 aA	0,81 aA	1,61 aA	0,90 aA	1,32 aA
	Control						

^{a,b} Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05). ^{a,b} Means followed by same small letters in the column do not differ to each other for the Tukey test (P>0,05).

^{A,B} Em cada tratamento, médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre grupos de vacas pelo teste de Tukey (P>0,05). ^{A,B} In each treatment, means followed by same letter capital in the line do not differ among groups of cows for the Tukey test (P>0,05).

Neste estudo, a suplementação com 8,4 g/dia de MPDR, 8,4 g/dia de MNPDR ou mistura de metioninas não alteraram ($P>0,05$) a porcentagem e a produção de proteína do leite, durante as três fases da lactação estudadas, quer se considere o grupo de vacas de maior e de menor produção de leite.

O teor de proteína do leite pode variar consideravelmente não apenas no leite de vacas de raças diferentes, mas também no de vacas de uma mesma raça, com o tempo de lactação, com o número de lactação e ainda com a alimentação empregada. Segundo a CCGL (1982), o teor de proteína do leite varia de 2,9% a 5,0%, com um valor médio de 3,4%.

Os resultados obtidos neste estudo encontram-se, em sua maioria, abaixo dos teores estabelecidos pela CCGL (1982). Segundo HOLMES & WILSON (1990), a concentração de proteína decresce até seu valor mínimo em torno do pico da lactação. A partir daí, os teores de proteína atingem seu pico mais rapidamente e caem mais vagarosamente que a produção de leite. Entretanto para as vacas de maior produção, os teores de proteína no leite foram baixos em qualquer fase da lactação.

Isto pode estar indicando efeito aleatório da adição de metionina nas rações das vacas. Possivelmente, a metionina não esteja se comportando como um aminoácido limitante à produção de proteína láctea para as vacas do grupo 2. Neste estudo, as vacas do grupo 1, e as do grupo 2 foram alimentadas com a mesma ração o que, provavelmente, refletiu em uma mesma quantidade de metionina e de lisina dietética para ambos os grupos.

Os resultados de várias pesquisas sugeriram que a suplementação com metionina sobrepassante não foi capaz de aumentar a produção de leite e sim aumentar a disponibilidade de nitrogênio para a absorção no intestino delgado, pois o teor de metionina no plasma obtido por SCHWAB et al. (1992 a) foi aumentado 5,83 m mol/100 mL, resultando em aumento no teor de proteína do leite. Portanto, a suplementação com aminoácidos sobrepassantes talvez esteja mais associada a alterações na composição do leite do que ao aumento na produção de leite, por aumentar a disponibilidade de aminoácidos para absorção e, consequentemente, aumentar suas concentrações de nitrogênio na corrente circulatória, estando disponíveis na glândula mamária para síntese de proteína do leite, em particular de caseína, a principal fração protéica do leite.

Trabalhos conduzidos, no Brasil, por SANCANARI et al. (2001), utilizando vacas da raça Holandesa primíparas e multíparas, alimentadas com ração completa constituída por

silagem de milho, milho, soja integral tostada, farelo de soja e farelo de trigo contendo 18,3% de PB e 71,8% de NDT não mostraram aumentos nos teores e nas produções de proteína do leite, respectivamente, quando suplementaram com metionina protegida (2,85% e 0,77 kg/dia) e não protegida da degradação ruminal (2,77% e 0,76 kg/dia) comparativamente a vacas controle (2,83% e 0,79 kg/dia). Os teores de proteína do leite obtidos por estes autores foram muito semelhantes aos obtidos, neste estudo, (Tabela 3) para o grupo de vacas de maior produção de leite no pico da lactação.

Para o grupo de vacas de menor produção de leite (grupo 2), observou-se que, no pico da lactação, os teores mais elevados de proteína bruta foram obtidos para vacas controle, em seguida por vacas suplementadas com MNPDR e mistura e os menores por MPDR. Desde que a adição de MPDR não foi capaz de melhorar o valor protéico do leite, outros aspectos, possivelmente nutricionais, podem estar envolvidos com disponibilidade de energia no rúmen e no intestino.

GUINARD & RULQUIN (1995) obtiveram teores de 2,87 e 2,91% e produções de 660 g/dia e 707 g/dia de proteína do leite, ao infundirem 8 g/dia e 16 g/dia de DL metionina, respectivamente, em vacas da raça Holandesa alimentadas com 70% de silagem de milho e 30% concentrado (farelo de soja, milho, grão de nozes tratado com formaldeído, trigo, cevada e melaço de beterraba) por um período de 12 a 22 semanas após o parto. Não verificaram diferença significativa no teor nem na produção de proteína do leite diante da suplementação. Estes resultados são muito semelhantes aos obtidos neste estudo, em que se obteve teor de proteína do leite de 2,82% e produção de proteína do leite de 710 g/dia para vacas de maior produção (grupo 1) suplementadas com MPDR e ausência de significância (Tabela 3) da suplementação com MPDR.

SCHWAB et al. (1992 a e b) suprimiram 90% dos requerimentos protéicos de vacas leiteiras com produção de leite superior a 30 kg/dia. As dietas continham 16,0; 14,4, 13,9 e 13,5% de PB, respectivamente, no pico, início, meio e final da lactação, e eram compostas por silagem de milho, silagem de resíduos de culturas, farelo de milho, cevada, farelo de soja e melaço de cana e as vacas, suplementadas com infusão duodenal de metionina (12 g/dia), lisina (30 g/dia), metionina mais lisina e caseína (40 g/dia; tratamento controle). Verificaram que os menores teores ($P<0,05$) de proteína no leite foram obtidos para vacas suplementadas com metionina, quando comparadas a vacas suplementadas com lisina, metionina mais lisina ou caseína. Os melhores teores de proteína do leite foram obtidos para as infusões

com metionina mais lisina. Em função da ração utilizada, estes autores concluíram que a lisina foi o primeiro e a metionina o segundo aminoácido limitante à produção e à composição do leite.

Comparativamente ao trabalho desenvolvido por SCHWAB et al. (1992 a), a ração desta pesquisa apresentou teores de proteína bruta mais elevados (18% de PB), sendo composta por silagem de milho, quirela de milho, polpa cítrica, farelo de soja, farelo de trigo e farelo de algodão, alimentos considerados por SCHWAB (1992 a e b) e RODRIGUEZ (1996) deficientes em metionina e lisina. PIEPENBRINK et al. (1996) comentaram que, aumentando o teor de proteína da dieta de 14 para 18 %, aumentos na produção de leite e na proteína do leite foram observados.

O teor de proteína no leite obtido por SCHWAB et al. (1992 a) para vacas suplementadas com infusão de metionina no pico da lactação foi de 2,66% e a produção de proteína do leite foi de 990 g/dia, ou seja, quando comparados aos resultados deste estudo, verificou-se que o teor de proteína do leite obtido por estes autores foi 0,16 unidades percentuais inferior ao das vacas do grupo 1 e 0,04 superior ao das vacas do grupo 2.

Para SEYMOUR et al. (1990) e RULQUIN (1987) aumentos na produção de proteína do leite variaram de 1 a 15%, diante da suplementação com aminoácidos, para LEHENAFF et al. (1990) em 4% e para SCHWAB (1996) em 9%. ARMENTANO et al. (1997) comentaram que, para cada 1 g de metionina suplementada, a produção de proteína do leite pode aumentar em 4 g. Os aumentos sugeridos por estes autores discordam dos resultados obtidos nesta pesquisa, os dados mostram que não houve diferença significativa para produção de proteína do leite quando se compararam tratamentos.

Para ARMENTANO et al. (1993) 100% da metionina que chega ao intestino delgado na forma protegida são absorvidos pela corrente circulatória, mas apenas 15% são convertidos em proteína do leite, sendo o restante utilizado para produção de leite. Isto enfatiza um maior impacto do catabolismo pós absorptivo pelo fígado e para o suprimento de metionina em tecidos da glândula mamária. Esta baixa conversão pós-absortiva de metionina em proteína do leite também foi encontrada por SOCHA et al. (1994 a e b), concordando com os resultados obtidos nesta pesquisa, pois não foram observados aumentos significativos nos teores de proteína do leite.

Embora não se tenha observado diferença significativa no teor de proteína do leite, considera-se importante salientar que, do ponto de vista econômico, pequenos aumentos na proteína do leite devem ser considerados. Vacas de maior produção suplementadas com MPDR, no

pico da lactação, produziram 4 e 2% mais leite do que as vacas suplementadas com MNPDR e mistura. No pós-pico da lactação a superioridade de vacas suplementadas com MPDR foi de 4, 9 e 5% e, no meio da lactação foi, de 11; 9 e 10%, respectivamente, em relação às vacas suplementadas com MNPDR, mistura de metioninas e controle. Evidenciou-se, portanto, influência mais consistente da MPDR quando a produção de leite das vacas foi superior a 25 kg/dia.

Esta superioridade no teor de proteína do leite para vacas suplementadas com MPDR nas três fases da lactação, provavelmente, ocorreu devido a uma maior disponibilidade plasmática de metionina no intestino delgado para posterior absorção, evitando que esta fonte de metionina fosse direcionada para a síntese de glicose e posteriormente, utilizada como fonte de energia pelo animal (CHURCH, 1993) ou na gliconeogênese para produção de ácidos graxos e, consequentemente, de gordura no leite.

Os resultados também demonstraram que a suplementação com MNPDR foi a pior fonte de metionina utilizada, sugerindo que o ambiente ruminal pode não necessitar de maiores quantidades de metionina do que aquelas fornecidas pelos alimentos, porém o metabolismo da vaca pode requerer quantidades de metionina superiores às supridas pela metionina sobrepassante dietética.

SANCANARI et al. (2001) verificaram que vacas suplementadas com metionina protegida da degradação ruminal, embora não tenham produzido mais proteína no leite ($P>0,05$), apresentaram 3% e 1% superiores, quando comparadas às vacas suplementadas com metionina não protegida e controle, respectivamente. Este aspecto foi biológico e economicamente interessante.

Isto leva a inferir que mais estudos são necessários, principalmente utilizando-se o método dose resposta (SCHWAB, 1996), para se determinar a extensão da limitação da metionina sobre a composição protéica do leite.

ARMENTANO et al. (1997) obtiveram teores de 2,95 e 2,99% de proteína do leite para vacas suplementadas com 5,25 g/dia e 10,5 g/dia de metionina, respectivamente. Foi verificado aumento linear no teor de proteína do leite diante da suplementação com metionina. Comparativamente a este estudo, verificou-se que a dosagem de 10,5 g/dia utilizada por ARMENTANO et al. (1997) foi superior à utilizada nesta pesquisa (8,4 g/dia) em 2,1 g/dia de MPDR.

SCHINGOETHE (1996) desenvolveu estudos *in vitro* para avaliar o crescimento celular das células secretoras de leite e verificaram que a síntese de proteína pelas células mamárias cresceram de 20 a 460% na presença de aminoácidos essenciais. Desta forma, concluíram

que o teor e a produção de proteína no leite estão diretamente associados aos teores de aminoácidos que chegam no intestino para absorção.

Contrariamente aos resultados obtidos neste estudo, CASPER et al. (1987); ROGERS et al. (1989); ARMENTANO et al. (1993); RULQUIN & DELABY (1994); PIEPENBRINK et al. (1996); PISULEWSKI et al. (1996); BREMMER et al. (1997); RIOS et al. (1999) e ROBINSON et al. (1999) encontraram aumentos no teor e/ou na produção de proteína do leite quando suplementaram com metionina e/ou lisina, e sugeriram que os aumentos na síntese de proteína do leite estão associados a aumentos nas concentrações plasmáticas de metionina, possibilitando acréscimos na concentração de nitrogênio no plasma, aumentando a disponibilidade na glândula mamária.

Com o avançar da lactação a tendência é aumentar o teor de proteína do leite e diminuir a produção de leite (BEHMER, 1987). Durante o pós-pico da lactação, observou-se que vacas de maior produção de leite apresentaram diminuição no teor de proteína quando comparadas ao pico da lactação, e que as vacas suplementadas com mistura de aminoácidos apresentaram redução mais elevada, cerca de 10%, no teor de proteína do leite. Vacas de menor produção de leite (grupo 2) apresentaram teores de proteína crescentes, mas acompanhados de aumentos na produção de leite do pico para o pós-pico (SANCANARI et al. 2001). No entanto, um aspecto interessante foi que, no meio da lactação as vacas deste estudo apresentaram produção de leite e teores de proteína no leite ascendentes, exceto para vacas suplementadas com MNPDR.

Segundo SCHWAB (1996), o nível de metionina na digesta duodenal varia de 2,6 a 6,5% do total de aminoácidos essenciais (% AAE) e o de lisina de 9,6 a 16% AAE. Esta variação ocorre em função dos ingredientes utilizados e da quantidade de ingredientes ingeridos na dieta. SOCHA & SCHWAB (1994) desenvolveram equações de regressão para estimar o teor de metionina e de lisina na digesta duodenal.

Através destas equações de regressão, estimaram-se os níveis de metionina e de lisina da digesta duodenal. Os níveis obtidos foram: 3,88% de metionina na digesta duodenal como %AAE e 12,43% de lisina na digesta duodenal como % dos AAE, portanto, dentro dos níveis recomendados por SCHWAB (1996). No entanto, este autor comentou que para ocorrerem aumentos nos teores de proteína do leite, os níveis de metionina e de lisina devem estar entre 4,2 a 4,6% AAE e 12 a 13,9% AAE, respectivamente. Assim, observou-se que os níveis de metionina na dieta foram insuficientes para suportar aumentos na proteína do leite.

Segundo FONSECA & SANTOS (2000), a proteína do leite é o nutriente mais difícil de ser alterado, porém, nutricionalmente, alguns aspectos podem ser manipulados, entre eles, quantidades e proporções de aminoácidos essenciais (principalmente metionina e lisina), dietas com altos teores de carboidratos fermentáveis no rúmen, proteína não degradável no rúmen (desde que contenham um bom perfil de aminoácidos essenciais) fornecimento de forragem de boa qualidade. Para SCHINGOETHE (1996), fatores como raça, ambiente, saúde, fase da lactação e dieta podem interferir no nível de proteína do leite, sendo que alguns deles podem ser manipulados, principalmente a dieta. Atualmente, muitos experimentos têm sido conduzidos na tentativa de alterar a composição da proteína do leite pela dieta.

Neste estudo, a ração foi formulada para atender os requerimentos das vacas em proteína (degradável e não degradável no rúmen) acompanhada de suplementação com fontes de metionina. Esperava-se observar efeitos sobre a proteína do leite, o que não ocorreu, sugerindo que existe a necessidade de se reverem as exigências nutricionais, particularmente em metionina e lisina, de vacas leiteiras com elevada produção de leite, em condições brasileiras. Em outros estudos conduzidos por SANCANARI et al. (2000) e SANCANARI et al. (2001), no Brasil, com vacas de elevada produção de leite, alimentadas com ração completa, porém formulada com outros ingredientes, e suplementadas com MPDR e MNPDR, não foram evidenciados aumentos nos teores de proteína do leite. Estes resultados têm sido discordados dos ocorridos em outros países.

Ao se comparar o efeito do nível de produção (grupo 1 vs. grupo 2) em cada tratamento, observou-se que, apenas no pós-pico da lactação, vacas de menor produção (grupo 2) suplementadas com mistura de metioninas e controle, respectivamente, apresentaram superioridade de 18 e 16% nos teores de proteína no leite ($P < 0,05$) quando comparadas às vacas de maior produção (grupo 1). Este efeito não foi evidenciado nas demais fases da lactação. Isto sugeriu que, no pico e no meio da lactação, o nível de produção das vacas não interferiu na resposta à suplementação com fontes de metionina.

Os dados de produção diária de proteína pelo leite encontram-se na Tabela 3 e evidenciaram influência ($P < 0,05$) do nível de produção de leite das vacas no pico e pós-pico da lactação, todavia sem efeito da suplementação com metionina.

Os resultados mostraram que as produções médias de proteína para vacas do grupo 1 e grupo 2 foram, respectivamente, de 710 e 550 g/dia para vacas suplementadas com MPDR, de 690 e 540 g/dia para vacas suplementadas com MNPDR,

de 710 e 540 g/dia para vacas suplementadas com mistura e de 720 e 590 g/dia para vacas controle.

No pico, vacas de maior produção suplementadas com MPDR, mistura e controle apresentaram melhores produções de proteína no leite ($P < 0,05$) quando comparadas com as vacas de menor produção de leite. No pós-pico, observou-se que esta situação se inverteu, sendo as melhores produções em cada tratamento, observadas para o grupo 2.

A relação proteína/gordura tem sido muito utilizada recentemente pelos laticínios de alguns países, entre eles, a Argentina, como parâmetro de remuneração do leite, visto que os laticínios têm buscado leite com maiores teores de proteína e menores teores de gordura.

A relação PB/G encontra-se na Tabela 3. Verificou-se que a relação PB/G foi afetada pela suplementação com fontes de metionina no pico da lactação. As vacas do grupo 1, suplementadas com MNPDR, apresentaram relação PB/G inferior ($P < 0,05$) em 21, 15 e 11% quando comparadas às suplementadas com MPDR, mistura e controle, respectivamente. Um aspecto interessante foi que, para essas vacas do grupo 1, a relação proteína/gordura foi ascendente quando se forneceram 0, 4,2 e 8,4 g/dia de MPDR.

Vacas do grupo 1 apresentaram relações próximas às preconizadas por FONSECA & SANTOS (2000) de 0,85 a 0,90 durante o pico da lactação. Com exceção do tratamento mistura de aminoácidos, a relação PB/G foi decrescente no pós-pico em relação ao pico.

Para vacas do grupo 2, o tratamento mistura que, no pico da lactação, esteve próximo ao recomendado, quase dobrou o valor da relação PB/G na fase seguinte da lactação.

Frações nitrogenadas do leite

A proteína do leite foi dividida nas diferentes frações nitrogenadas que a compõem, com o intuito de se observar o efeito da suplementação com fontes de metionina sobre cada fração.

Os teores e as produções de nitrogênio total (NT), nitrogênio verdadeiro (NV) e nitrogênio não protéico (NNP), nas diferentes fases da lactação, para vacas de maior produção de leite (grupo 1) e de menor produção de leite (grupo 2) encontram-se na Tabela 4. Neste estudo, não foram observadas alterações nos teores de proteína do leite, nem as frações protéicas do leite.

Os valores de NT durante as três fases da lactação, para ambos os grupos de vacas, foram muito próximos, demonstrando ausência de efeito das fontes de metionina sobre esta variável.

OVERTON et al. (1996) encontraram teores e produções de NT de 0,47 % e 0,17 kg/dia e 0,47 % e 0,18 kg/dia, respectivamente, quando suplementaram com 0 e 20 g/dia de metionina protegida, concordando com os resultados obtidos nesta pesquisa.

Contrariamente, mais tarde, BREMMER et al. (1997) verificaram efeito ($P < 0,02$) no teor de NT ao suplementarem com aminoácidos protegidos (0,60%) comparativamente a controle (0,59%), observando ainda que, quando as vacas receberam bST, os teores de NT foram maiores (0,61%).

PIEPENBRINK et al. (1996) verificaram que vacas alimentadas com 18% de proteína na ração tenderam a aumentar o N total, o N verdadeiro no leite e, consequentemente, o teor de proteína no leite em relação às vacas alimentadas com 14% de proteína.

Não foram observados efeitos ($P > 0,05$) sobre os teores e as produções de NV do leite diante da suplementação com fontes de metionina nas fases da lactação estudadas.

Semelhantemente a este estudo, OVERTON et al. (1996) obtiveram teores e produções de NV de 0,43 % e 0,16 kg/dia quando suplementaram as vacas com 0 e 20 g/dia de MPDR e ausência de efeitos significativos foi observada. BREMMER et al. (1997) obtiveram teores de NV de 0,57 % quando suplementaram as vacas com aminoácidos protegidos.

Contrariamente aos resultados obtidos neste estudo, PISULEWSKI et al. (1996) suplementaram vacas leiteiras com níveis crescentes (de 0 a 24 g/dia) de MPDR e observaram que houve efeito linear ($P < 0,05$) sobre o conteúdo de NV do leite.

Não foram observados efeitos ($P > 0,05$) sobre os teores e as produções de NNP diante da suplementação com fontes de metionina nas fases da lactação estudadas (Tabela 5).

Comparando entre os níveis de produção das vacas, observou-se que os teores e as produções de NNP do leite não foram influenciados pelas fontes de metionina suplementadas ($P > 0,05$).

Semelhantemente a este estudo, OVERTON et al. (1996) obtiveram teores e produções de NNP de 0,03 % e 0,01 kg/dia e teores e produções de NV de 0,43 % e 0,16 kg/dia quando suplementaram as vacas com 0 e 20 g/dia de MPDR. Ausência de efeitos significativos foi observada. BREMMER et al. (1997) obtiveram teores de NNP de 0,03% quando suplementaram as vacas com aminoácidos protegidos.

Resultados semelhantes foram obtidos por RIOS et al. (1999) quando suplementaram as vacas com 15 g/dia de MPDR e de metionina intravenosa, comparativamente a vacas controle.

Tabela 4 – Teores e produções de nitrogênio total (NT), nitrogênio verdadeiro (NV) e nitrogênio não protéico (NNP) do leite, nas diferentes fases da lactação, para vacas de maior produção (grupo 1) e de menor produção de leite (grupo 2).
Table 4 – Contents and productions of total nitrogen (TN), true nitrogen (TN) and non protein nitrogen (NPN) of milk, in the different phases of lactation, for cows with higher production (group 1) and of smaller milk production (group 2).

Nutrientes Nutrients	Tratamentos Treatments	Fases da Lactação Phases of lactation					
		Pico Peak		Pós-pico Post-peak		Meio Middle	
		Grupo 1 Group 1	Grupo 2 Group 2	Grupo 1 Group 1	Grupo 2 Group 2	Grupo 1 Group 1	Grupo 2 Group 2
NT TN (%)	MPDR	0,44 aA	0,41 aA	0,33 aA	0,48 aA	0,47 aA	0,45 aA
	RPM						
	MNPDR	0,43 aA	0,40 aA	0,41 aA	0,45 aA	0,42 aA	0,46 aA
	RNPM						
	Mistura	0,44 aA	0,42 aA	0,40 aA	0,46 aA	0,43 aA	0,46 aA
NT TN (kg/dia) (kg/day)	Control	0,46 aA	0,43 aA	0,41 aA	0,47 aA	0,43 aA	0,46 aA
	MPDR	0,11 aA	0,09 aA	0,07 aB	0,13 aA	0,11 aA	0,11 aA
	RPM						
	MNPDR	0,11 aA	0,08 aA	0,09 aA	0,13 aA	0,10 aA	0,11 aA
	RNPM						
NV TN (%)	Mistura	0,11 aA	0,08 aA	0,08 aB	0,12 aA	0,11 aA	0,11 aA
	Control	0,11 aA	0,09 aA	0,10 aA	0,13 aA	0,10 aA	0,10 aA
	MPDR	0,40 aA	0,36 aA	0,41 aA	0,44 aA	0,43 aA	0,39 aA
	RPM						
	MNPDR	0,40 aA	0,36 aA	0,37 aA	0,41 aA	0,37 aA	0,42 aA
NV TN (kg/dia) (kg/day)	RNPM						
	Mistura	0,40 aA	0,37 aA	0,37 aA	0,41 aA	0,40 aA	0,40 aA
	Control	0,41 aA	0,37 aA	0,37 aA	0,43 aA	0,39 aA	0,41 aA
	MPDR	0,10 aA	0,07 aB	0,09 aB	0,12 aA	0,10 aA	0,09 aA
	RPM						
NNP NPN (%)	MNPDR	0,10 aA	0,07 aB	0,08 aB	0,11 aA	0,08 aA	0,10 aA
	RNPM						
	Mistura	0,10 aA	0,07 aB	0,08 aB	0,11 aA	0,09 aA	0,10 aA
	Control	0,10 aA	0,08 aB	0,09 aB	0,11 aA	0,10 aA	0,09 aA
	MPDR	0,04 aA	0,06 aA	0,03 aA	0,04 aA	0,04 aA	0,07 aA
NNP NPN (kg/dia) (kg/day)	RPM						
	MNPDR	0,03 aA	0,06 aA	0,05 aA	0,04 aA	0,06 aA	0,05 aA
	RNPM						
	Mistura	0,04 aA	0,05 aA	0,03 aA	0,04 aA	0,04 aA	0,05 aA
	Control	0,03 aA	0,05 aA	0,04 aA	0,05 aA	0,04 aA	0,06 aA
NNP NPN (kg/dia) (kg/day)	MPDR	0,01 aA	0,01 aA	0,01 aA	0,01 aA	0,01 aA	0,02 aA
	RPM						
	MNPDR	0,01 aA	0,01 aA	0,01 aA	0,01 aA	0,01 aA	0,01 aA
	RNPM						
	Mistura	0,01 aA	0,01 aA	0,01 aA	0,01 aA	0,01 aA	0,01 aA
NNP NPN (kg/dia) (kg/day)	Control	0,01 aA	0,01 aA	0,01 aA	0,01 aA	0,01 aA	0,01 aA
	MPDR						
	RPM						
	MNPDR						
	RNPM						
	Mistura						
	Control						

^{a,b} Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$). ^{a,b} Means followed by same small letters in the column do not differ to each other for the Tukey test ($P>0,05$).

^{A,B} Em cada tratamento, médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre grupos de vacas pelo teste de Tukey ($P>0,05$). ^{A,B} In each treatment, means followed by same letter capital in the line do not differ among groups of cows for the Tukey test ($P>0,05$).

Tabela 5 – Teores e produções de nitrogênio caseico (NC), nitrogênio do soro (NS), e nitrogênio uréico (NUL) no leite, nas diferentes fases da lactação, para vacas de maior produção de leite (grupo 1) e de menor produção de leite (grupo 2).
Table 5 – Contents and productions of casein nitrogen (CN), whey nitrogen (WN) and urea nitrogen (MUN) of milk, in the different phases of lactation, for cows with higher production (group 1) and of smaller milk production (group 2).

Nutrientes Nutrients	Tratamentos Treatments	Fases da Lactação Phases of lactation					
		Pico Peak		Pós-pico Post-peak		Meio Middle	
		Grupo 1 Group 1	Grupo 2 Group 2	Grupo 1 Group 1	Grupo 2 Group 2	Grupo 1 Group 1	Grupo 2 Group 2
NC CN (%)	MPD	0,33 aA	0,31 aA	0,31 aB	0,37 aA	0,37 aA	0,34 aA
	RPM						
	MNPDR	0,30 aA	0,31 aA	0,30 aA	0,36 aA	0,32 aA	0,35 aA
	RNPM						
	Mistura	0,33 aA	0,31 aA	0,29 aA	0,35 aA	0,33 aA	0,35 aA
NC CN (kg/dia) (kg/day)	Control	0,34 aA	0,34 aA	0,29 aB	0,36 aA	0,33 aA	0,34 aA
	MPDR	0,08 aA	0,06 aA	0,06 aB	0,10 aA	0,09 aA	0,08 aA
	RPM						
	MNPDR	0,08 aA	0,06 aA	0,07 aB	0,10 aA	0,07 aA	0,08 aA
	RNPM						
NS WN (%)	Mistura	0,09 aA	0,06 aB	0,06 aB	0,09 aA	0,08 aA	0,08 aA
	Control	0,09 aA	0,07 aA	0,07 aB	0,09 aA	0,08 aA	0,08 aA
	MPDR	0,07 aA	0,04 aA	0,22 aA	0,06 aA	0,06 aA	0,05 aA
	RPM						
	MNPDR	0,29 aA	0,05 aA	0,26 aA	0,05 aA	0,04 aA	0,07 aA
NS WN (kg/dia) (kg/day)	RNPM						
	Mistura	0,07 aA	0,05 aA	0,08 aA	0,07 aA	0,06 aA	0,05 aA
	Control	0,06 aA	0,18 aA	0,08 aA	0,06 aA	0,09 aA	
	MPDR	0,02 aA	0,01 aA	0,02 aA	0,02 aA	0,01 aA	0,01 aA
	RPM						
NUL MUN (mg/dL) (mg/dL)	MNPDR	0,02 aA	0,01 aA	0,02 aA	0,01 aA	0,01 aA	0,02 aA
	RNPM						
	Mistura	0,02 aA	0,01 aA	0,02 aA	0,02 aA	0,02 aA	0,01 aA
	Control	0,02 aA	0,01 aA	0,02 aA	0,02 aA	0,02 aA	0,02 aA
	MPDR	11,6 aA	15,5 aA	14,8 aA	14,1 aA	15,3 aA	16,8 aA
NUL MUN (mg/dL) (mg/dL)	RPM						
	MNPDR	13,7 aA	13,8 aA	14,1 aA	15,0 aA	15,2 aA	17,0 aA
	RNPM						
	Mistura	12,3 aA	16,3 aA	14,0 aA	13,5 aA	16,7 aA	17,3 aA
	Control	13,5 aA	16,1 aA	14,4 aA	17,0 aA	16,0 aA	20,1 aB

^{a,b} Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$). ^{a,b} Means followed by same small letters in the column do not differ to each other for the Tukey test ($P>0,05$).

^{A,B} Em cada tratamento, médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre grupos de vacas pelo teste de Tukey ($P>0,05$). ^{A,B} In each treatment, means followed by same letter capital in the line do not differ among groups of cows for the Tukey test ($P>0,05$).

PISULEWSKI et al. (1996) não observaram efeito ($P>0,05$) sobre o teor de NNP do leite quando suplementaram com MPDR.

A caseína é a principal fração protéica do leite. Aumentos nos teores de proteína do leite normalmente estão associados a aumentos na caseína, isto porque a caseína corresponde a 78% da fração protéica do leite (FONSECA & SANTOS, 2000). Neste estudo, o NC do leite não foi influenciado pelas fontes de metioninas suplementadas nas diferentes fases da lactação, quer se considerem vacas de maior ou de menor produção de leite.

Os teores e as produções de nitrogênio caseico (NC), nitrogênio do soro (NS) e nitrogênio uréico do leite (NUL), nas diferentes fases da lactação, para os diferentes grupos de vacas, encontram-se na Tabela 5.

Quando se avalia composição da matéria protéica do leite, é importante salientar que, muitas vezes, o teor e produção de proteína do leite não são alterados pela suplementação com fontes de metionina, mas a qualidade de seus componentes pode ser modificada.

PISULEWSKI et al. (1996) verificaram efeitos significativos sobre a caseína do leite quando infundiram diferentes níveis de metionina (0 a 20 g/dia) em vacas leiteiras; verificaram também que estes efeitos lineares foram crescentes ($P<0,001$). Estes autores determinaram, ainda, as frações (α , β , γ e κ) que compõem a caseína e observaram que o efeito da suplementação com diferentes níveis de metionina ocorre sobre a fração α ($P<0,05$), e que os maiores valores foram obtidos para a infusão de 12 g/dia de metionina. Contrariamente, RIOS et al. (1999) não observaram efeitos sobre as frações α , β , γ e κ caseína quando suplementaram com 15 g/dia de MPDR ou infundida no abomaso, mas observaram que houve uma maior produção de β caseína ($P<0,05$) para vacas controle quando comparadas às vacas suplementadas com MPDR.

Ao se comparar o nível de produção das vacas, observou-se que a produção de NV foi influenciada ($P<0,05$) no pico e no pós-pico da lactação, sem, entretanto, observar efeito da suplementação com as metioninas.

No pico da lactação, observou-se que vacas do grupo 1 suplementadas com mistura de metioninas produziram 50 % mais caseína no leite que vacas do grupo 2 ($P<0,05\%$). No entanto, no pós-pico da lactação, para todos os tratamentos foram evidenciados efeitos ($P<0,05$) quando se comparou o nível de produção das vacas, obtendo-se os menores valores de NC para as vacas do grupo 1. Os teores de soro no leite não diferiram entre tratamentos, em ambos os grupos de vacas,

nas diferentes fases da lactação, concordando com PISULEWSKI et al. (1996) e com OVERTON et al. (1996).

Para cada tratamento, individualmente, nos dois grupos de vacas, observou-se que para algumas variáveis estudadas a suplementação com as diferentes fontes de metionina apresentaram diferença significativa entre o grupo 1 e o grupo 2 durante o pico e pós-pico da lactação. A resposta à suplementação com fontes de metionina para algumas variáveis pode depender do nível de produção das vacas.

O nitrogênio uréico do leite (NUL) não foi influenciado pelas fontes de metionina suplementadas nas diferentes fases da lactação, quer se considerem vacas de maior ou de menor produção de leite.

O NUL atualmente tem sido utilizado como um indicativo da eficiência de utilização da proteína da ração pelas vacas. Isto porque elevados teores de NUL no leite podem ser um indicio de que os microrganismos presentes no rúmen não estão utilizando todo o NH_3 para síntese de proteína microbiana, sendo, assim, que elevadas quantidades de uréia são encontradas no sangue e, conseqüentemente, no leite.

Neste estudo, as vacas foram alimentadas com ração completa, de modo que os requerimentos protéicos e energéticos foram atendidos, observando-se, assim, que no pico da lactação, tanto para vacas do grupo 1 quanto para as do grupo 2, os valores de NUL encontraram-se dentro dos recomendados por PEREZ (2001) de 0,85 a 0,90 mg/dL.

No pós-pico, embora não se tenham obtido diferenças significativas nos teores de NUL para ambos os grupos de vacas, as vacas controle do grupo 2 apresentaram quantidades de NUL 21, 13 e 26% superiores às vacas suplementadas com MPDR, MNPD e mistura de metioninas. Isto pode estar indicando que, quando as vacas foram suplementadas com 8,4 g/dia de MNPD, menores quantidades de NUL foram observadas no leite, possibilitando inferir que, possivelmente, a metionina presente no rúmen foi utilizada na síntese de proteína microbiana.

Durante o meio da lactação, elevadas quantidades de NUL no leite foram observadas em todos os tratamentos, no entanto não foram observadas diferenças significativas entre eles. Quando se comparou o nível de produção das vacas, verificou-se que as vacas controle do grupo 2 apresentaram quantidades de NUL 26 % superiores às vacas do grupo 1. Este efeito já havia sido evidenciado na fase anterior com superioridade de 24 % para as vacas do grupo 2 em relação às do grupo 1. Isto levou a suspeitar, portanto que as vacas do grupo 2, por serem menos

exigentes e apresentarem produções de leite inferiores (SANCANARI et al. 2001) que as do grupo 1, não utilizaram a proteína da dieta para a síntese de proteína microbiana, promovendo elevados teores de NUL no leite.

Segundo RIOS et al. (1999), a suplementação com metionina pode melhorar a eficiência de utilização ruminal do nitrogênio dietético em vacas alimentadas com dietas contendo baixos níveis de proteína, melhorando, assim, o suprimento de aminoácidos para o intestino delgado e, conseqüentemente, para a glândula mamária.

Aumentos nos teores de gordura do leite normalmente estão associados a diminuições nos teores de proteína do leite. Neste estudo, foram observados aumentos nos teores de gordura do leite (SANCANARI et al. 2001) diante da suplementação com fontes de metionina. Isto evidenciou que a suplementação com fontes de metionina possa estar mais associada a outros caminhos metabólicos na glândula mamária ou, considerando-se os ingredientes dietéticos, não tenha havido limitação em metionina.

Contrariamente ao que se esperava nesta pesquisa, a matéria protéica do leite não foi influenciada diante da suplementação com fontes de metionina, quer se considere o nível de produção das vacas, ou a fase da lactação avaliada.

CONCLUSÕES

O teor de proteína do leite e as frações nitrogenadas que o compõem não foram influenciados pela suplementação com fontes de metionina, quer se considere o nível de produção das vacas, ou a fase da lactação avaliada.

O nível de produção das vacas influenciou na resposta à suplementação com fontes de metionina sobre as produções de proteína, de nitrogênio verdadeiro e de nitrogênio caseico no leite no pico e pós-pico da lactação.

Embora a ração deste experimento atendes-se aos requerimentos dos animais em proteína e energia, os ingredientes utilizados na composição da dieta não permitiram a obtenção de teores estimados de metionina e de lisina na digesta duodenal capazes de suportar aumentos na proteína do leite.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of supplementation with 8.4 g/day of rumen protected methionine (RPM) or non protected methionine (RNPM) or methionine mixture (50%RPM + 50% RNPM), comparatively to control cows, about the nitrogen fractions and milk protein composition during the peak, post-peak, and middle of the lactation. Eight Holstein

dairy cows were divided in two groups according to milk production (MP), group-1 was formed by cows with $\text{MP} \geq 25.0$ kg/day and group-2 by cows with $\text{MP} < 25.0$ kg/day, both groups fed with complete ration containing corn silage and concentrate. The content and production of milk protein were not influenced by the methionine supplementation throughout the lactation. During the peak, post peak, and middle of the lactation no significant difference was observed in the content of total nitrogen, casein nitrogen, non protein nitrogen, whey nitrogen, and urea nitrogen of milk when, the cows were supplemented with methionine. However, the production of true nitrogen (TN) just for cows of the group 1, in the middle of the lactation, was affected ($P<0.05$) by the sources of methionine, being the smallest productions of TN evidenced by cows supplemented with RNPM. The effect of supplementation with methionine sources was affected by the level of milk production of the cows.

Key-words: casein, milk urea nitrogen, non protein nitrogen, total nitrogen, whey nitrogen

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARMENTANO, L. E. *et al.* Lactation. response to rumen-protected methionine, or methionine with lysine in diets based in alfafa haylage. *J. Dairy Sci.*, v. 76, suppl. 1, p.202, 1993. Abstract, 167.

ARMENTANO, L. E. *et al.* Response of lactating cows to methionine, or methionine plus lysine added to high protein diets based on alfalfa and heated soybeans. *J. Dairy Sci.*, v. 80, n.6, p. 1194-1199, 1997.

ASSOCIATION OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS - AOAC. *Official methods of analysis*. 15.ed. Washington, 1990. v. 1, 1117p.

BEHMER, M. L. A. *Tecnologia do leite: produção, industrialização e análise*. 15. ed. São Paulo : Nobel, 1987. p. 321.

BREMMER, D. R. *et al.* Production and composition of milk from Jersey cows administered bovine somatotropin and fed ruminally protected amino acids. *J. Dairy Sci.*, v. 80, n. 7, p. 1374-1380, 1997.

CASPER, D. P. *et al.* Protected methionine supplementation with an extruded blend of soybeans and soybean meal for dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 70, n. 2, p. 321-328, 1987.

CHURCH, D. C. *El ruminant: fisiologia digestiva y nutrición*. Zaragoza: Acribia, 1993. 691p.

COOPERATIVA CENTRAL GAÚCHA DE LEITE - CCGL - **Manual de higiene e resfriamento do leite**. Porto Alegre: Cooperativa Central Gaúcha de Leite, 1982. 151p.

EXPO NACIONAL DOS MUNICÍPIOS. São Paulo: Estado de São Paulo, Rede Municipalista de divulgação e imprensa, 1974. p. 404.

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

GUINARD, J.; RULQUIN, H. Effects of graded amounts of duodenal infusions of methionine on the mammary uptake of major milk precursors in dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v. 78, n. 10, p. 2196-2207, 1995.

HOLMES, C. W.; WILSON, C. F. **Produção de leite a pasto**. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1990. 708p.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION - IDF. Determination of the casein content of milk. **Int. Dairy Fed.**, v. 29, 1964, 12p.

KALIL, E. B. **Técnica experimental com animais**. São Paulo: Instituto de Zootecnia, 1971. 177p.
KUNG, L.; RODE, L. M. Amino acid metabolism in ruminants. **Anim. Feed Sci. Technol.**, v. 59, p. 167-172, 1996.

LEHENAFF, L. *et al.* Lactational responses to postprandial infusions of amino acids (AA) in dairy cows fed with maize silage, hay or grass silage. **Reprod. Nutr. Dev.**, suppl. 2, 1990. Abstract 237.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrients requirements of dairy cattle**. 6.ed. Washington: National Academy Press, 1989. 157p.

OVERTON, T. R. *et al.* Evaluation of a ruminally protected methionine product for lactating dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v. 79, n. 4, p. 631-638, 1996.

PATTERSON, H. D.; LUCAS, H. L. **Change-over designs**. North Carolina: Agriculture Experimental Station, 1962. 53p.

PEREZ, J. R. **Avaliação do nitrogênio uréico do leite: sintonia fina na nutrição**. Disponível em <<http://www.milkpoint.com.br/seções/radar.asp?dicasid=54&secoisid=1>>. Acesso em 3 abr. 2001.

PIEPENBRINK, M. S. *et al.* Response of cows fed a low crude protein diet to ruminally protected methionine and lysine. **J. Dairy Sci.**, v. 79, n. 9, p. 1638-1646, 1996.

PISULEWSKI, P. M. *et al.* Lactational and systemic response of dairy cows to postprandial infusions of increasing amounts of methionine. **J. Dairy Sci.**, v. 79, n. 10, p. 1781-1791, 1996.

RIOS, D. P. *et al.* The effects of methionine supplementation upon milk composition and production of forage-fed dairy cows. **Can. J. Anim. Sci.**, v. 79, n. 2, p. 235-241, 1999.

ROBINSON, P. H. *et al.* Influence of postprandial supplementation of methionine and lysine, isoleucine, or all three amino acids intake and chewing behavior, ruminal fermentation, and milk and milk component production. **J. Anim. Sci.**, v. 77, n. 10, p. 2781-1792, 1999.

RODRIGUEZ, N. M. Exigência em aminoácidos para vacas de alta produção. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, SEMINÁRIO SOBRE TECNOLOGIA DA PRODUÇÃO DE RAÇÕES, 1996, Campinas. **Anais...** p. 102-137.

ROGERS, J. A. *et al.* Production response of dairy cows fed various amounts of rumen-protected methionine and lysine. **J. Dairy Sci.**, v. 72, p. 1800-17, 1989.

RULQUIN, H. The determination of certain limiting amino acids in dairy cows by post ruminal administration. **Reprod. Nutr. Dev.**, v. 27, p. 299, 1987. Abstract 1B.

RULQUIN, H.; DELABY, L. Effects of energy status on lactational responses of dairy cows to rumen protected methionine. **J. Dairy Sci.**, v. 72, suppl. 1, p. 91, 1994. Abstract 346.

SANCANARI, J. B. D. *et al.* Efeito do fornecimento de metionina protegida e não protegida da degradação ruminal sobre a produção de leite de vacas holandesas. In: REUNIÃO LATINO AMERICANA DE PRODUÇÃO ANIMAL, 16., 2000, Uruguai **Anais...** p. 1-9. CD ROM.

SANCANARI, J.B.D. *et al.* Efeito da metionina protegida e não protegida da degradação ruminal sobre a produção e composição do leite de vacas Holandesas. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 30, n. 1, p. 286-294, 2001.

SANCANARI, J. B. D. *et al.* Produção e qualidade do leite de vacas Holandesas suplementadas com diferentes fontes de metionina. In: REUNION LATINOAMERICANA DE PRODUCCION ANIMAL, XVII, 2001, Havana - Cuba. **Anais...**, p. 64, 2001; trabalho na íntegra em CDROM. (DP 86)

SCHINGOETH, D. J. Dietary influence on protein level in milk and milk yield in dairy cows. **Anim. Feed Sci. Technol.**, v. 60, p. 181-190, 1996.

SCHWAB, C. G. Optimizing amino acids nutrition for optimum yields of milk and milk protein. In: SOUTHWEST NUTR. MANAGE. CONF., 1994, Phenix, **Proceedings ...** p. 114-129.

SCHWAB, C. G. Rumen-protected amino acids for dairy cattle : progress towards determining lysine and methionine requirements. **Anim. Feed Sci. Technol.**, v. 59, p. 87-101, 1996.

SCHWAB, C. G. *et al.* Amino acid limitation and flow to duodenum at four stages of lactation.1. Sequence of lysine and methionine limitation. **J. Dairy Sci.**, v. 75, n. 12, p. 3486-3502, 1992a.

SCHWAB, C. G. *et al.* Amino acid limitation and flow to duodenum at four stages of lactation.1. Extent of lysine limitation. **J.**

Dairy Sci., v. 75, n. 12, p. 3503-3518, 1992b.

SEYMOUR, W. M. *et al.* Effects of dietary protein degradability and casein or amino acids infusions on production and plasma amino acids in dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v. 73, n. 3, p. 735-48, 1990.

SILVA, D. J. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 1990. 166p.

SOCHA, M. E.; SCHWAB, C. G. Developing dose-response relationships for absorbable lysine and methionine supplies in relation milk and milk protein production from published data using the University of New Hampshire equations. **J. Anim. Sci.**, suppl. 2, 1994. Abstract 124.

SOCHA, M. E. *et al.* Determining methionine requirements of dairy cows during peak lactation, by postprandially infusing incremental amounts of methionine. **J. Dairy Sci.**, v. 77, suppl.1, 1994 a. Abstract 350.

SOCHA, M. E. *et al.* Determining methionine requirements of dairy cows during mid lactation by postprandially infusing incremental amounts of methionine. **J. Dairy Sci.**, v. 77, suppl.1, 1994 b. Abstract 351.



ESTABILIZANTES
EMULSIFICANTES
MISTURAS EM PÓ AROMATIZADAS
AROMAS
CULTURAS LÁTICAS
CORANTES
PREPARAÇÕES DE FRUTAS
CONSERVANTES



Rua Bruno Simili, 380 - Distrito Industrial
CEP 36092-050 - Juiz de Fora - MG
Tel. (32) 3249-7600 - Fax (32) 3249-7610
www.gemacom.com.br
gemacom@gemacom.com.br

"SALGA DE QUEIJOS EM SALMOURA: UMA REVISÃO"

*Renata Golin Bueno Costa**

*Verônica Lobato***

*Luiz Ronaldo de Abreu****

*Fernando Antônio Resplande Magalhães*****

RESUMO

Dentre as diversas etapas da fabricação de queijos, a salga destaca-se por sua grande importância, uma vez que desempenha várias funções, seja no próprio sabor do queijo como na sua maturação. Embora ela seja necessária para conferir ao produto características físico-químicas e sensoriais desejáveis, vários defeitos podem surgir ou ser decorrentes dessa etapa. Este artigo visa relatar o fenômeno de salga de queijos em salmouras, bem como os fatores que a influenciam e as possíveis contaminações microbiológicas ocorridas nesta etapa de fabricação.

1 INTRODUÇÃO

A adição de sal em queijos objetiva melhorar o sabor, a textura e auxiliar na fixação da cor do queijo, inibir o crescimento de microrganismos contaminantes que podem provocar sérios defeitos no queijo, promover a sinérese da massa e contribuir para o ajuste do teor de umidade final (Payne & Morison, 1999; Morris et al., 1985).

O teor de sal no queijo é considerado um dos mais importantes fatores que influenciam na qualidade do produto (Morris et al., 1985). Na indústria queijeira, a salga é indispensável na fabricação dos produtos destinados ao processo de maturação. Esta é constituída por um conjunto complexo de mecanismos biológicos, enzimáticos e físico-químicos, cujos fatores limitantes são a temperatura, o pH, o potencial de oxirredução e a atividade de água (Luquet, 1993). Os fenômenos da proteólise (degradação protéica) e lipólise (hidrólise da gordura), que ocorrem durante a maturação, são regulados por enzimas ativadas quando o teor de sal está normal (0,5 a 2,5% (m/m), em geral) e inibidos em teores excessivamente elevados (Furtado, 1991).

Segundo Guinee & Fox (1987), existem três principais métodos de salga em queijos:

- adição direta de sal na massa do queijo, como nos queijos cheddar e cottage;
- distribuição do sal na superfície, como no queijo azul;

- imersão de blocos de massa de queijo em uma solução de sal (salmoura) com cerca de 20% NaCl (m/v), como nos queijos edam, gouda, saint paulin, prato e provolone.

Algumas vezes, a combinação de dois métodos é utilizada, como, por exemplo, na fabricação de queijo emmental, parmesão e romano (Guinee & Fox, 1987).

De acordo com Pavia et al. (2000), um novo método de salga, baseado na impregnação de salmoura a vácuo, vem sendo usado em produtos porosos. O processo consiste na imersão do queijo na salmoura e aplicação de vácuo no sistema. Como consequência da diferença de pressão, o gás ocluído nos poros do queijo expande-se e sai do produto. Quando o sistema retorna à pressão atmosférica, a salmoura flui facilmente, atingindo rapidamente o centro do queijo. Gonzáles-Martínez et al. (2002), trabalhando com o queijo tipo manchego, de origem espanhola, concluíram que quanto maior a porosidade da massa do queijo e a sua umidade, mais rápido é o processo de salga a vácuo do mesmo.

2 A SALMOURA

A salmoura consiste numa solução de cloreto de sódio a 20% (m/v), na maioria dos casos, exceto para alguns tipos de queijos ou tecnologias. Ela não deve apresentar teor menor

* Engenheira de Alimentos: renatagolin@bol.com.br

** Professora DCA/UFLA/MG

*** Professor DCA/UFLA/MG

**** Pesquisador EPAMIG-CT/ILCT

que 16%-17% (m/v) e nem superior a 20% (m/v), uma vez que o excesso de sal comprometerá a qualidade do queijo (Furtado, 1991).

Além da correção periódica do teor de cloreto de sódio, é imprescindível fazer correções de pH e manter a qualidade microbiológica da salmoura (Guinee & Fox, 1987).

Tradicionalmente, a salmoura encontra-se em grandes tanques azulejados ou em tanques de fibra de vidro, situados no interior de câmaras frigoríficas nos estabelecimentos industriais com a finalidade de manter a temperatura correta da mesma (Garcia et al., 2000b).

A salmoura pode ser utilizada por um longo período, desde que regularmente seja submetida à correção do seu teor de sal e tratada para manutenção da sua qualidade microbiológica. O volume de salmoura necessário deve levar em conta a relação massa de queijo/volume de salmoura e o tipo de queijo a ser salgado. A prática indica que, para cada quilo de queijo a ser submetido ao processo de salga, são necessários três litros de salmoura, no mínimo. Em geral, a salmoura é mantida com 19 graus Baumé (19°Bé) ou 20% de sal (m/v). Para queijos duros, recomenda-se inicialmente uma salmoura a 17%-18% (m/v) de sal e posteriormente a 25% (m/v) (Furtado, 1991).

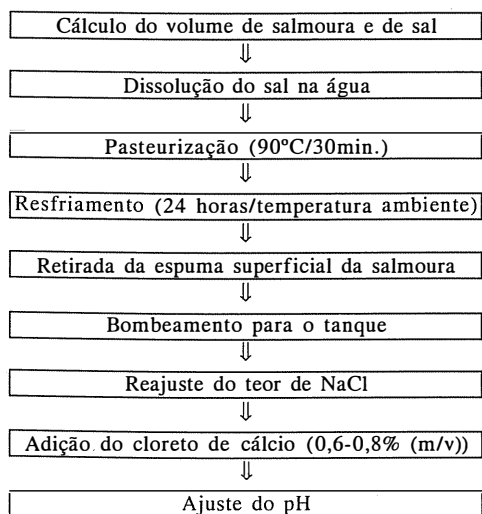


FIGURA 1 Fluxograma de preparação de salmoura para salga de queijos. Fonseca (1986)

O sal utilizado na salmoura deve ser considerado sob os pontos de vista químico e microbiológico. No sal marinho encontram-se alguns microrganismos como *Micrococcus* e *Clostridium* (*butyricum* e *sporogenes*) que podem

ser danosos ao queijo. Quando o sal é refinado, o índice de contaminação reduz drasticamente e, durante a preparação da salmoura, o tratamento térmico (pasteurização) elimina eventuais contaminações (Fonseca, 1986).

Em relação à qualidade química, o sal deve conter um baixo teor de sulfatos (menor que 0,02% (m/m)), de ferro (menor que 0,001% (m/m)) e de metais pesados, como chumbo, cobre e arsênico (menor que 0,0005% (m/m)). Além disso, a presença de nitratos e magnésio pode formar manchas no queijo (Furtado, 1991).

As operações de preparo da salmoura podem ser divididas em diversas fases, conforme Figura 1.

2.1 Manutenção da salmoura

O uso da salmoura implica no seu enriquecimento progressivo em diversas substâncias provenientes do queijo, tais como fragmentos de caseína, proteínas solúveis, lactose, ácido láctico e sais minerais. A salmoura tende a modificar, tanto química quanto microbiologicamente. A contagem de bolores e leveduras halofílicas aumenta, enquanto o teor de sal diminui (Scott, 1991). O pH da salmoura aumenta rapidamente nos primeiros dias de uso de uma nova solução e depois estabiliza a um valor próximo ao pH dos queijos. Devido ao poder tamponante da salmoura, o pH não varia muito, mas a acidez titulável tende a subir e deve ser periodicamente corrigida para valores que não alterem drasticamente o pH (Fonseca, 1986).

Do ponto de vista microbiológico, sempre que a contagem global da salmoura exceder a 100.000 UFC/mL, é necessária a sua correção. A manutenção da salmoura divide-se em dois processos básicos:

- correção: ajuste do teor de sal, acidez titulável e da carga microbiana. Geralmente é conduzida a cada sete ou dez dias, quando a salmoura não está sendo utilizada; e
- recuperação: tratamento térmico rigoroso da salmoura, seguido por resfriamento, decantação, filtração e eventual reajuste do teor de sal, cálcio e pH. Sua realização depende da intensidade do uso da salmoura. Geralmente é feito após 4 a 6 meses de uso corrente (Furtado, 1991).

2.1.1 Correção

Para a correção da salmoura, o teor de sal deverá ser reajustado sempre para o teor estabelecido originalmente. Quanto à correção da

acidez titulável, torna-se difícil estabelecer um limite, pois não apresenta correlação com o pH, uma vez que o mesmo é afetado pelo tipo de ácido formado na salmoura (poder de dissociação) e pela presença de tamponantes (lactatos, fosfatos, proteínas, entre outros). Na prática, é comum adotar 0,2% (m/v) de ácido láctico como padrão e a neutralização é feita com hidróxido de sódio (Fonseca, 1986).

A correção da carga microbiológica pode ser feita por tratamento térmico ou por meio de produtos químicos, sendo o mais usado o peróxido de hidrogênio 30% (130 volumes) que não contenha metais pesados, à base de 200-300 mL por 1.000 litros de salmoura. Outro produto a ser utilizado é o hipoclorito de sódio (10 a 15% (m/v) de cloro ativo), adicionado à base de 500 mL por 1.000 litros de salmoura, sendo sua eficiência menor que a do peróxido. Os produtos devem ser adicionados em salmouras que não contenham queijos e estas só devem ser usadas 12 horas após o tratamento (Furtado, 1991; Fonseca, 1986).

2.1.2 Recuperação

Para a recuperação, a salmoura deve ser colocada em um depósito apropriado e fervida (por injeção direta de vapor) por, no mínimo, uma hora. Posteriormente, resfriada e decantada à temperatura ambiente. A salmoura, então, é bombeada, passando por um filtro, de volta ao seu depósito original. Devido à precipitação de lactatos de sódio e cálcio, cloreto de cálcio, sulfatos, carbonatos e floculação de proteínas solúveis, pode-se esperar um ligeiro abaixamento do pH. Esse deve ser imediatamente ajustado, juntamente com o teor de cálcio (Furtado, 1991; Fonseca, 1986).

3 O MECANISMO DE ABSORÇÃO DE SAL

A absorção de sal do queijo durante o processo de salga é simultânea à saída de água da massa, resultando em uma redução do volume do queijo (Luna & Chavez, 1992), ocorrendo um movimento de moléculas de cloreto de sódio da salmoura para o queijo como consequência da diferença de pressão osmótica entre a solução aquosa do interior do queijo e a salmoura (Guinee & Fox, 1987). A estrutura externa do queijo forma uma estrutura diferenciada que é a casca, que representa uma membrana semipermeável que permite a migração do sal para o interior do queijo por meio do fenômeno de difusão, ao mesmo tempo que permite a saída de parte da fase aquosa do queijo com seus elementos solúveis, principalmente ácido láctico, lactose e nitrogênio solúvel (Figura 2) (Furtado, 1991).

O processo de salga do queijo em salmoura envolve a transferência de calor e de massa e ambos os processos influenciam na qualidade final do produto. Geurts et al. (1974) concluíram que o processo de penetração do sal no queijo e a saída concomitante em sentido oposto da água podem ser descritos como um processo de difusão impedido, isto é, as moléculas de NaCl e de água movem-se em resposta a seus respectivos gradientes de concentração e essa movimentação é dificultada pela tortuosidade e fricção causados pelos glóbulos de gordura e micelas de caseína e também pela viscosidade da fase aquosa. Por este motivo, a taxa de difusão do NaCl no interior do queijo é menor do que em uma solução pura, sendo então denominada coeficiente de pseudo difusão. O coeficiente de pseudo difusão varia de 0,05 a 0,20 cm²/dia, dependendo da composição do queijo e das condições de salga, enquanto que o coeficiente de difusão do NaCl em água pura a 12,5°C é de 1,0 cm²/dia. Maiores coeficientes de pseudo difusão são encontrados em queijos com baixo teor de gordura e alto teor de umidade (Geurts et al., 1974). Para o queijo camembert o valor do coeficiente de pseudo difusão é de 0,20cm²/dia e para o gouda ou prato, por extensão, é de 0,18 a 0,25cm²/dia (Luquet, 1993; Furtado, 1991). Este coeficiente não é afetado pelo pH do queijo e pela concentração da salmoura (Geurts et al., 1974).

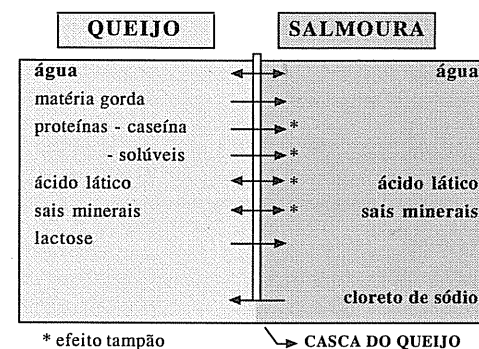


FIGURA 2 Trocas ocorridas no queijo e na salmoura durante a salga do queijo. Adaptado de Fonseca (1986)

O coeficiente de pseudo difusão permite calcular a concentração de sal em qualquer ponto do queijo em qualquer tempo de salga, desde que a concentração da salmoura seja conhecida. No entanto, o modelo proposto por Geurts et al. (1974) considera a difusão em apenas uma direção e, em um queijo comercial, no qual a difusão do sal ocorre em todas as direções, esse modelo matemático não pode ser aplicado (Guinee & Fox,

1983). O Método de Elementos Finitos (MEF), em modelo tridimensional, é empregado, com o auxílio de software, para estudos de transferência de massa e calor, e tem como base a lei de Difusão de Fick. De acordo com Silva et al. (1998), a aplicação do método numérico (MEF), na simulação da difusão do cloreto de sódio na salga de queijos, mostrou boa aproximação quando os resultados foram comparados com os valores experimentais encontrados por Guinee & Fox (1983) para o queijo tipo romano.

De acordo com Luquet (1993), paralelamente à absorção de sal, registra-se uma perda de água constatada por uma lenta diluição da salmoura, seu enriquecimento em compostos solúveis provenientes do queijo (lactose, minerais, nitrogênio solúvel) e também na diminuição da massa dos queijos depois de salgados (2% a 4% da massa inicial). Furtado (1991) relata que, além disso, ocorrem na salmoura: diminuição da densidade, estabilização da salmoura numa faixa de pH (efeito tamponante) e também o aumento da acidez titulável e da carga microbiana.

Tem-se demonstrado que existe uma relação relativamente constante de duas vezes e meia, entre a perda de água e a absorção de sal, que depende do pH do queijo, da duração do processo de salga e da concentração da salmoura (Luquet, 1993).

A ação do sal na salmoura inicia o processo de formação da casca no queijo, devido a maior desidratação da periferia. Mesmo após a retirada do queijo da salmoura, o sal continua migrando dentro da massa do queijo para o centro e o gradiente de umidade diminuindo em direção oposta ao sal. Durante o processo de maturação, os gradientes de sal e umidade desaparecem vagarosamente e o equilíbrio de sal/umidade no queijo é praticamente alcançado, dependendo do tamanho do mesmo e das condições de cura (Luquet, 1993; Guinee & Fox, 1987). Segundo Lee et al. (1980), em média, 10 dias são necessários para a distribuição uniforme de sal no queijo limburguer, 8 a 10 semanas para o gouda e o brick e 10 meses para o parmesão.

4 FATORES QUE INFLUENCIAM NA ABSORÇÃO DE SAL NO QUEIJO

Diversos fatores influenciam na absorção de sal no queijo, tais como: concentração de NaCl, teor de cálcio, temperatura e pH da salmoura; tempo de salga; tamanho, pH, teor de umidade e de gordura do queijo (Furtado, 1991 e Guinee & Fox, 1987).

4.1 Concentração da salmoura

Um aumento na concentração de salmoura resulta em um aumento na taxa de absorção de sal

e nos níveis de sal na umidade do queijo. Entretanto, esta relação não é linear: se a concentração da salmoura for duplicada, isto não significa que a absorção de sal será duas vezes mais rápida (Guinee & Fox, 1987). Quando a concentração da salmoura é muito alta, o queijo perde mais água e forma uma casca muito dura e sem flexibilidade. Se a concentração é muito baixa, as proteínas da casca peptizam-se e se dissolvem, formando uma casca amolecida e gelatinosa (Furtado, 1991).

4.2 Teor de cálcio na salmoura

Quando o queijo é imerso em salmoura ocorre o fenômeno de difusão do sal no queijo, com intercâmbio entre o cloreto de sódio da solução com o cálcio do queijo (coloidal). O queijo enriquece-se em sódio (paracaseinato de cálcio e sódio) e a salmoura em cálcio, sob a forma de cloreto de cálcio. A perda de sal leva à diminuição da densidade da salmoura, embora esta relação não seja linear, pois o ganho de cálcio a compensa ligeiramente. A salmoura enriquece-se com cálcio até um certo limite com o decorrer do tempo. Experimentos têm demonstrado que, após prolongado uso, salmouras de queijos semi-cozidos apresentaram um teor médio de 0,2% de cálcio. À medida que se aumenta o teor de cálcio da salmoura, o queijo tende a salgar-se mais lentamente e a perder, em termos relativos, mais massa (Furtado, 1991).

4.3 Tempo de salga

Segundo Furtado (1991) e Guinee & Fox (1987), a quantidade de sal absorvida é proporcional ao tempo de salga, mas a taxa de absorção de sal diminui com o tempo devido à diminuição da diferencial da concentração de cloreto de sódio no queijo e na salmoura. A maior parte do sal é absorvida nas primeiras horas na salmoura e a difusão do sal cessa quando este atingir seu ponto de saturação na água do queijo (33% de sal na umidade). Furtado & Souza (1981) estudaram a evolução da salga em salmoura do queijo prato de 2,0 kg, observando que 58% do sal foram adquiridos nas primeiras doze horas de imersão.

4.4 Temperatura da salmoura

A temperatura da salmoura deve estar entre 10°C a 12°C. À medida que a temperatura da salmoura é aumentada, a absorção de sal torna-se mais rápida, mas a perda relativa de água é maior (Breene et al., 1965). O aumento da temperatura da salmoura modifica o tamanho

dos poros da matriz protéica do queijo, facilitando a absorção de sal. No entanto, o queijo tende a encolher mais, perdendo maior quantidade de água, principalmente em sua periferia. Além da manutenção da temperatura (10°C a 12°C) permitir a difusão lenta do sal, controla também as fermentações no queijo. Nesta temperatura, a fermentação por coliformes (contaminação) diminui, mas permite a fermentação pelas bactérias lácticas. Salmouras mantidas a altas temperaturas (20°C, por exemplo) tendem a alterar-se rapidamente, provocando a exsudação da gordura do queijo para a periferia, formando uma camada viscosa e visualmente desagradável. Temperaturas inferiores a 7°C promovem uma salga muito lenta (Furtado, 1991; Guinee & Fox, 1987).

4.5 pH da salmoura

O pH da salmoura deve ser ajustado em torno do pH do queijo a ser salgado. Para a maioria dos queijos, o pH da salmoura deve estar entre 5,0 e 5,4, para o queijo prato, o pH deve situar-se entre 5,1-5,3 (Furtado, 1991). Quando o pH da salmoura é muito baixo, ele pode aproximar-se do ponto isoeletrico da caseína (pH 4,6), levando a uma precipitação de proteínas da casca. Consequentemente, ocorre um aumento da perda de água pelo queijo e uma diminuição da velocidade de absorção de sal (Guinee & Fox, 1987).

4.6 Tamanho do queijo

A taxa de absorção de sal é diretamente proporcional à razão área/volume do queijo. O formato também influencia na absorção de sal, sendo mais intensa quanto maior for a área superficial do queijo. Assim, queijos com as mesmas características, mas com formatos diferentes, absorvem sal em velocidades diferentes. Queijos de mesmo formato, mas de tamanhos diferentes, apresentam velocidades de absorção também diferentes. Esta é maior naqueles queijos menores (Furtado, 1991; Guinee & Fox, 1987; Fonseca, 1986).

4.7 pH do queijo

O abaixamento do pH devido ao aumento do teor de ácido láctico do queijo tende a solubilizar o cálcio presente, alterando a sua estrutura. Acredita-se que queijos mais ácidos salgam mais rápido. No entanto, por apresentarem corpo menos maleável do que queijos de pH mais alto, resistem à alteração de volume e perdem menos água no processo de salga (Furtado, 1991; Guinee & Fox, 1987).

4.8 Teor de umidade da massa do queijo

A quantidade de absorção do sal no queijo aumenta com o maior teor de umidade na massa. O efeito não se deve somente à umidade, mas também à influência desta na estrutura do queijo. Por exemplo, queijos de corpo duro e textura compacta salgam mais lentamente (Furtado, 1991; Guinee & Fox, 1987).

4.9 Teor de gordura do queijo

Queijos com maior teor de gordura no extrato seco absorvem sal mais devagar. Isto se deve a modificações estruturais provocadas pela gordura, como resistência à alteração no volume do queijo, diminuição da capacidade de difusão do sal e interferência na porosidade do queijo (Guinee & Fox, 1987).

5 ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS RELACIONADOS COM A SALMOURA

Vários fatores afetam o desenvolvimento microbiano, dentre eles pode-se citar a atividade de água, sendo essa a principal característica que faz da salmoura um ambiente desfavorável ao desenvolvimento microbiano. Entretanto os microrganismos possuem diferentes habilidades em resistir e até mesmo desenvolver em ambientes halófilos.

5.1 Atividade de água

A atividade de água pode ser definida como a razão entre a pressão de água do alimento e a pressão de vapor de água pura a uma determinada temperatura (Silva Jr., 1991). Em uma solução de cloreto de sódio, os valores da atividade de água (Aw) mantida a 25°C são apresentados na Tabela 1.

A Aw tem uma forte influência sobre os microrganismos, que necessitam de água para sua sobrevivência. As bactérias são mais sensíveis à diminuição da atividade de água, seguida pelas leveduras e finalmente os fungos (Luquet, 1993). De maneira geral, a inibição para o crescimento se dá nas seguintes faixas de Aw:

- bactérias: 0,85 (exceto halófilas);
- leveduras: 0,80 (exceto certas espécies de *Saccharomyces*); e
- mofo: 0,70.

A Tabela 2 apresenta a Aw limite para o crescimento de alguns microrganismos importantes em laticínios. Todos estes microrganismos influenciam na maturação de vários tipos de queijos, sendo, portanto, imprescindível o controle adequado de sal no queijo (Luquet, 1993).

Tabela 1 Valores da atividade de água (Aw) em soluções de cloreto de sódio (% m/m) mantidas a 25°C

Aw	NaCl (% m/m) - 25°C
0,992	0
0,975	5
0,947	10
0,916	15
0,880	20

Fonte: Silva Jr. (2001)

Tabela 2 Aw limite para o crescimento de alguns microrganismos importantes em laticínios

Microrganismo	Aw mínimo
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	0,965
<i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>	0,984
<i>Lactobacillus helveticus</i>	0,962
<i>Propionibacterium shermanii</i>	0,950
<i>Micrococcus lactis</i>	0,947-0,975
<i>Penicillium camemberti</i>	0,860
<i>Mucor</i> sp.	0,920

Fonte: Luquet (1993)

A Aw do queijo é influenciada basicamente por três elementos: o teor de umidade, que a influencia proporcionalmente; o teor de sal no queijo, que influencia inversamente e a profundidade da proteólise, expressa pela relação percentual nitrogênio solúvel em ácido tricloroacético a 12% (m/v)/ nitrogênio total ($NS_{TCA12\%}/NT$). A fração $NS_{TCA12\%}$ é definida como os peptídeos de média e baixa massa molecular, solúveis em ácido tricloroacético a 12% (m/v) proveniente de extratos aquosos dos queijos (Silva, 1995). Essa fração é constituída em grande parte por aminoácidos com grupos polares e ionizáveis que interagem com a água, abaixando a Aw (Furtado, 1991).

5.2 Contaminação do queijo causada pela salmoura

O queijo pode ser contaminado em várias etapas da fabricação, dentre elas, na salga em salmoura, que é um ponto crítico importante. A concentração normal de NaCl da salmoura não reduz a atividade de água para valores que inibem completamente o desenvolvimento microbiano. Além disso, seu enriquecimento com vários elementos como, ácido láctico, nitrogênio e sais minerais, provenientes do NaCl, da água e do

próprio queijo, proporciona condições favoráveis à sobrevivência e multiplicação de diversos tipos de microrganismos deteriorantes e de patógenos (Casalis et al., 1969, La Crampe et al. 1971).

Com relação à qualidade das salmouras utilizadas na indústria de alimentos, o artigo 783 do RIISPOA determina a "proibição do uso de salmouras turvas, sujas, alcalinas, com cheiro amoniacal, fermentadas ou inadequadas por qualquer outra razão" (Brasil, 1997a). No entanto, não há menção de padrões microbiológicos que poderiam ser tolerados.

Os microrganismos aeróbios mesófilos são, em sua maioria, patogênicos. O elevado número dessas bactérias nos alimentos indica a existência de bactérias patogênicas no meio (Carvalho, 1999). Na contagem deste grupo incluem os microrganismos, que crescem em aerobiose e em temperaturas de incubação entre 15°C e 40°C, a uma temperatura média de 35°C (Silva Jr., 2001). Por meio da enumeração dos microrganismos mesófilos aeróbios pode-se determinar a qualidade bacteriológica do alimento examinado, funcionando com um indicador da qualidade do mesmo (Carvalho, 1999).

Cantoni et al. (1967), estudando a flora microbiana de salmouras, verificaram contagens de bactérias aeróbias mesófilas ou facultativas de 10^7 UFC/mL, ocorrendo aumento gradativo destes microrganismos durante a utilização da salmoura na salga de queijos. Este crescimento também foi constatado por Mansour & Alais (1973), que observaram uma elevação de 10^5 para 10^7 UFC/mL no número de microrganismos aeróbios mesófilos. Garcia et al. (2000a) encontraram valores de aeróbios mesófilos de 10^3 a 10^4 UFC/mL em salmouras para queijo prato com aproximadamente um ano de uso.

A contagem total de microrganismos aeróbios psicrotróficos também pode ser utilizada como subsídio para definição da qualidade microbiológica de alimentos (Reinbold, 1983). Isto se fundamenta no fato de que um grande número de espécies destes microrganismos pode estar envolvido com a ocorrência de toxinfecções alimentares humanas ou com a deterioração e perda da qualidade sensorial dos alimentos (Santos et al., 1999). Eles são definidos como aqueles capazes de crescer à temperatura de refrigeração, independentemente de sua temperatura ótima de crescimento (Banwart, 1989). Assumpção (2001) verificou contagem média de microrganismos psicrotróficos de $1,3 \times 10^5$ UFC/mL em salmouras de queijo prato.

Os bolores e leveduras causam deterioração em alimentos, levando à perda da qualidade do mesmo. Além disso, os bolores produzem micotoxinas que são prejudiciais à saúde humana (Banwart, 1989). Podem se desenvolver em alimentos com alto teor de NaCl com atividade

de água de até 0,60 (Silva Jr., 2001). Cantoni et al. (1967) verificaram contagens de bolores e leveduras de 10^4 UFC/mL em salmouras, ocorrendo aumento gradativo desses microrganismos durante a utilização da mesma na salga de queijos. Garcia et al. (2000a) encontraram variação de 1,0 a $7,7 \times 10^4$ UFC/mL em salmouras de queijo prato com um ano de uso.

O *Staphylococcus aureus* e o coagulase positiva têm sido utilizados como microrganismos indicadores de possível risco à saúde devido à produção de enterotoxina estafilocócica pelo último (Carvalho, 1999). O *S. aureus* apresenta-se em forma de cocos gram-positivos. São catalase positivos e anaeróbios facultativos. A faixa de temperatura para crescimento varia de 7°C a 48°C, sendo 37°C a temperatura ótima e, para a produção de toxina, varia de 10°C a 48°C, sendo 40°C a 45°C a faixa ótima (ICMSF, 1998). Segundo Parfentjef & Catelli (1964), o *S. aureus* possui a capacidade de sobreviver em concentrações de 15% a 20% (m/v) de NaCl e também pode produzir enterotoxina em meios com elevado teor de NaCl, entre 19% e 22% (m/v). No entanto, Garcia et al. (2000a) não verificaram a presença de *S. aureus* coagulase positiva em salmouras de queijo prato.

6 DEFEITOS EM QUEIJOS RELACIONADOS COM A SALGA

Segundo Furtado (1991), muitos são os defeitos em queijos relacionados com a salga em salmoura. Dentre eles, citam-se:

- as salmouras mantidas a altas temperaturas (20°C, por exemplo) tendem a alterar-se rapidamente e provocam a exsudação de gordura do queijo para a periferia, formando uma camada viscosa e de aspecto desagradável;
- nas salmouras com baixa concentração de sal, as proteínas da casca são hidrolisadas a peptídeos e se dissolvem, formando uma casca amolecida e gelatinosa;
- nas salmouras com concentração muito alta de sal, o queijo perde mais água e forma uma casca muito dura e sem flexibilidade;
- queijos salgados em salmoura nova apresentam amolecimento ou a formação de uma ligeira camada escorregadia e pegajosa na casca do queijo, sendo uma das causas o baixo teor de cálcio;
- salmouras contaminadas com bactérias corineformes e de pH ligeiramente alto, cuja fermentação láctica do queijo foi insuficiente

ou interrompida pelo abaixamento brusco da temperatura apresentam queijos com casca escorregadia e pegajosa;

- o sal, com presença de nitratos e magnésio, utilizado em salmoura, provoca manchas na casca do queijo;
- nas salmouras com acidez titulável alta, os queijos apresentam maior acidez superficial após a salga, o que facilita o crescimento de fungos durante a maturação;
- salmouras muito ácidas facilitam o crescimento de leveduras, que contaminam a casca do queijo. Pode ocorrer a formação de gás, quando os queijos são embalados em plástico impermeável (fermentação da lactose residual na casca), além da formação de acetato de etila (odor de frutas);
- em queijos de massa cozida ocorre a formação de uma borda branca na casca do queijo, que se torna seca e friável. O defeito está relacionado com a fermentação insuficiente durante a elaboração e é acentuado por fatores que levam a uma desidratação excessiva da casca do queijo, como concentração de sal excessiva na salmoura, queijos com teor de umidade excessivamente baixo e temperatura de salga muito alta (acima de 14°C);
- a concentração de sal no queijo influencia na atividade do coelho durante a maturação, sendo que em queijos com baixa concentração de sal, a atividade do coelho é estimulada, provocando gosto amargo;
- o aumento de compostos nitrogenados na salmoura causa uma rápida elevação da população microbiana, com conseqüências indesejáveis para a adequada manutenção da salmoura. Ocorre o crescimento de fungos (*Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*), leveduras (*Saccharomyces* e *Torula*) e bactérias (coliformes, *Micrococcus*). Alguns queijos podem ser contaminados por fungos (*Penicillium*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Monilia*, *Geotrichum*) que causam uma série de problemas: proteólise da casca em queijos semiduros, aparecimentos de manchas de cores variadas, modificação do sabor na região periférica e rejeição do consumidor;
- bactérias do grupo micrococcus (*Micrococcus caseolyticus*, *Micrococcus freudenreichii* e

Micrococcus conglomeratus) encontradas em salmouras são halofílicas e de alto poder proteolítico, causando gosto amargo em queijos; e

- a bactéria *Brevibacterium linens* é constantemente encontrada em salmoura, é aeróbia, halofílica e com alto poder proteolítico. Este microrganismo é encontrado em camembert maturado ou na casca do queijo gruyère. Neste confere uma coloração rosada à casca e ocasiona sabor acentuado nas regiões periféricas, tornando-as melosas, devido à sua ação caseolítica.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSUMPÇÃO, E.G. Identificação dos pontos de contaminação microbiológica ao longo do processamento de queijo Prato: estudo de caso. 2001. 77 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

BANWART, G.J. *Basic food microbiology*. 2.ed. New York: Avi, 1989. 773p.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Divisão de Inspeção de produtos de Origem Animal. Decreto n. 30.691 de 29 de março de 1952, alterado pelo Decreto n. 1255 de 25 de junho de 1962, Brasília, 166p. Regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, 1997a.

BRENE, W.N.; OLSON, N.F.; PRICE, W.V. Salt absorption by cheddar cheese curd. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 48, n. 5, p. 621-624, May 1965.

CANTONI, C. et al. Ricerche sulla microbiologie e la composizione chimica delle salamoie di coppe. *Arch. Vet. Ital.*, v. 18, n. 1-2, p. 61-78, jan./fev. 1967.

CARVALHO, E. P. *Microbiologia de alimentos*. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999. 76p. (Curso de Especialização Pós-Graduação "Lato Sensu" Ensino à Distância: Processamento e Controle de Qualidade em Carne, Leite, Ovos e Pescado).

CASALIS, J.; LUQUET, F. M.; ROSSIER, F. Sur le traitement des saumures de fromagerie par les rayons ultraviolets. *Le lait*, Paris, n. 483-484, p. 134-145, mars/avril, 1969.

FONSECA, C.F. *Processos de salga e sua interação nos queijos*. Juiz de Fora: EPAMIG/ILCT, 1986. 23p. Apostila.

FURTADO, M.M. Defeitos relativos do processo de salga. In: _____. *A arte e a ciência do queijo*. São Paulo: Globo, 1991. Cap. 6, p. 149-191.

FURTADO, M.M.; SOUZA, H.M. de. Estudo rápido sobre a evolução da salga do queijo prato em salmoura. *Revista do ILCT*, Juiz de Fora, v. 36, n. 213, p. 5-10, jan./fev. 1981.

GARCIA, C.A. et al. Influência da ozonização sobre as bactérias mesófilas, bolores e leveduras e *Staphylococcus coagulase* positivo de salmouras para queijos. *Revista do ILCT*, Juiz de Fora, v. 54, n. 317, p. 17-24, nov./dez. 2000a.

GARCIA, C. A. et al. Índices de acidez, cloro residual total e cloreto de sódio em salmouras utilizadas em laticínios. *Revista do ILCT*, Juiz de Fora, v. 54, n. 317, p. 10-12, nov./dez. 2000b.

GEURTS, T.J.; WALSTRA, P.; MULDER, H. Transport of salt and water during salting of cheese. 1. Analysis of the processes involved. *Netherlands Milk Dairy Journal*, n. 28, p. 102-129, 1974.

GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. et al. Development of salt profiles on Manchego type cheese during brining. Influence of vacuum pressure. *Journal of Food Engineering*, London, v. 53, n. 1, p. 67-73, June 2002.

GUINEE, T.P.; FOX, P.F. Salt in cheese: physical, chemical and biological aspects. In: FOX, P.F. *Cheese: chemistry, physics and microbiology*. London: Elsevier, 1987. v. 1, p. 251-297.

GUINEE, T.P.; FOX, P.F. Sodium chloride and moisture changes in romano-type cheese during salting. *Journal of Dairy Research*, Cambridge, v. 50, n. 4, p. 511-518, Nov. 1983.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. *Microrganismos de los alimentos*: características de los patógenos microbianos. Tradução: Manuel Ramis Vergés. Zaragoza: Acribia, 1998. 606p.

LA CRAMPE, J.L. et al. Contribution à l'étude de l'évolution chimique et du traitement des saumures de fromagerie. *Le lait*, Paris, n. 503-504, p. 158-175, mars/avril 1971.

de água de até 0,60 (Silva Jr., 2001). Cantoni et al. (1967) verificaram contagens de bolores e leveduras de 10^4 UFC/mL em salmouras, ocorrendo aumento gradativo desses microrganismos durante a utilização da mesma na salga de queijos. Garcia et al. (2000a) encontraram variação de 1,0 a $7,7 \times 10^4$ UFC/mL em salmouras de queijo prato com um ano de uso.

O *Staphylococcus aureus* e o coagulase positiva têm sido utilizados como microrganismos indicadores de possível risco à saúde devido à produção de enterotoxina estafilocócica pelo último (Carvalho, 1999). O *S. aureus* apresenta-se em forma de cocos gram-positivos. São catalase positivos e anaeróbios facultativos. A faixa de temperatura para crescimento varia de 7°C a 48°C, sendo 37°C a temperatura ótima e, para a produção de toxina, varia de 10°C a 48°C, sendo 40°C a 45°C a faixa ótima (ICMSF, 1998). Segundo Parfentjef & Catelli (1964), o *S. aureus* possui a capacidade de sobreviver em concentrações de 15% a 20% (m/v) de NaCl e também pode produzir enterotoxina em meios com elevado teor de NaCl, entre 19% e 22% (m/v). No entanto, Garcia et al. (2000a) não verificaram a presença de *S. aureus* coagulase positiva em salmouras de queijo prato.

6 DEFEITOS EM QUEIJOS RELACIONADOS COM A SALGA

Segundo Furtado (1991), muitos são os defeitos em queijos relacionados com a salga em salmoura. Dentre eles, citam-se:

- as salmouras mantidas a altas temperaturas (20°C, por exemplo) tendem a alterar-se rapidamente e provocam a exsudação de gordura do queijo para a periferia, formando uma camada viscosa e de aspecto desagradável;
- nas salmouras com baixa concentração de sal, as proteínas da casca são hidrolisadas a peptídeos e se dissolvem, formando uma casca amolecida e gelatinosa;
- nas salmouras com concentração muito alta de sal, o queijo perde mais água e forma uma casca muito dura e sem flexibilidade;
- queijos salgados em salmoura nova apresentam amolecimento ou a formação de uma ligeira camada escorregadia e pegajosa na casca do queijo, sendo uma das causas o baixo teor de cálcio;
- salmouras contaminadas com bactérias corineformes e de pH ligeiramente alto, cuja fermentação láctica do queijo foi insuficiente

ou interrompida pelo abaixamento brusco da temperatura apresentam queijos com casca escorregadia e pegajosa;

- o sal, com presença de nitratos e magnésio, utilizado em salmoura, provoca manchas na casca do queijo;
- nas salmouras com acidez titulável alta, os queijos apresentam maior acidez superficial após a salga, o que facilita o crescimento de fungos durante a maturação;
- salmouras muito ácidas facilitam o crescimento de leveduras, que contaminam a casca do queijo. Pode ocorrer a formação de gás, quando os queijos são embalados em plástico impermeável (fermentação da lactose residual na casca), além da formação de acetato de etila (odor de frutas);
- em queijos de massa cozida ocorre a formação de uma borda branca na casca do queijo, que se torna seca e friável. O defeito está relacionado com a fermentação insuficiente durante a elaboração e é acentuado por fatores que levam a uma desidratação excessiva da casca do queijo, como concentração de sal excessiva na salmoura, queijos com teor de umidade excessivamente baixo e temperatura de salga muito alta (acima de 14°C);
- a concentração de sal no queijo influencia na atividade do coelho durante a maturação, sendo que em queijos com baixa concentração de sal, a atividade do coelho é estimulada, provocando gosto amargo;
- o aumento de compostos nitrogenados na salmoura causa uma rápida elevação da população microbiana, com consequências indesejáveis para a adequada manutenção da salmoura. Ocorre o crescimento de fungos (*Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*), leveduras (*Saccharomyces* e *Torula*) e bactérias (coliformes, *Micrococcus*). Alguns queijos podem ser contaminados por fungos (*Penicillium*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Monilia*, *Geotrichum*) que causam uma série de problemas: proteólise da casca em queijos semiduros, aparecimentos de manchas de cores variadas, modificação do sabor na região periférica e rejeição do consumidor;
- bactérias do grupo *micrococcus* (*Micrococcus caseolyticus*, *Micrococcus freudenreichii* e

Micrococcus conglomeratus) encontradas em salmouras são halofílicas e de alto poder proteolítico, causando gosto amargo em queijos; e

- a bactéria *Brevibacterium linens* é constantemente encontrada em salmoura, é aeróbia, halofílica e com alto poder proteolítico. Este microrganismo é encontrado em camembert maturado ou na casca do queijo gruyère. Neste confere uma coloração rosada à casca e ocasiona sabor acentuado nas regiões periféricas, tornando-as melosas, devido à sua ação caseolítica.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSUMPCÃO, E.G. **Identificação dos pontos de contaminação microbiológica ao longo do processamento de queijo Prato: estudo de caso.** 2001. 77 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

BANWART, G.J. **Basic food microbiology.** 2.ed. New York: Avi, 1989. 773p.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Divisão de Inspeção de produtos de Origem Animal. Decreto n. 30.691 de 29 de março de 1952, alterado pelo Decreto n. 1255 de 25 de junho de 1962, Brasília, 166p. Regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 1997a.

BRENE, W.N.; OLSON, N.F.; PRICE, W.V. Salt absorption by cheddar cheese curd. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 48, n. 5, p. 621-624, May 1965.

CANTONI, C. et al. Ricerche sulla microbiologie e la composizione chimica delle salamoie di coppe. **Arch. Vet. Ital.**, v. 18, n. 1-2, p. 61-78, jan./feb. 1967.

CARVALHO, E. P. **Microbiologia de alimentos.** Lavras: UFLA/FAEPE, 1999. 76p. (Curso de Especialização Pós-Graduação "Lato Sensu" Ensino à Distância: Processamento e Controle de Qualidade em Carne, Leite, Ovos e Pescado).

CASALIS, J.; LUQUET, F. M.; ROSSIER, F. Sur le traitement des saumures de fromagerie par les rayons ultraviolets. **Le lait**, Paris, n. 483-484, p. 134-145, mars/avrill, 1969.

FONSECA, C.F. **Processos de salga e sua interação nos queijos.** Juiz de Fora: EPAMIG/ILCT, 1986. 23p. Apostila.

FURTADO, M.M. Defeitos relativos do processo de salga. In: _____. **A arte e a ciência do queijo.** São Paulo: Globo, 1991. Cap. 6, p. 149-191.

FURTADO, M.M.; SOUZA, H.M. de. Estudo rápido sobre a evolução da salga do queijo prato em salmoura. **Revista do ILCT**, Juiz de Fora, v. 36, n. 213, p. 5-10, jan./fev 1981.

GARCIA, C.A. et al. Influência da ozonização sobre as bactérias mesófilas, bolores e leveduras e *Staphylococcus coagulase* positivo de salmouras para queijos. **Revista do ILCT**, Juiz de Fora, v. 54, n. 317, p. 17-24, nov./dez. 2000a.

GARCIA, C. A. et al. Índices de acidez, cloro residual total e cloreto de sódio em salmouras utilizadas em laticínios. **Revista do ILCT**, Juiz de Fora, v. 54, n. 317, p. 10-12, nov./dez. 2000b.

GEURTS, T.J.; WALSTRA, P.; MULDER, H. Transport of salt and water during salting of cheese. 1. Analysis of the processes involved. **Netherlands Milk Dairy Journal**, n. 28, p. 102-129, 1974.

GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. et al. Development of salt profiles on Manchego type cheese during brining. Influence of vacuum pressure. **Journal of Food Engineering**, London, v. 53, n. 1, p. 67-73, June 2002

GUINEE, T.P.; FOX, P.F. Salt in cheese: physical, chemical and biological aspects. In: FOX, P.F. **Cheese: chemistry, physics and microbiology.** London: Elsevier, 1987. v. 1, p. 251-297.

GUINEE, T.P.; FOX, P.F. Sodium chloride and moisture changes in romano-type cheese during salting. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 50, n. 4, p. 511-518, Nov. 1983.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microrganismos de los alimentos:** características de los patógenos microbianos. Tradução: Manuel Ramis Vergés. Zaragoza: Acribia, 1998. 606p.

LA CRAMPE, J.L. et al. Contribution à l'étude de l'évolution chimique et du traitement des saumures de fromagerie. **Le lait**, Paris, n. 503-504, p. 158-175, mars/avrill 1971

LEE, H. J.; OLSON, N.F.; LUND, D.B. Diffusion of salt, fatty acids, and esterases in mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 63, n. 4, p. 513-522, Apr. 1980.

LUNA, J.A.; CHAVEZ, M.S. Mathematical model for water diffusion during brining of hard and semi-hard cheese. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 57, n. 1, p. 55-58, Jan. 1992.

LUQUET, F.M. **Leche y productos lacteos.** 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1993. v. 2, 524p.

MANSOUR, A.; ALAIS, C. Etude di salage te de Taffinage du fromage em saumure. III- Aspect bacteriologique. **Le lait**, Paris, n. 523-524, p. 137-145, mars/avrill 1973.

MORRIS, H.A.; GUINNE, T.P.; FOX, P.F. Salt diffusion in cheddar cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 68, n. 8, p. 1851-1858, Aug. 1985.

PARFENTJEV, I.A.; CATELLI, A.R. Tolerance of *Staphylococcus aureus* to sodium chloride. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 88, n. 1-3, 1964.

PAYNE, M. R.; MORISON, K. R. A multi-component approach to salt and water diffusion in cheese. **International Dairy Journal**,

Huntingdon, v. 9, n. 12, p. 887-894, Dec. 1999.

PAVIA, M. et al. Free fatty acid content of Manchego-type cheese salted by brine vacuum impregnation. **International Dairy Journal**, Huntingdon, v. 10, n. 8, p. 563-568, Aug. 2000.

REINBOLD, G.W. Indicator organisms in dairy products. **Food Technology**, Chicago, v. 37, n. 6, p. 111-113, June 1983.

SANTOS, E.S.; CARVALHO, E.P.; ABREU, L.R. Psicrotróficos: conseqüências de sua presença em leites e queijos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 33, n. 2, p. 129-138, jul./dez. 1999.

SCOTT, R. **Fabricación de queso.** Zaragoza: Acribia, 1991. 520p.

SILVA, R.S.F.; BORSATO, D.; SILVA, L.H.M. Difusão do cloreto de sódio no processo de salga de queijos: modelagem matemática com o emprego de elementos finitos. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 87-92, jan./abr. 1998.

SILVA JR., E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos.** 4.ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 477p.

USO DO BORBULHAMENTO DO GÁS OZÔNIO NA REDUÇÃO DE *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* INOCULADAS EM LEITE CRU

Daise Aparecida Rossi¹
 Talita Thomaz Nader²
 Jupyracyara J. de Carvalho Barros³
 César Augusto Garcia¹
 Fabiana Almeida Miranda³

RESUMO

Bactérias psicotróficas comprometem a qualidade e o rendimento do leite na fabricação de queijos, principalmente quando em números iguais ou maiores que 10^6 UFC/mL⁻¹. Foram analisados os efeitos do borbulhamento do gás ozônio por 5, 10 e 15 minutos, correspondendo a $1,19 \times 10^{-3}$ g, $2,39 \times 10^{-3}$ g e $3,58 \times 10^{-3}$ g de ozônio, respectivamente, na redução de *Pseudomonas fluorescens* inoculada em leite bovino cru ($10^6 - 10^8$ UFC/mL⁻¹). Após os tratamentos as amostras foram mantidas sob refrigeração por 48 e 72 horas e realizadas análises microbiológicas. Também foram realizados testes de pH, acidez Dornic e alizarol no leite antes e após a ozonização. Foram realizadas 8 repetições, totalizando 56 parcelas. Os resultados obtidos demonstraram que não houve alterações significativas ($p > 0,05$) nos valores do pH, acidez Dornic e alizarol após a ozonização por 5, 10 e 15 minutos. Foi verificada redução não significativa ($p > 0,05$) no número de *Pseudomonas fluorescens* nas amostras ozonizadas, quando comparado ao grupo controle. A contagem média do grupo controle foi de $4,5 \times 10^8$ UFC/mL⁻¹ e nas refrigeradas por 48 horas, $1,6 \times 10^8$ UFC/mL⁻¹, $8,5 \times 10^7$ UFC/mL⁻¹ e $4,6 \times 10^7$ UFC/mL⁻¹ para as amostras ozonizadas por 5, 10 e 15 minutos, respectivamente. Após refrigeração por 72 horas, as contagens foram $2,0 \times 10^8$ UFC/mL⁻¹, $3,5 \times 10^8$ UFC/mL⁻¹ e $1,3 \times 10^8$ UFC/mL⁻¹, para as amostras ozonizadas por 5, 10 e 15 minutos. Vários fatores podem ter contribuído para a redução não significativa da bactéria inoculada, dentre eles, o meio rico em matéria orgânica, a resistência a agentes antimicrobianos do gênero *Pseudomonas* e a quantidade de ozônio aplicada.

Palavras-chave: *Pseudomonas fluorescens*, leite cru, ozônio.

1. INTRODUÇÃO

A partir do ano de 2002 todo o leite recebido pelas indústrias de laticínios na região sudeste deve ser granelizado. Esta é a primeira medida de uma série de ações empreendidas pelo Ministério da Agricultura visando melhorar a qualidade microbiológica do leite e, consequentemente, resguardar a saúde do consumidor e a competitividade do leite e seus derivados no mercado internacional (DIAS, 2001).

O resfriamento do leite imediatamente após a ordenha é o fator individual mais importante na manutenção da qualidade microbiológica do leite. Apesar do resfriamento imediato do leite e sua manutenção em baixa temperatura refletir num menor número total de bactérias, há nessa condição, uma seleção na microbiota predominante, que passa a ser de espécies psicotróficas. No leite, o gênero *Pseudomonas* representa até 50% de todos os psicotróficos isolados (CHAMPAGNE et al,

1994), e possui grande importância pois essa espécie apresenta resistência a antibióticos e desinfetantes devido às características de sua membrana celular (TORTORA, 2002).

O leite recém-ordenhado possui uma contagem inicial de psicotróficos insignificante, de no máximo 10% da carga total (FARBAIN e LAW, 1986), que aumenta de acordo com as condições de higiene, armazenamento e transporte (MOURA et al., 1999). Os problemas que as enzimas psicotróficas causam ao leite dependem de sua concentração e, portanto, do número inicial e multiplicação das bactérias presentes. Segundo CHAMPAGNE et al. (1994) a espécie *Pseudomonas fluorescens* é a que ocorre com maior frequência e abundância no leite e, quando seu número ultrapassa 10^6 UFC/mL⁻¹, número facilmente alcançado quando as condições de produção do leite são inadequadas, causam grandes prejuízos econômicos e na qualidade do leite e derivados.

As psicotróficas são eliminadas durante o processo de pasteurização, porém, produzem enzimas extracelulares termorresistentes. As enzimas produzidas são lipases, que atuam sobre a gordura causando uma lipólise excessiva e descontrolada e proteases, que hidrolisam as proteínas e podem alterar o sabor e o rendimento industrial do leite (CELESTINO et al., 1996). Entre os problemas tecnológicos resultantes do alto número de bactérias psicotróficas e suas enzimas em leite e derivados destacam-se a diminuição do rendimento (STOFER et al., 1983; MOURA et al., 1999), sabor amargo em queijos, rancificação (FURTADO, 1991) e geleificação de leite longa vida (FARBAIN e LAW, 1986).

Para eliminação das bactérias psicotróficas e de suas enzimas tem sido recomendado como procedimento ideal uma termalização do leite nas indústrias, antes de haver o processamento do leite (HICKS et al., 1977; ANDERSON et al., 1979; GRIFFITHS, 1981). Porém, esse tratamento térmico é oneroso e dificulta o fluxograma de fabricação normal nos laticínios, sendo geralmente, não utilizado.

Atualmente o ozônio tem sido utilizado com sucesso na redução da microbiota do leite, água e equipamentos. GARCIA et al. (1999) avaliaram a influência do ozônio sobre a microbiota do leite bovino *in natura* e verificaram que o ozônio apresentou ação bactericida, sem alteração do pH do leite. O mesmo autor testou a eficiência do ozônio na redução de bactérias mesófilas em efluentes de matadouros - frigoríficos e obteve uma redução significativa do número de bactérias (GARCIA et al., 2001). A utilização do ozônio é barata e não deixa resíduos, pois o único subproduto da reação oxidativa é o oxigênio puro, que possui vida útil relativamente curta (20 minutos) prevenindo qualquer excesso de concentração.

Considerando os problemas tecnológicos que a multiplicação de bactérias psicotróficas presentes no leite resfriado acarretam para a indústria laticinista e a importância de seu controle, esse trabalho possui como objetivo avaliar a ozonização como tratamento para reduzir o número de *Pseudomonas fluorescens* artificialmente inoculada em leite estocado sob refrigeração por 48 e 72 horas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O leite utilizado no experimento foi obtido de vacas leiteiras saudáveis da Fazenda Experimental do Glória da Universidade Federal de Uberlândia, coletado através de ordenha manual. No momento da coleta, os tetos foram limpos, por meio de lavagem manual seguida de

secagem com papel toalha descartável e lavagem da mão do ordenhador. Após serem desprezados os primeiros jatos, o leite foi coletado em frasco estéril e imediatamente transportado ao Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada, em caixa isotérmica contendo gelo.

No laboratório, 800mL do leite recém ordenhado e resfriado a 10°C foi artificialmente contaminado com 10^6 UFC/mL⁻¹ a 10^8 UFC/mL⁻¹ de *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525. Após homogeneização, a amostra foi subdivida em frascos estéreis de 200 mL, que foram submetidos a 6 tratamentos e grupo controle, como descrito a seguir:

1. ozonização, através de borbulhamento direto do gás, por 5 minutos, refrigeração a 5°C por 48 horas;
2. ozonização, através de borbulhamento direto do gás, por 5 minutos, refrigeração a 5°C por 72 horas;
3. ozonização, através de borbulhamento direto do gás, por 10 minutos; refrigeração a 5°C por 48 horas;
4. ozonização, através de borbulhamento direto do gás, por 10 minutos; refrigeração a 5°C por 72 horas;
5. ozonização, através de borbulhamento direto do gás, por 15 minutos, refrigeração a 5°C por 48 horas;
6. ozonização, através de borbulhamento direto do gás, por 15 minutos, refrigeração a 5°C por 72 horas;
7. grupo controle, imediatamente analisado após inoculação.

Para padronizar o inóculo em 10^6 UFC/mL⁻¹ a 10^8 UFC/mL⁻¹ de *Pseudomonas fluorescens* no leite, foi utilizada uma equação de regressão obtida da relação entre o log da contagem de bactérias em UFC/ mL⁻¹ e a leitura da densidade óptica em espectrofotômetro a 620 nanômetros (DO_{620nm}), conforme metodologia proposta por GOBETTI, ROSSI (1992). Desta forma, *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525 foi inoculada (1% v/v) em 100 mL de caldo infusão de cérebro e coração (BHI) e incubada a 30°C. Em intervalos de tempo, foram retiradas assepticamente, alíquotas do caldo incubado, onde foram realizadas a contagem em placas, utilizando o meio Plate Count Agar (PCA) e semeadura em superfície (MOURA et al., 1999). Em paralelo fez-se a leitura de absorbância em espectrofotômetro. O log das contagens de UFC em cada intervalo de tempo e as leituras da densidade óptica foram utilizados para calcular com auxílio do programa MicroCal ORIGEM 3.0, a equação e o gráfico de regressão.

Nas amostras, antes e após a ozonização, foram realizadas análises de estabilidade ao alizarol

¹ Prof. Dr. Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Uberlândia

² Médica Veterinária

³ Biólogas

72°GL, acidez Dornic e pH (BRASIL, 1981). A contagem de *P. fluorescens* foi realizada em todas as amostras controle e após tratamentos.

A contagem de *P. fluorescens* foi realizada em ágar padrão para contagem (PCA), utilizando a técnica de semeadura em superfície e as placas incubadas a 30°C por 48 horas. Após contagem, os resultados foram multiplicados pela recíproca da diluição utilizada e expressos como UFC/mL de *P. fluorescens*.

Para os tratamentos das amostras foi utilizado um ozonizador do tipo Corona, acoplado a um cilindro de oxigênio comprimido. A velocidade de fluxo da mistura ozônio/oxigênio foi de 1L/minuto. Para a determinação da quantidade de ozônio aplicado em cada amostra foram adotados os dados experimentais obtidos na calibração do ozonizador do tipo Corona, realizada pelo Departamento de Química da Universidade Federal de Uberlândia. Utilizando a relação de massa de ozônio produzida em função do tempo de borbulho do gás estabeleceu-se uma equação de trabalho: $m(O_3) / \text{gramas} = 3,98 \times 10^{-6} \cdot t_{\text{borbulho (seg.)}}$. Desta forma, foi determinado que a quantidade de ozônio borbulhada na amostra nos diferentes tempos de ozonização de 5, 10 e 15 minutos foi de $1,19 \times 10^{-3}g$; $2,39 \times 10^{-3}g$ e $3,58 \times 10^{-3}g$, respectivamente.

O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados (DBC). Foram realizadas 8 repetições totalizando 64 parcelas. Após tabulação dos resultados, foi realizada uma análise de variância e para comparar diferenças entre os tratamentos utilizados e o grupo controle foi utilizado o teste F de Snedcor (SAMPAIO, 1998).

Tabela 1. Contagens de *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525 (UFC/mL) artificialmente inoculadas em leite bovino, antes e após borbulhamento do gás ozônio por 5, 10 e 15 minutos e mantidas a 5°C por 48 e 72 horas.

Amostra	Refrigeração (horas)						
	Controle ¹	48 horas			72 horas		
		Ozonização (minutos)			Ozonização (minutos)		
		5 *	10 **	15 ***	5	10	15
1	$1,0 \times 10^7$	$1,9 \times 10^7$	$7,8 \times 10^6$	$1,6 \times 10^7$	$2,1 \times 10^7$	$2,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^6$
2	$7,7 \times 10^6$	$3,5 \times 10^7$	$2,1 \times 10^7$	$7,3 \times 10^6$	$2,3 \times 10^7$	$3,3 \times 10^7$	$1,6 \times 10^6$
3	$4,1 \times 10^6$	-	$3,9 \times 10^6$	$5,7 \times 10^6$	$5,6 \times 10^5$	$8,7 \times 10^5$	$2,0 \times 10^6$
4	$5,0 \times 10^7$	$6,1 \times 10^5$	$4,0 \times 10^4$	$1,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^6$	$3,2 \times 10^6$	$9,7 \times 10^5$
5	$8,3 \times 10^7$	$1,2 \times 10^6$	$4,2 \times 10^6$	$6,0 \times 10^5$	-	-	-
6	$2,1 \times 10^7$	$3,8 \times 10^6$	$1,8 \times 10^7$	$1,3 \times 10^6$	$9,3 \times 10^6$	$6,2 \times 10^7$	$1,9 \times 10^6$
7	$8,7 \times 10^7$	$2,8 \times 10^7$	$4,5 \times 10^6$	-	$7,8 \times 10^7$	-	$7,6 \times 10^7$
8	$1,0 \times 10^8$	$1,6 \times 10^6$	-	$2,0 \times 10^5$	$1,5 \times 10^6$	$1,1 \times 10^8$	$9,0 \times 10^6$
Médias ²	$4,5 \times 10^8$	$1,2 \times 10^8$	$8,5 \times 10^7$	$4,6 \times 10^7$	$2,0 \times 10^8$	$3,5 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$

¹ amostra inoculada com 10^6 a 10^8 UFC/mL *Pseudomonas fluorescens* e imediatamente analisada.

² (p>0,05)

* $1,19 \times 10^{-3}g$ de ozônio; ** $2,39 \times 10^{-3}g$ de ozônio; *** $3,58 \times 10^{-3}g$ de ozônio.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nas análises físico-químicas não indicaram alterações estatísticas significativas (p>0,05) entre os valores determinados nas amostras antes e após inoculação e ozonização. As amostras apresentaram resultados médios de acidez Dornic e pH de 18°D e 6,33, respectivamente, antes dos tratamentos e de 18,1°D e 6,75, após a ozonização. A prova de alizarol, usada para testar a estabilidade do leite, apresentou reação normal em todas as amostras analisadas. Tais resultados são compatíveis aos determinados por GARCIA et al (1999b), que também verificaram que após ozonização de 49 amostras de leite bovino *in natura* por 5 e 10 minutos, os valores do pH e acidez não foram alterados significativamente.

As contagens de *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525 após os diferentes tratamentos não demonstraram redução estatística significativa (p>0,05) quando comparadas ao grupo controle (Tabela 1).

Os resultados obtidos são divergentes dos determinados por GARCIA et al. (1999a), que analisando 49 amostras de leite bovino *in natura*, verificaram uma redução significativa no número de bactérias mesófilas presentes (p<0,05). Contudo, o trabalho desses autores avaliou o efeito do gás ozônio sobre a microbiota natural do leite, e não uma espécie específica. Provavelmente, as particularidades da espécie inoculada (*Pseudomonas fluorescens*), como a resistência a agentes desin-

fetantes (TORTORA, 2002) pode ter influenciado na menor eficiência da ação bactericida do ozônio observada neste trabalho.

O ozônio possui ação imediata e rapidamente é dissolvido em oxigênio (20 minutos) o que determina baixo poder residual (GARCIA et al., 1999d), além de possuir maior eficácia em meio com pouca matéria orgânica (CLARK; TAKACS, 1980). De acordo com os resultados obtidos por GARCIA et al. (2000), a redução de mesófilas, fungos, leveduras e *Staphylococcus* coagulase positiva em salmouras para queijo após ozonização por 15 minutos não atingiu valores significativos (p>0,05), o que concorda com os valores apresentados no trabalho desenvolvido.

Deste modo, dentre os fatores que podem ter sido responsáveis pela redução não significativa do ozônio sobre o número de UFC/mL⁻¹ das *Pseudomonas fluorescens* inoculadas, destacam-se principalmente o veículo utilizado (leite), rico em matéria orgânica que interfere na reação do agente (CLARK; TAKACS, 1980), a quantidade de ozônio borbulhada nas amostras e as propriedades da bactéria estudada. A *Pseudomonas fluorescens* é aeróbia estrita e sintetiza enzimas como a superóxido dismutase e catalase que convertem e neutralizam o oxigênio tóxico, que provavelmente confere resistência a ação do ozônio, além de possuir características na sua membrana celular que determina resistência à agentes desinfetantes e capacita o crescimento em quantidades mínimas de carbono disponível (TORTORA, 2002).

4. CONCLUSÕES

- não houve alteração significativa nos resultados das provas de acidez (Dornic), pH e alizarol realizadas no leite antes e após ozonização por 5, 10 e 15 minutos (p>0,05);
- após a ozonização por 5, 10 e 15 minutos e armazenamento a 5°C por 48 e 72 horas, houve diminuição nas contagens médias de *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525 inoculadas no leite, porém a redução não foi significativa (p>0,05).

1. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, D.M.; BARACH, J.T.; SPECK, M.L. Effect of psychrotrophic bacteria from raw milk on milk proteins and stability of milk proteins to ultrahigh temperature treatment. *Journal Dairy Science*, v. 59, p. 823, 1975.

ALFENAS, R.C.G. Efeito da temperatura no crescimento e determinação de parâmetros de resistência ao calor de psicotrófico

acidificante isolado do leite. 1994. 55 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1994.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Committe o microbiological methods for foods. *Compendium of methods for the microbiological examination foods*. Washington, American Public Health Association, 1976.

ANDERSON, R.E.; HEDLUNG, C.B.; JOHNSON, V. Thermal inactivation of a heat-resistant lipase produced by psychrotrophic bacterium *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Dairy Science*, Lancaster, v. 62, n. 3, p. 361-367, Mar. 1979.

BRASIL. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. *Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes*. II Métodos físicos e químicos. Brasília, 1981.

CELESTINO, E.L.; LYER, M.; ROGINSKI, H. The effects of refrigerated storage on the quality of raw milk. *Australian Journal of Dairy Technology*, Highett, v. 51, n.10, p. 59-63. Oct. 1996.

CHAMPAGNE, C.P.; LAING, R.R.; ROY, D.; MAFU, A. Psychrotrophic in dairy products, their effects and their control. *Critical Reviews in food Science and Nutrition*, n. 34, v. 1, p. 1-30, 1994.

CLARK, D.S.; TAKACS, J. *Ecologia microbiana de los alimentos*; Zaragoza, Acribia, 1980. v. 1.

DIAS, J.C. (ed.). *Normas de lácteos*: Curso de Atualização e Treinamento sobre as novas normas de produção de lácteos, São Paulo, 2001. 82p.

FAIRBAIRN, D.J.; LAW, B.A. Proteinases of psychrotrophic bacteria: their production, properties, effects and control. *Journal of Dairy Research*, London, v. 53, n. 1, p. 139-177, Feb. 1986.

FOEGEDING, P.M.; Ozone inactivation of *Bacillus* and *Clostridium* spore population and the importance of spore coat to resistance. *Food Microbiology* v. 2, p. 123-34, 1985.

FURTADO, M.M. *A arte e a ciência do queijo*. 2.ed. São Paulo: Globo, 1991. 297p.

GARCIA, C.A.; BARCELOS, W.L.S.; ROSSI, D.A.; LIMA, A.M.C. Avaliação da influência do ozônio sobre microbiota do leite bovino *in natura*. **Revista Higiene Alimentar**, v. 12, n. 61, p. 47, 1999a.

GARCIA, C.A.; BARCELOS, W.L.S.; ROSSI, D.A.; LIMA, A.M.C. Características físico-químicas do leite bovino *in natura* submetido à diferentes tempos de ozonização. **Revista Higiene Alimentar**, v. 12, n. 61, p. 46, 1999b.

GARCIA, C.A.; BARCELOS, W.L.S.; ROSSI, D.A.; LIMA, A.M.C. Pesquisa de alterações oxidativas no leite *in natura* ozonizado. **Revista Higiene Alimentar**, v. 12, n. 61, p. 46, 1999c.

GARCIA, C.A.; BARCELOS, W.L.S.; ROSSI, D.A.; LIMA, A.M.C. Quantificação do ozônio residual no leite bovino *in natura*. **Revista Higiene Alimentar**, v. 12, n. 61, p. 46, 1999d.

GARCIA, C.A.; PARREIRA, W.F.; ROSSI, D.A.; CAMPOS, A.C.; ANUNCIAÇÃO, D.G. Eficiência do ozônio na redução de bactérias aeróbicas mesófilas, em efluentes de matadouros-frigoríficos. **Revista Higiene Alimentar**, v. 15, n. 90, p. 60-63, 2001.

GARCIA, C.A.; ROSSI, D.A.; BARROS, J.J.C.; CAMPOS, V.A.; PARREIRA, V.F.; CHELLOY, W.M. Influência da ozonização sobre bactérias mesófilas, bolores e leveduras e *Staphylococcus coagulase positiva* de salmouras para queijos. **Revista do Instituto de Laticínio Cândido Tostes**, v. 54, n. 317, p. 17, 2000.

GOBETTI, M.; ROSSI, J. Peptidases profiles of *Pseudomonas fluorescens* identification and properties. **Journal of Dairy Science**, Baltimore, v. 75, n. 4, p. 924-934, Apr. 1992.

GOMES, M.I.F. Contribuição ao estudo da atividade proteolítica residual sobre a estabilidade proteica do leite longa vida. 1995. 108f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) Universidade Estadual de Campinas Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas. 1995.

GREENE, A.K.; FEW, B.K.; SERAFINI, J.C. A comparison of ozonation and chlorination for disinfection of stainless steel surfaces. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 11, p. 3617-3620, 1993.

GRIFFITHS, M.W. Thermostability of proteases and lipases of a number of species of psychrotrophic bacteria of dairy origin. **Journal Bacteriology**, Chicago, v. 50, n. 2, p. 289-303, Feb. 1981.

GUINOT-THOMAS, P.; AMMOURY, M.A.; ROUX, Y.; LAURENTE, F. Study of proteolysis storage of raw milk at 4°C: effect of plasmin and microbial proteinase. **International Dairy Journal**, Ireland, v. 5, p. 685-697, Sept. 1995.

HICKS, C.L.; O'LEARY, J.; BUCY, J. Effect low temperature storage of milk on cheese yield. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 60, n. 1, p. 170, Jan. 1977.

HOLT, J.G.; KRIEG, N.R.; SNEATH, P.H.A.; STALEY, J.T.; WILLIAMS, S.T. **Bergey's manual of determinate bacteriology**. 9.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. 787p.

LAW, B.A.; ANDREWS, A.T.; CLIFFE, A.J.; SHARPE, M.E.; CHAPMAN, H.R. Review of the progress of dairy science: enzymes of psychrotrophic bacteria and their effects on milk and milk products. **Journal Dairy Research**, Cambridge, v. 46, n. 3, p. 573-588, Mar. 1979.

MARTIN, J.H. Symposium: heat resistant microorganisms in dairy food system. Heat resistant mesophilic microorganisms. **Journal Dairy Science**, Baltimore, v. 64, n. 1, p. 149-156, Jan. 1981.

MOURA, C.J.; ABREU, L.R.; FURTADO, M.M.; ROSSI, D.A.; CARVALHO, E.P.; PINTO, S.M. Efeito do resfriamento do leite inoculado com *Pseudomonas fluorescens* sobre a proteólise e lipólise. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 54, n. 308, p. 17-23, Mai. 1999.

SAMPAIO, I.B.M. Estatística aplicada à experimentação animal. Belo Horizonte: UFMG, 1998. 221p.

SILVA, M.H. Efeito do resfriamento e estocagem sobre alguns grupos de microrganismos e propriedades físico-químicas do leite. 1991. 104f. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1991.

STOFER, C.H.; HICKS, C.L. Pernicious psychrotrophs - their effect on cheese yield and composition. **Cultured Dairy Products Journal**, v. 18, n. 1, p. 11-14, Feb. 1983.

TORRES, E.A.F.S. *et al.* Estudo das propriedades desinfetantes do ozônio em alimentos. **Higiene alimentar**, v. 10, n. 42, p. 18-22, 1996.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002. 827p.

Kilol[®]-L

O Higienizante Nobre dos Laticínios e das Fazendas

Tecnologia 100% brasileira
SENDO EXPORTADA PARA O PRIMEIRO MUNDO.

Conheça as vantagens do higienizante Kilol[®]-L:

- Produto atóxico;
- Não corrosivo;
- Não volátil;
- Não irritante;
- Ecologicamente correto;
- Biodegradável;
- Não contaminante;
- Alto poder antioxidante.

Possui também:

- Excelente ação microbiostática (Fungos e bactérias)
- Ação prolongada (Além do tempo de ação dos desinfetantes tradicionais)



Coadjuvante na sanitização ambiental de salas, equipamentos e locais onde são processados o leite e seus derivados como queijos, manteigas, iogurtes, entre outros.

Televendas: (12) 3933-0400

quinabra@quinabra.com.br
www.quinabra.com.br

Quinabra
Qualidade em benefício da natureza

COMPOSIÇÃO PROTÉICA DO LEITE DE VACAS DA RAÇA HOLANDESA ALIMENTADAS COM RAÇÃO DEFICIENTE EM PROTEÍNA E SUPLEMENTADAS COM METIONINA

Milk protein composition of holstein dairy cows fed with deficient ration in protein and supplemented with methionine

Juliana Borsari Dourado Sancanari¹

Jane Maria Bertocco Ezequiel²

Expedita Maria de Oliveira Pereira³

Luciola de Sá⁴

Sérgio do Nascimento Kronka⁵

José Adolfo Sancanari⁶

RESUMO

Oito vacas da raça Holandesa foram utilizadas para verificar o efeito da suplementação com 8,4 g/dia de metionina protegida da degradação ruminal (MPDR) ou não protegida da degradação ruminal (MNPDR) ou mistura de metioninas (50%MPDR + 50% MNPDR) comparativamente a vacas controle sobre as frações nitrogenadas e proteína do leite durante o pico, pós pico e meio da lactação. As vacas encontravam-se em fase inicial de lactação e foram divididas em dois grupos, de acordo com a produção de leite ao parto (PL). O grupo 1 foi constituído por vacas com PL $\geq$ 25,0 kg/dia e o grupo 2, por vacas com PL $<$ 25,0 kg/dia, ambos os grupos foram alimentados por ração composta por silagem de milho e concentrado e formulada para proporcionar deficiência de 23% de proteína não degradável no rúmen (PNDR) e 13,4% de proteína bruta na matéria seca. A suplementação com fontes de metionina não afetou a proteína do leite, o nitrogênio total, nitrogênio verdadeiro, nitrogênio caseico, nitrogênio não protéico, nitrogênio do soro e o nitrogênio uréico do leite durante o pico, pós-pico e meio da lactação. O nível de produção das vacas também não foi influenciado pela suplementação com fontes de metionina. Há necessidade de se reverem as exigências protéicas de vacas leiteiras com elevada produção de leite em condições tropicais.

Palavras-chave: caseína, nitrogênio não protéico, nitrogênio total, nitrogênio do soro

INTRODUÇÃO

Vacas leiteiras são exigentes em proteína; no entanto, no Brasil, poucos experimentos têm sido realizados a fim de se determinarem as exigências de vacas em lactação, utilizando-se, na maioria das vezes, dados de tabelas americanas, que levam à obtenção de exigências sub ou superestimadas, comprometendo o processo de produção.

O conceito de que a vaca leiteira com elevada produção de leite deva receber quantidades balanceadas de proteína degradável (PDR) e não

degradável no rúmen (PNDR), é utilizado para a formulação de suas dietas, visto que o NRC (1989) e NRC (2001) permitem estimar os requerimentos em proteína degradável no rúmen (PDR) e proteína não degradável no rúmen (PNDR) para vacas leiteiras.

O farelo de soja é um alimento convencional muito utilizado na formulação de rações para vacas leiteiras (SANTOS et al., 1998) e, do ponto de vista nutricional, apresenta algumas implicações, como por exemplo, aumento de 15% no fluxo de nitrogênio microbiano para o intestino

quando comparado a ingredientes com elevados níveis de PNDR e elevada degradabilidade ruminal, o que resulta em baixas quantidades de PNDR. Além disso, o farelo de soja é considerado um alimento pobre em metionina, apresentando apenas 1,45 % de metionina na proteína bruta (NRC, 2001).

SCHINGOETHE (1996); CLARK et al. (1992) e SCHWAB (1994) verificaram que dietas compostas por ingredientes com elevados teores de PNDR no rúmen diminuíram a síntese de proteína microbiana. Mais tarde, KUNG e RODE (1996) comentaram que, aumentando a quantidade de PNDR no rúmen, não ocorreu melhora na qualidade dos aminoácidos que chegam ao intestino para absorção, provavelmente porque ocorreu diminuição na fermentabilidade da dieta; causando, portanto, diminuição na produção de proteína microbiana. Assim, acreditou-se que o ideal seria suplementar com fontes de aminoácidos sobrepassantes ao rúmen, independente da dieta que o animal iria receber.

Segundo SANTOS et al. (1998), a formação de proteína microbiana é de suma importância para vacas em lactação, porém o fornecimento de PNDR, que permite aumento na disponibilidade de aminoácidos no intestino para a absorção, também deve ser relevante.

Para SCHWAB et al. (1992 a e b), as principais fontes de aminoácidos para absorção são: proteína microbiana (geralmente é a responsável pelo fornecimento da maior parte dos aminoácidos) e PNDR. Considerando que o perfil de aminoácidos essenciais da proteína microbiana é semelhante ao do leite e ao dos tecidos, estes autores comentaram que a variação que ocorre no perfil de aminoácidos para absorção é função da PNDR e a suplementação com aminoácidos protegidos da degradação ruminal serve como um recurso positivo para aumentar os níveis de aminoácidos no intestino para absorção.

O objetivo deste estudo foi verificar o efeito da suplementação com metionina protegida e não protegida da degradação ruminal sobre a composição protéica do leite de vacas da raça Holandesa, alimentadas com deficiência de proteína não degradável no rúmen durante o pico, pós-pico e meio da lactação.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Bovinocultura Leiteira da FCAV - UNESP; Câmpus de Jaboticabal, e teve a duração de 120 dias de lactação.

Foram utilizadas oito vacas multíparas da raça Holandesa, de 2ª a 5ª. ordem de lactação,

puras por cruzar de origem desconhecida, malhadas de preto e malhadas de vermelho, com peso vivo médio de 613 kg no início do experimento.

A produção inicial de leite das vacas após o parto foram: 26,4; 27,0; 26,9; 25,1; 22,6; 18,5; 22,0 e 22,6 kg/dia. De acordo com esta produção, as vacas foram divididas em dois grupos. O grupo 1 foi constituído por vacas de maior produção, cuja produção média de leite foi $\geq$ 25,0 kg/dia e o grupo 2, por vacas de menor produção, com produção média de leite $<$ 25,0 kg/dia. A diferença na data de parição entre a primeira e a última vaca foi de 23 dias.

Após o parto, as vacas foram transferidas ao confinamento, onde receberam a alimentação durante todo o período experimental. As fontes de metionina utilizadas foram: metionina protegida da degradação ruminal (MPDR), produto comercial SMARTAMINE™ M composto por 70% de metionina e metionina não protegida da degradação ruminal (MNPDR), fabricados pela Aventis (Animal Nutrition) na França.

Segundo as recomendações do NRC (1989), foi formulada uma ração experimental, cujo objetivo foi proporcionar deficiência de 23% de proteína não degradável no rúmen (PNDR) para vacas pesando aproximadamente 600 kg, com produção de leite de 26 kg/vaca/dia, e matéria graxa de 3,5 %. A relação volumoso:concentrado da ração foi de 54:46% e o teor de proteína bruta na ração foi de 13,4% na matéria seca.

O volumoso utilizado na ração foi silagem de milho, produzida com milho AGN 3012. O concentrado foi formulado utilizando-se quirela de milho, soja integral tostada e moída, farelo de soja, farelo de trigo, mistura vitamínico-mineral e tamponante. Na Tabela 1, encontra-se o consumo estimado de matéria seca e de nutrientes da ração.

As vacas foram alimentadas em três refeições diárias: às 8 h, às 14 h e às 17 h e suplementadas ou não com as diferentes fontes e proporções de metionina, de modo a constituir quatro diferentes tratamentos:

- 1- Tratamento Controle - ausência de fontes de metionina, as vacas receberam 8,4 g/dia de ração concentrada (placebo);
- 2- Tratamento Metionina Protegida da Degradação Ruminal (MPDR) - as vacas receberam 8,4 g/dia de metionina protegida da degradação ruminal;
- 3- Tratamento Metionina Não Protegida (MNPDR) - as vacas receberam 8,4 g/dia de metionina não protegida da degradação ruminal (metionina solúvel);
- 4- Tratamento Mistura (MPDR + MNPDR) - as vacas receberam 6,0 g/dia de MPDR (produto comercial SMARTAMINE™ M) + 4,2 g/dia de MNPDR (metionina solúvel), respectivamente.

1 Professora Dra. da Universidade de Franca - SP - E-mail: julianasancanari@hotmail.com
 2 Professora Dra. do Departamento de Zootecnia da FCAV-UNESP - E-mail: janembe@fcav.unesp.br
 3 Aluna regular do curso de Pós-Graduação em Zootecnia na FCAV-UNESP
 4 Médica Veterinária
 5 Pesquisador do CNPq
 6 Administrador de Empresas e Técnico Agropecuária da Cooperativa dos Plantadores de Cana de Guariba - COPLANA

Tabela 1 – Consumo estimado de matéria seca e de nutrientes dos ingredientes da ração.
Table 1 – Estimated voluntary intake of dry matter and nutrients of the ingredients of the ration.

Ingredientes <i>Ingredients</i>	MS <i>DM</i>	PB <i>CP</i>	PDR <i>DIP</i>	PNDR <i>UIP</i>	FDN <i>NDF</i>	FDA <i>ADF</i>	NDT <i>TND</i>	MET <i>MET</i>	LIS <i>LYS</i>
					kg/dia <i>kg /day</i>			kg de PB/dia <i>kg of CP/day</i>	
Quirela de milho <i>Corn ground</i>	4,78	0,45	0,27	0,18	1,36	0,16	4,02	0,002	0,003
Soja Int. Tostada <i>Toast soya bean</i>	1,45	0,56	0,38	0,17	0,69	0,29	1,22	0,009	0,038
Farelo de Soja <i>Soya bean meal</i>	0,97	0,47	0,30	0,16	0,19	0,13	0,70	0,015	0,064
Farelo de Trigo <i>Wheat meal</i>	2,05	0,38	0,31	0,08	0,84	0,22	1,27	0,011	0,028
Mistura vit.-min <i>Mixture</i>	0,33	-	-	-	-	-	-	-	-
Tamponante <i>Buffer</i>	0,11	-	-	-	-	-	-	-	-
Silagem de Milho <i>Corn silage</i>	11,57	1,00	0,69	0,31	6,46	3,00	7,98	0,011	0,019
Total	2	21,25	2,85	1,95	0,90	9,54	3,80	15,19	0,048
Total									

MS matéria seca; PB proteína bruta; PDR proteína degradável no rúmen; PNDR proteína não degradável no rúmen; FDN fibra em detergente neutro, FDA fibra em detergente ácido; NDT nutrientes digestíveis totais; MET metionina ^{lis} lisina

DM dry matter; CP crude protein; DIP degradable intake protein; UIP undegradable intake protein; NDF neutral detergent fiber, ADF acid detergent fiber; TND total nutrients digestible; MET methionine ^{lis} lysine

As fontes de metionina foram fornecidas aos animais, individualmente, após a ordenha da manhã (aproximadamente às 9 horas), diretamente na boca e separadamente dos alimentos, certificando que cada vaca houvesse ingerido a quantidade de metionina preestabelecida. As vacas controle receberam um "placebo", diretamente na boca, simulando o mesmo estresse das vacas suplementadas com fontes de metionina, para evitar variações nos resultados. Os animais foram ordenhados duas vezes ao dia às 6 e às 14 horas e a produção de leite registrada. Antes de se iniciar cada ordenha, era efetuada a limpeza pré ordenha nos tetos e o teste da caneca de fundo preto. Ao final de cada ordenha, era realizada a limpeza pós ordenha. O esquema e o planejamento das etapas experimentais encontram-se na Tabela 2.

O experimento iniciou-se no 26º. dia, após a primeira vaca parir, pois, devido à antecipação de 13 dias em uma parição e teve duração de 120 dias, dividido em três períodos da lactação de 40 dias de duração denominados: pico, pós-pico e meio da lactação. Cada período da lactação foi subdividido em 4 subperíodos de 10 dias,

correspondendo a 9 dias de adaptação e 1 dia de colheita de dados e amostragem de leite, de alimento e de sobras. Terminado cada subperíodo de 10 dias, as vacas foram adaptadas ao tratamento seguinte, e assim, consecutivamente, (Schwab et al., 1992 a e b, Sancanari et al., 2001).

Para o grupo de menor produção (grupo 2), os dados referentes à fase meio da lactação foram desprezados, por terem sido considerados influenciados pelos resultados de dois animais que apresentaram problemas no casco devido ao excesso de umidade e o prolongado período de permanência no confinamento.

O primeiro período de adaptação iniciou-se, aproximadamente, aos 26º. e 13º. dia de lactação, respectivamente da primeira e da última vaca a parir, pois, nesta fase, as vacas já haviam encerrado a fase de colostro e os restos placentários haviam sido eliminados.

Durante todo o experimento realizou-se o controle leiteiro individual diário para cada vaca, com anotação das produções de leite de cada ordenha. A amostragem do leite foi realizada da seguinte maneira: após a retirada das teteiras do teto, as mesmas foram viradas para cima e o vácuo

Tabela 2 – Esquema e planejamento das etapas experimentais.
Table 2 – Scheme and planning of the experiments stages.

PERÍODOS DA LACTAÇÃO <i>Periods of lactation</i>	PICO <i>Peak</i>	PÓS-PICO <i>Post-peak</i>	MEIO <i>Middle</i>
INÍCIO DO EXPERIMENTO <i>Beginning of the experiment</i>			
Dias após o parto da primeira vaca <i>Days after first cow nursing</i>	26 a 65	66 a 105	106 a 145
DIFERENÇA ENTRE PARTOS (dias) <i>Difference among nursing (days)</i>		23	
TRATAMENTOS (g/dia) <i>Treatments (days)</i>			
Controle (ausência de fontes de metionina) <i>Control (absence of metionina sources)</i>	-	-	-
MPDR <i>RPM</i>	8,4	8,4	8,4
Mistura de Metioninas (MPDR + MNPDR) <i>Mixture of methionines (RPM+RNPM)</i>	4,2 + 4,2	4,2 + 4,2	4,2 + 4,2
MNPDR <i>RNPM</i>	8,4	8,4	8,4
SUBPERÍODOS EXPERIMENTAIS (dias) <i>Experimental subperiods (days)</i>			
Adaptação <i>Adaptation</i>	9	9	9
Colheita <i>Crop</i>	1	1	1
PERÍODO EXPERIMENTAL (dias) <i>Experimental periods (days)</i>		120	
Total <i>Total</i>	10	10	10
Período de lactação <i>Period of lactation</i>	40	40	40*

*Somente para as vacas do grupo 1. *Only for the group 1 of cows.

novamente ligado, o que provocou homogeneização do leite presente no balão e evitou variação na composição do leite amostrado. Em seguida, através de uma mangueira lateral no balão, o leite foi recolhido em recipiente de vidro graduado, hermeticamente fechado e amostrado de acordo com a produção (10% da produção por ordenha). O leite da ordenha da manhã foi armazenado em geladeira e, posteriormente, misturado ao leite da ordenha da tarde. A amostra composta de leite foi encaminhada aos laboratórios para serem efetuadas as análises.

O teor de nitrogênio do leite (N) foi determinado, segundo AOAC (1990), para posterior estimativa da proteína bruta (PB), utilizando-se o fator de 6,38 para conversão. Os teores de nitrogênio não protéico (NNP) e

nitrogênio não caseico (NNC) foram determinados através das metodologias propostas pela IDF (1964). O teor de nitrogênio caseico (NC) foi estimado pela diferença entre o NT e o NNC e o teor de nitrogênio verdadeiro (NV) pela diferença entre o NT e NNP. O teor de nitrogênio do soro (NS) correspondeu à diferença entre o NV e NC (PIEPENBRINK et al., 1996; PISULEWSKI et al., 1996).

O nitrogênio uréico do leite (NUL) foi determinado no equipamento CHEMSPEC 150 (BENTLEY INSTRUMENTS).

Os teores de lisina e de metionina na digesta duodenal como porcentagem dos aminoácidos essenciais (%AEE) foram calculados segundo equações desenvolvidas por SOCHA & SCHWAB (1994). As equações foram:

Equação para lisina:

$$Y = 14,43 - 0,04 X_1 - 0,29 X_2 + 0,54 X_3 + C$$

Onde:

Y = Lisina na digesta duodenal, % AAE

X₁ = PNDR dietético, % da PB dietética

X₂ = PB dietética, % da matéria seca

X₃ = Lisina na PNDR dietética, % do total

AAE do PNDR

C = constante para estágio da lactação (-0,13)

Equação para metionina:

$$Y = 5,36 - 0,08 X_1 + 3,94 X_2 + C$$

Onde:

Y = Metionina na digesta duodenal, % AAE

X₁ = PNDR dietético, % da PB dietética

X₂ = metionina na PNDR dietética, % PB dietética

C = constante para estágio da lactação (-0,15)

As amostras dos ingredientes da ração foram colhidas em cada subperíodo experimental durante os dias de colheita, e submetidas a análises químico-bromatológicas para determinação da MS, PB, FDN e FDA segundo SILVA (1990). Os consumos estimados de NDT, PDR, PNDN, MET e LIS foram obtidos segundo NRC (1989).

As vacas foram distribuídas em quadrados latinos num ensaio rotativo balanceado 4 x 4, conforme PATTERSON & LUCAS (1962). Os dados de cada fase experimental foram submetidos à análise de variância pelo teste de F, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Proteína bruta e relação proteína/gordura do leite

Os teores e as produções de proteína bruta do leite no pico, pós-pico e meio da lactação para os diferentes grupos de vacas (grupo 1 e grupo 2) encontram-se na Tabela 3.

Verificou-se que os teores de proteína bruta do leite não foram influenciados (P>0,05) pelas fontes de metionina suplementadas nas diferentes fases da lactação, quer se considere o grupo de vacas de maior produção (grupo 1) ou o de menor produção de leite (grupo 2), quando as vacas foram alimentadas com deficiência protéica na ração.

A ração foi formulada segundo as recomendações do NRC (1989), e atendeu 91% dos requerimentos em proteína bruta, 100% em PDR e 77% em PNDR, proporcionando, portanto uma deficiência de 23% de PNDR e utilizando-se fontes protéicas de elevada degradação ruminal.

SCHWAB et al. (1992 a e b) utilizaram dietas que continham 16,0; 14,4; 13,9 e 13,5%

de proteína bruta, respectivamente, no pico, início, meio e final da lactação, de modo a suprir 90 % dos requerimentos protéicos de vacas leiteiras e suplementaram com infusão abomasal de metionina, lisina, metionina mais lisina e caseína (controle). Verificaram que os menores teores (P < 0,05) de proteína no leite foram obtidos para vacas suplementadas com metionina, quando comparadas a vacas suplementadas com lisina, metionina mais lisina ou caseína. Os melhores teores de proteína do leite foram obtidos para as infusões com metionina mais lisina.

Vacas controle de maior produção de leite, no pico da lactação, apresentaram teores de proteína no leite 3; 5 e 5% superiores quando comparadas as vacas suplementadas com MPDR, MNPDR e mistura, respectivamente, concordando com os resultados obtidos por SCHWAB et al. (1992 a e b).

Segundo HOLMES & WILSON (1990), a deficiência de nutrientes na dieta e/ou restrição no consumo, em particular de proteína e de energia, podem causar uma diminuição na produção de leite e no teor de proteína do leite devido à utilização dos aminoácidos para produção de glicose.

Esperava-se, nesta pesquisa, que ocorressem diminuições nos teores e nas produções de proteína do leite em virtude da deficiência protéica da ração e, com a suplementação com fontes de metionina os teores e as produções de proteína no leite seriam melhorados. É interessante observar que os resultados mostraram que a deficiência protéica da ração não diminuiu a proteína do leite e que a suplementação com metionina também não a melhorou. Isto gerou a hipótese de que a elevada degradabilidade ruminal dos ingredientes utilizados na ração tenha proporcionado um alto fluxo de proteína microbiana para o intestino, suprimindo as deficiências protéicas da ração. Além disso, a ração foi fornecida três vezes ao dia e o consumo considerado à vontade, portanto não havia restrição alimentar.

Rulquin (1992), citado por SCHWAB (1996), comentou que a produção de proteína do leite pode melhorar com a suplementação com MPDR, quando os níveis de metionina e de lisina na PNDR são baixos. Neste estudo, utilizaram-se elevadas quantidades de soja, farelo de soja e de milho para proporcionar deficiência em metionina, no entanto a suplementação com fontes de metionina não foi capaz de suportar aumentos na proteína bruta do leite. Para SCHWAB (1996), metionina e lisina são aminoácidos limitantes quando produtos de milho são utilizados em dietas de vacas leiteiras e para RODRIGUEZ et al. (1996), a deficiência em metionina esteve associada a dietas compostas por soja.

Tabela 3 – Teores e produções de proteína bruta (PB) e relação proteína/gordura (PB/G) no leite, nas diferentes fases da lactação, para vacas de maior produção (grupo 1) e de menor produção de leite (grupo 2).

Table 3 – *Contents and productions of crude protein (CP) and relationship protein/fat (CP/F) in the different phases of lactation, for cows with higher (group 1) and of smaller milk production (group 2).*

Nutrientes <i>Nutrients</i>	Tratamentos <i>Treatments</i>	Fases da Lactação <i>Phases of lactation</i>					
		Pico <i>Peak</i>		Pós-pico <i>Post-peak</i>		Meio <i>Middle</i>	
		Grupo 1 <i>Group 1</i>	Grupo 2 <i>Group 2</i>	Grupo 1 <i>Group 1</i>	Grupo 2 <i>Group 2</i>	Grupo 1 <i>Group 1</i>	Grupo 2 <i>Group 2</i>
PB	MPDR	3,02 aA	3,00 aA	3,40 aA	3,17 aA	3,02 a	-
CP	RPM						
(%)	MNPDR	3,12 aA	3,25 aA	3,47 aA	3,17 aA	2,95 a	-
	RNPM						
	Mistura	3,12 aA	3,05 aA	3,17 aA	3,15 aA	3,15 a	-
	Mixture						
	Controle	3,27 aA	3,07 aA	3,45 aA	3,12 aA	2,97 a	-
	Control						
PB	MPDR	0,82 aA	0,70 aA	0,86 aA	0,75 aA	0,75 a	-
CP	RPM						
(kg/dia)	MNPDR	0,87 aA	0,72 aA	0,82 aA	0,72 aA	0,72 a	-
(kg/day)	RNPM						
	Mistura	0,88 aA	0,54 aB	0,76 aA	0,75 aA	0,75 a	-
	Mixture						
	Controle	0,83 aA	0,69 aB	0,78 aA	0,73 aA	0,73 a	-
	Control						
PB/G	MPDR	0,90 aA	0,77 aA	1,09 aA	0,87 aA	0,76 a	-
CP/F	RPM						
	MNPDR	1,16 aA	1,35 aA	1,14 aA	0,91 aA	0,94 a	-
	RNPM						
	Mistura	0,95 aA	0,95 aA	1,10 aA	0,81 aA	1,08 a	-
	Mixture						
	Controle	0,94 aA	1,05 aA	0,83 aA	0,99 aA	0,83 a	-
	Control						

^{a,b} Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05). ^{a,b} Means followed by same small letters in the column do not differ to each other for the Tukey test (P>0,05).

^{A,B} Em cada tratamento, médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre grupos de vacas pelo teste de Tukey (P>0,05). ^{A,B} In each treatment, means followed by same letter capital in the line do not differ among groups of cows for the Tukey test (P>0,05).

GUILLAUME et al. (1991) não verificaram efeitos sobre a matéria protéica do leite quando suplementaram vacas com metionina e lisina alimentadas com soja crua ou extrusada, porém verificaram que o fluxo intestinal de aminoácidos foi maior quando a soja foi extrusada a 132 ou 149 °C.

Em estudos conduzidos no Brasil, SANCANARI et al. (2001a) alimentaram vacas leiteiras com ração completa, composta por silagem de milho, milho grão moído, farelo de

soja, soja integral tostada e farelo de trigo e suplementaram com metionina protegida (8,4 g/dia) e não protegida (8,4 g/dia) de degradação ruminal por 90 dias da lactação. Não foram observados efeitos sobre os teores e produção da proteína do leite, no entanto aumentos nos teores de gordura foram observados.

ROGERS et al. (1989) e CANALE et al. (1990) comentaram que aumentos nos teores de proteína do leite são obtidos quando as vacas são alimentadas com farelo de soja e suplementadas

com aminoácidos protegidos da degradação ruminal; para DOLKIN et al. (1989); ROGERS et al. (1989); POLAN et al. (1991); ARMENTANO et al. (1993) são verificados quando aminoácidos protegidos da degradação ruminal são adicionados contendo glutenose, sugerindo que estes aumentos estão relacionados aos elevados teores de lisina contidos no glutenose.

A maioria das fontes protéicas é extensivamente degradadas pelas bactérias do rúmen (GUILLAUME et al., 1991) e, normalmente, a síntese de proteína microbiana pode suprir de 60 a 80 % dos requerimentos para produção de leite. No entanto, vacas com alta produção de leite precisam ingerir grandes quantidades de proteína que passem no retículo rúmen sem degradar. Propositadamente, neste estudo, forneceram-se ingredientes de alta degradabilidade ruminal a fim de proporcionarem deficiência em PNDR, no entanto, a produção de proteína no leite não foi afetada ($P>0,05$).

ARMENTANO et al. (1993) comentaram que a suplementação protéica de vacas leiteiras tem sido composta por farelo de soja e farelo de glúten de milho, porque estas dietas são formuladas para conterem quantidades balanceadas de PDR e PNDR. Devido ao fato de as fontes protéicas apresentarem teores variáveis de metionina e de lisina, tem se utilizado a estratégia de combinar diferentes fontes protéicas, visando a uma diminuição na deficiência destes aminoácidos e, muitas vezes, ainda é necessário suplementar com fontes de metionina e de lisina que sobrepassem o rúmen, aumentando seus níveis intestinais para absorção.

Diante desta deficiência em PNDR, esperava-se que a produção e a qualidade da proteína do leite destas vacas fossem deprimidas e que, ao suplementar as vacas com fontes de metionina, ocorressem melhoras nestes aspectos. SANCANARI et al. (2001c), trabalharam com estes mesmos grupos de vacas e nestas mesmas condições alimentares e verificaram que não houve efeito da suplementação com diferentes fontes de metionina sobre as produções médias diárias de leite ou sobre os teores de proteína bruta do leite durante as três fases da lactação estudadas e nos dois grupos de vacas utilizados (Tabela 3). Isto evidenciou que a deficiência proporcionada de 23% de PNDR na ração não afetou a produção e a qualidade de proteína do leite, levando a inferir que existe a necessidade de se reverem os requerimentos protéicos de vacas leiteiras para as condições brasileiras.

Outra hipótese levantada foi que as vacas possam ter utilizado fontes de metionina suplementadas para produção de outros nutrientes, como por exemplo, da glicose posteriormente

utilizada para a produção de gordura do leite (SANCANARI et al. 2001 a e c).

SOCHA et al. (1994 a e b) observaram baixa conversão pós absorviva de metionina em proteína do leite, concordando com os resultados obtidos nesta pesquisa, pois não foram observados aumentos significativos nos teores de proteína do leite.

Com este objetivo, SANTOS et al. (1998) publicaram uma revisão de 12 anos de literatura abordando os efeitos da PNDR sobre a performance de vacas leiteiras, e verificaram que dietas com elevados teores de PNDR no rúmen diminuíram a síntese de proteína microbiana em 76% dos trabalhos e que a PDR não foi suficiente para atender as exigências dos microrganismos ruminais.

É importante ressaltar que as vacas de maior produção de leite (grupo 1) eram mais exigentes em nutrientes, principalmente em proteína (NRC 1989 e 2001), que as vacas do grupo 2, em especial no pico da lactação, quando ocorrem diminuições na ingestão de alimento e grandes mobilizações de gordura corporal.

Embora não se tenha avaliado, neste estudo, o efeito da suplementação sobre a ingestão de matéria seca, RIOS et al. (1999) observaram que a suplementação com metionina não interferiu na ingestão de matéria seca da ração.

Os teores de proteína do leite, no pico da lactação, obtidos para vacas de maior produção de leite para o tratamento controle foram 8, 5 e 5% superiores aos tratamentos MPDR, MNPDR e mistura, respectivamente. Entretanto, vacas de menor produção de leite (grupo 2) suplementadas com MNPDR apresentaram teores de proteína mais elevados em 8, 7 e 6% em relação às suplementadas com MPDR, mistura e controle. Isto porque, provavelmente, eram menos exigentes em proteína que as vacas do grupo 1 e a suplementação com MNPDR proporcionou a formação de uma proteína microbiana de excelente qualidade capaz de suprir a deficiência protéica da ração e, ao mesmo tempo disponibilizar, aminoácidos para absorção.

Para vacas de maior e de menor produção de leite, do pico para o pós-pico da lactação, foram observados aumentos no teores de proteína do leite. Em vacas de maior produção os aumentos foram de 13, 11, 2 e 6 %, respectivamente, para vacas suplementadas com MPDR, MNPDR, mistura de metioninas e controle. Para vacas de menor produção de leite os aumentos foram de 6 e 3%, respectivamente, para vacas suplementadas com MPDR e mistura de metioninas. Isto sugeriu que o considerável aumento ocorrido para a proteína do leite das vacas do grupo 1 possa ser ou decorrência de outros fatores que não a adição de metionina (desde que no tratamento mistura não se manteve o acréscimo) ou um indicativo de que existe uma participação da metionina em

melhorar a produção de leite e o seu teor de proteína no pós-pico da lactação, conforme já observado em trabalho conduzido no Brasil por SANCANARI et al. (2001c).

GUINARD & RULQUIN (1995) obtiveram teores de 2,77 2,87; 2,91 e 2,88%; e produções de 674; 660; 707 e 689 g/dia de proteína do leite, ao infundirem 0, 8, 16 e 32 g/dia de DL metionina, respectivamente, em vacas da raça Holandesa por um período de 12 a 22 semanas após o parto. Além disso, não verificaram diferença significativa no teor nem na produção de proteína do leite diante da suplementação. Os teores de proteína obtidos por estes autores foram inferiores aos obtidos neste estudo, no pós-pico e meio da lactação, para vacas de maior produção de leite (grupo 1), suplementadas com MPDR e ausência de significância.

PISULEWSKI et al. (1996) avaliaram a extensão da limitação de metionina sobre a produção e composição do leite da quarta à sexta semana da lactação. Utilizaram o método dose resposta, suplementaram com 0, 6, 12, 18 e 24 g/dia de metionina por infusão abomasal e verificaram que a proteína do leite foi influenciada linearmente ($P<0,001$) pela suplementação com metionina. Os teores de proteína do leite obtidos foram 2,27; 2,31; 2,38; 2,49; 2,52 %, respectivamente, para as doses suplementadas.

Paralelamente a esta pesquisa, o período de comparação refere-se ao pico da lactação das vacas, quando se utilizou-se a suplementação com 0 (controle), 4,2 (mistura) e 8,4 g/dia de MPDR, observando-se que tanto para as vacas do grupo 1 quanto para as do grupo 2 não houve aumento na proteína do leite ao aumentar o nível de metionina suplementada. Observou-se porém, observou-se que as vacas deste estudo, suplementadas 0, 4,2 e 8,4 g/dia de MPDR, apresentaram superioridade no teor de proteína sendo em média 40, 34 e 26% quando comparadas às vacas do experimentos de PISULEWSKI et al. (1996) que suplementaram as vacas com 0, 6, 12 g/dia de metionina por infusão abomasal. A ausência de resultados significativos pode estar associada ao nível de proteína da dieta, pois nesta pesquisa as vacas receberam dietas limitantes em proteína e PISULEWSKI et al. (1996) formularam dietas que atendiam os requerimentos de proteína das vacas.

Para SEYMOUR et al. (1990) e RULQUIN et al. (1993), a suplementação com aminoácidos protegidos permitem aumentos na produção de proteína do leite que variam de 1 a 15%; para LEHENAFF et al. (1990) em 4% e para SCHWAB (1996) em 9%. ARMENTANO et al. (1997) comentaram que, para cada 1 g de metionina suplementada, a produção de proteína do leite pode aumentar em 4 g. Os aumentos sugeridos por estes autores discordam dos resultados obtidos

nesta pesquisa, cujos dados mostram que não houve diferença significativa para produção de proteína do leite quando se comparou tratamentos.

Contrariamente, CASPER et al. (1987); ROGERS et al. (1989); ARMENTANO et al. (1993); RULQUIN & DELABY (1994); PIEPENBRINK et al. (1996); BREMMER et al. (1997), RIOS et al. (1999) e ROBINSON et al. (1999) obtiveram aumentos no teor e/ou produção de proteína do leite quando suplementaram as vacas com metionina protegida da degradação ruminal ou infundida no abomaso sugerindo que os aumentos na síntese de proteína do leite estão associados a aumentos nas concentrações plasmáticas de metionina que possibilitam acréscimos na concentração de nitrogênio no plasma, aumentando a disponibilidade na glândula mamária.

Surpreendentemente, do pós-pico para o meio (Tabela 3) da lactação, vacas do grupo 1, suplementadas com MPDR, MNPDR e controle, apresentaram teores decrescentes em 13, 18 e 16 % de proteína bruta no leite, diferenciando da curva normal de proteína do leite que é crescente durante esta fase (BEHMER, 1987). Vacas do grupo 1, suplementadas com mistura de metioninas, mantiveram os teores de proteína do leite semelhantes nas três fases da lactação. Podem, portanto, terem disponibilizado melhor a quantidade de metionina suplementada, ou seja, tiveram os requerimentos ruminais atendidos, através da síntese de proteína microbiana no rúmen pela suplementação com 4,2 g/dia de MNPDR e os requerimentos metabólicos atendidos pela suplementação com 4,2 g/dia de MPDR. Isto evidenciou que tanto o microrganismo ruminal quanto a vaca precisam de fontes de metionina. SANCANARI et al. (2001c) analisou a curva de lactação para este tratamento e observou-se que a produção de leite decresceu do pico para o pós-pico, comportando-se de forma normal porém do pós-pico para o meio, a produção de leite destas vacas aumentou, quando deveria diminuir. Interessantemente, o teor de proteína se manteve constante diante dessas variações na produção de leite.

SCHWAB (1993) comentou que uma otimização no balanço intestinal de aminoácidos é muito importante para vacas leiteiras, principalmente para as concentrações de proteína no leite. Foram estimados, segundo SCHWAB (1996), teores de 13 % de lisina e 4% de metionina como porcentagem dos aminoácidos essenciais (% AAE) na digesta duodenal das vacas. Estes teores foram muito próximos aos preconizados por SCHWAB (1996), de 15 % de lisina e 5 % de metionina como % AAE na digesta duodenal capazes de permitir aumentos na proteína do leite. No entanto, aumentos nos teores de proteína do leite não foram observados.

As inconsistentes respostas na produção diante da suplementação com aminoácidos podem

ser atribuídas ao fato de que aminoácidos essenciais são geralmente co-limitantes (MERCHEN & TITGEMEYER, 1992), e que alguns aminoácidos, como a metionina, tem papéis metabólicos como precursores na síntese de gordura do leite (isto é, como doadores de radicais metil para as reações de transmetilação na biossíntese de lipídeos e transporte de lipídeos na corrente sanguínea).

A relação proteína/gordura (PB/G) nas diferentes fases da lactação encontram-se na Tabela 3. Não foram verificadas diferenças ($P>0,05$) na relação PB/G quando se compararam as diferentes fontes de metioninas suplementadas. Entretanto, devem-se ressaltar alguns dados obtidos.

Vacas de maior produção suplementadas com MNPDR apresentaram superioridade na relação PB/G de 29, 22 e 23 % quando comparadas às vacas suplementadas com MPDR, mistura e controle.

Para vacas de menor produção, apenas para o tratamento MPDR, a relação PB/G foi baixa (0,77). Isto provavelmente ocorreu devido ao elevado teor de gordura obtido por estas vacas (4,3%) e a relação obtida esteve muito próxima à recomendada por FONSECA & SANTOS (2000) de 0,85 a 0,90. As vacas suplementadas com MNPDR apresentaram elevada relação PB/G (1,35) devido aos baixos teores de gordura obtidos (2,6%).

No pós-pico da lactação, todos os tratamentos envolvendo adição de metionina (grupo 1) apresentaram valores acima de 0,90 para essa variável, o que não ocorreu no controle.

SANCANARI et al. (2001c) em estudo com estas mesmas vacas e tratamentos observaram no meio da lactação diferença significativa sobre o teor de gordura do leite quando as vacas do grupo 1 foram suplementadas com MPDR, o que, provavelmente, resultou em baixas relações PB/G.

Frações nitrogenadas do leite

Com o intuito de se observar o efeito da suplementação com fontes de metionina na qualidade da proteína do leite, identificaram-se, na matéria protéica do leite, as diferentes frações nitrogenadas que a compõem.

Os teores e produções de nitrogênio total (NT), nitrogênio verdadeiro (NV) e nitrogênio não protéico (NNP) do leite, nas diferentes fases da lactação, para vacas de maior produção de leite (grupo 1) e de menor produção de leite (grupo 2) encontram-se na Tabela 4. Não se observou efeito ($P>0,05$) da suplementação com metionina ou do nível de produção das vacas em qualquer destas variáveis.

Os resultados obtidos por OVERTON et al. (1996) foram muito próximos aos obtidos nesta pesquisa. Encontraram teores e produções de NT de 0,47% e 0,17 kg/dia e 0,47% e 0,18 kg/dia, respectivamente, quando suplementaram com 0

e 20 g/dia de metionina protegida. Contrariamente, mais tarde, BREMMER et al. (1997) verificaram efeito ($P<0,02$) no teor de NT quando suplementaram com aminoácidos protegidos (0,60%) comparativamente a controle (0,59%), observando ainda que, quando as vacas receberam BST, os teores de NT foram maiores (0,61%).

PIEPENBRINK et al. (1996) verificaram que vacas alimentadas com 18% de proteína na dieta tenderam aumentar o N total, N verdadeiro no leite, e consequentemente, o teor de proteína no leite. A produção de leite foi 27,3 kg/dia.

Quando se comparou o nível de produção das vacas, observou-se que a produção de NV foi influenciada pelo tratamento mistura ($P<0,05$) no pico da lactação. Vacas de maior produção de leite apresentaram superioridade de 63% no NV do leite quando comparadas às vacas de menor produção de leite.

OVERTON et al. (1996) encontraram concentração de NV no leite de 0,43% e produção de 0,16 kg/dia, comparáveis aos deste estudo, além de não observarem, igualmente, efeito da MPDR. Respostas também não foram evidenciadas por GUILLAUME et al. (1991) quando suplementaram com aminoácidos protegidos. Entretanto, BREMMER et al. (1997) obtiveram valor médio de NV no leite mais elevado (0,57%), sendo este influenciado ($P<0,03$) pela suplementação com aminoácidos protegidos da degradação ruminal. PISULEWSKI et al. (1996) observaram que houve efeito linear ascendente sobre o conteúdo de NV do leite, quando suplementaram as vacas com níveis crescentes (o a 24 g/dia) de MPDR. Resultados semelhantes já haviam sido obtidos por SOCHA et al. (1994 a e b) quando suplementaram com MPDR.

Não foram observados efeitos ($P>0,05$) sobre os teores e as produções de NNP diante da suplementação com fontes de metionina, nas fases da lactação estudadas, quer se considerem vacas do grupo 1 ou do grupo 2.

A concentração e a produção de NNP lácteo não têm demonstrado efeito da suplementação com aminoácidos protegidos (SOCHA et al., 1994 a e b; OVERTON et al., 1996; PISULEWSKI et al., 1996; BREMMER et al., 1997 e RIOS et al., 1999) cujos valores foram 0,03 % e 0,01 kg/dia, respectivamente, nos teores e produções de NNP, iguais aos obtidos neste estudo. Resultados semelhantes também foram observados por SANCANARI et al. (2001b) quando alimentaram as vacas com ração completa e suplementaram com MPDR, MNPDR ou mistura de metioninas. Assim, consolidou-se a idéia de que a suplementação com MPDR não tem efeito sobre o NNP do leite.

Os teores e as produções de caseína (NC), nitrogênio no soro (NS) e nitrogênio uréico (NUL) do leite encontram-se na Tabela 5.

Tabela 4 – Teores e produções de nitrogênio total (NT), nitrogênio verdadeiro (NV) e nitrogênio não protéico do leite, nas diferentes fases da lactação, para vacas de maior produção de leite (grupo 1) e de menor produção de leite (grupo 2).
Table 4 – Counts and productions of total nitrogen (TN), true nitrogen (TN) and non protein nitrogen (NPN) of milk, in the different phases of lactation, for cows with higher production (group 1) and of smaller milk production (group 2)

Nutrientes <i>Nutrients</i>	Tratamentos <i>Treatments</i>	Fases da Lactação <i>Phases of lactation</i>					
		Pico <i>Peak</i>		Pós-pico <i>Post-peak</i>		Meio <i>Middle</i>	
		Grupo 1 <i>Group 1</i>	Grupo 2 <i>Group 2</i>	Grupo 1 <i>Group 1</i>	Grupo 2 <i>Group 2</i>	Grupo 1 <i>Group 1</i>	Grupo 2 <i>Group 2</i>
NT <i>TN</i> (%)	MPDR	0,47 aA	0,47 aA	0,53 aA	0,50 aA	0,48 a	-
	RPM						
	MNPDR	0,49 aA	0,51 aA	0,52 aA	0,50 aA	0,46 a	-
	RNPM						
	Mistura	0,49 aA	0,48 aA	0,49 aA	0,49 aA	0,50 a	-
NT <i>TN</i> (kg/dia) (<i>kg/day</i>)	Controle	0,51 aA	0,48 aA	0,54 aA	0,51 aA	0,45 a	-
	Control						
	MPDR	0,13 aA	0,11 aA	0,14 aA	0,12 aA	0,12 a	-
	RPM						
	MNPDR	0,14 aA	0,11 aA	0,13 aA	0,13 aA	0,13 a	-
NV <i>TN</i> (%)	RNPM						
	Mistura	0,14 aA	0,08 aB	0,12 aA	0,12 aA	0,13 a	-
	Controle	0,13 aA	0,11 aA	0,12 aA	0,12 aA	0,12 a	-
	Control						
	MPDR	0,44 aA	0,40 aA	0,50 aA	0,45 aA	0,44 a	-
NV <i>TN</i> (kg/dia) (<i>kg/day</i>)	RPM						
	MNPDR	0,46 aA	0,48 aA	0,50 aA	0,47 aA	0,43 a	-
	RNPM						
	Mistura	0,46 aA	0,45 aA	0,46 aA	0,45 aA	0,46 a	-
	Controle	0,48 aA	0,43 aA	0,51 aA	0,46 aA	0,43 a	-
NNP <i>NPN</i> (%)	Control						
	MPDR	0,12 aA	0,09 aA	0,13 aA	0,11 aA	0,11 a	-
	RPM						
	MNPDR	0,13 aA	0,11 aA	0,12 aA	0,11 aA	0,12 a	-
	RNPM						
NNP <i>NPN</i> (kg/dia) (<i>kg/day</i>)	Mistura	0,13 aA	0,08 aB	0,11 aA	0,11 aA	0,12 a	-
	Controle	0,12 aA	0,10 aA	0,12 aA	0,11 aA	0,11 a	-
	Control						
	MPDR	0,03 aA	0,07 aA	0,03 aA	0,03 aA	0,04 a	-
	RPM						
NNP <i>NPN</i> (%)	MNPDR	0,03 aA	0,03 aA	0,03 aA	0,03 aA	0,04 a	-
	RNPM						
	Mistura	0,03 aA	0,03 aA	0,04 aA	0,03 aA	0,06 a	-
	Controle	0,03 aA	0,05 aA	0,03 aA	0,04 aA	0,04 a	-
	Control						
NNP <i>NPN</i> (kg/dia) (<i>kg/day</i>)	MPDR	0,01 aA	0,02 aA	0,01 aA	0,01 aA	0,01 a	-
	RPM						
	MNPDR	0,01 aA	0,01 aA	0,01 aA	0,01 aA	0,01 a	-
	RNPM						
	Mistura	0,01 aA	0,01 aA	0,01 aA	0,01 aA	0,01 a	-
NNP <i>NPN</i> (kg/dia) (<i>kg/day</i>)	Controle	0,01 aA	0,01 aA	0,01 aA	0,01 aA	0,01 a	-
	Control						

^{a,b} Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$). ^{a,b} Means followed by same small letters in the column do not differ to each other for the Tukey test ($P>0,05$).

^{A,B} Em cada tratamento, médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre grupos de vacas pelo teste de Tukey ($P>0,05$). ^{A,B} In each treatment, means followed by same letter capital in the line do not differ among groups of cows for the Tukey test ($P>0,05$).

Tabela 5 – Teores e produções de nitrogênio caseico (NC), nitrogênio do soro (NS) e nitrogênio uréico (NUL) do leite, nas diferentes fases da lactação, para vacas de maior produção de leite (grupo 1) e de menor produção de leite (grupo 2).

Table 5 - Contents and productions of casein nitrogen (CN), whey nitrogen (WN) and urea nitrogen (MUN) of milk, in the different phases of lactation, for cows with higher production (group 1) and of smaller milk production (group 2)

Nutrientes Nutrients	Tratamentos Treatments	Fases da Lactação Phases of lactation					
		Pico Peak	Pós-pico Post-peak	Meio Middle			
		Grupo 1 Group 1	Grupo 2 Group 2	Grupo 1 Group 1	Grupo 2 Group 2	Grupo 1 Group 1	Grupo 2 Group 2
NC CN (%)	MPDR	0,35 aA	0,36 aA	0,42 aA	0,34 aA	0,37 a	-
	RPM						
	MNPDR	0,37 aA	0,41 aA	0,42 aA	0,34 aA	0,35 a	-
	RNPM						
	Mistura Mixture	0,37 aA	0,37 aA	0,38 aA	0,35 aA	0,38 a	-
NC CN (kg/dia) (kg/day)	Controle Control	0,37 aA	0,37 aA	0,38 aA	0,35 aA	0,38 a	-
	MPDR	0,09 aA	0,08 aA	0,11 aA	0,08 aA	0,10 a	-
	RPM						
	MNPDR	0,10 aA	0,09 aA	0,10 aA	0,08 aA	0,10 a	-
	RNPM						
NS WN (%)	Mistura Mixture	0,10 aA	0,06 aA	0,09 aA	0,08 aA	0,10 a	-
	Controle Control	0,10 aA	0,08 aA	0,10 aA	0,09 aA	0,10 a	-
	MPDR	0,09 aA	0,04 aA	0,08 aA	0,09 aA	0,07 a	-
	RPM						
	MNPDR	0,09 aA	0,07 aA	0,07 aA	0,22 aA	0,23 a	-
NS WN (kg/dia) (kg/day)	RNPM						
	Mistura Mixture	0,09 aA	0,08 aA	0,07 aA	0,20 aA	0,23 a	-
	Controle Control	0,09 aA	0,08 aA	0,07 aA	0,20 aA	0,07 a	-
	MPDR	0,02 aA	0,01 aA	0,02 aA	0,02 aA	0,02 a	-
	RPM						
NUL MUN (mg/dL) (mg/dL)	MNPDR	0,02 aA	0,02 aA	0,02 aA	0,02 aA	0,02 a	-
	RNPM						
	Mistura Mixture	0,02 aA	0,01 aA	0,02 aA	0,02 aA	0,02 a	-
	Controle Control	0,02 aA	0,02 aA	0,02 aA	0,02 aA	0,02 a	-
	MPDR	9,5 aA	9,5 aA	11,1 aA	9,2 aA	10,3 a	-
	RPM						
	MNPDR	8,5 aA	8,5 aA	11,5 aA	9,9 aA	9,1 a	-
	RNPM						
	Mistura Mixture	8,4 aA	11,9 aA	11,3 aA	10,9 aA	9,8 a	-
	Controle Control	8,3 aA	10,3 aA	9,4 aA	10,3 aA	10,0 a	-

^{a,b} Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$). ^{a,b}

Means followed by same small letters in the column do not differ to each other for the Tukey test ($P > .05$).

^{A,B} Em cada tratamento, médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre grupos de vacas pelo teste de Tukey ($P > 0,05$). ^{A,B} In each treatment, means followed by same letter capital in the line do not differ among groups of cows for the Tukey test ($P > .05$).

Não foram observadas diferenças significativas diante da suplementação com fontes de metionina nas diferentes fases da lactação, quer se considere o grupo de vacas de maior produção de leite ou o de menor produção de leite, nas diferentes fases da lactação, quando foram alimentadas com ração deficiente em proteína. O valor médio de NV no leite no pico foi de 0,37%, no pós-pico de 0,38% e no meio da lactação de 0,37%.

ALDRICH et al. (1993) reportaram efeitos na caseína do leite quando infundiram metionina e lisina no duodeno. Alguns anos depois, PISULEWSKI et al. (1996) observaram aumentos na proteína do leite acompanhados de pequenos aumentos na caseína. Ao suplementarem com 0, 12 e 24 g/dia de metionina foram obtidos 0,36; 0,37 e 0,39% de caseína no leite, respectivamente, sendo superiores em 3 e 5%, respectivamente, para suplementação com 12 e 24 g/dia em relação ao tratamento controle. Nesta pesquisa, não foram observados aumentos ($P > 0,05$) nos teores de caseína do leite, concordando com os resultados obtidos por GUILLAUME et al. (1991) e GUINARD & RULQUIN (1995). DOLKIN et al. (1989) haviam encontrado diminuições na kapa caseína diante da suplementação com aminoácidos.

Os teores e as produções de soro no leite não diferiram entre tratamentos, em ambos os grupos de vacas, nas diferentes fases da lactação (Tabela 5).

O NNP do leite corresponde à menor fração protéica da matéria protéica do leite (5%), sendo que alterações, nesta fração, são muito difíceis de ocorrerem. O NNP do leite é composto por amônia, uréia, creatinina, ácido úrico, vitaminas, aminos, amidas, aminoácidos livres, portanto o NUL faz parte desta fração protéica do leite. Atualmente, o NUL serve com um indicativo da eficiência de utilização da proteína da ração pelas vacas conforme PEREZ (2001), no entanto, ainda são poucos os trabalhos e este artifício tem sido utilizado principalmente no Brasil. Este autor ainda comentou que seria interessante que o NUL estivesse entre 10 a 16 mg/dL.

As vacas deste estudo foram alimentadas com deficiência em PNDR na ração, sendo supridos 91 % dos requerimentos em proteína bruta. O NUL não foi influenciado pela suplementação com metionina nas diferentes fases da lactação, quer se considerem vacas de maior ou de menor produção de leite (Tabela 5). Concordando com os resultados obtidos nesta pesquisa, SOCHA et al. (1994 a e b) não observaram efeitos sobre o NUL quando suplementaram as vacas com metionina.

No pico da lactação, quando as vacas são mais exigentes em proteína, foram observados os mais baixos valores de NUL (em média 8,6 mg/

dL). Isto significou que a proteína dietética provavelmente foi convertida em leite e proteína do leite. Assim, pode-se inferir que há necessidade de se reverem as exigências protéicas de vacas com elevadas produções de leite. Tanto para vacas do grupo 1 quanto para as do grupo 2, os valores de NUL encontram-se dentro do recomendado por PEREZ (2001). Embora não tenha sido evidenciada diferença significativa, observou-se que quando as vacas do grupo 1 foram suplementadas com MPDR, o NUL foi 12, 19 e 14 % superior em relação aos tratamentos MNPDR, mistura e controle, respectivamente, sugerindo que, quando suplementadas com 8,4 g/dia MPDR, apresentaram pior aproveitamento da proteína.

No pós-pico da lactação, para vacas do grupo 1, os valores de NUL aumentaram em relação à fase anterior, obtendo-se, em média 11,4 mg/dL, o que evidenciou bom aproveitamento da proteína da dieta nesta fase, segundo PEREZ (2001). Porém, para vacas controle, no pico da lactação, os valores foram ainda mais baixos (9,4 mg/dL), sugerindo que a suplementação com metionina promove um aumento no NUL. Vacas de menor produção no pós-pico da lactação responderam semelhantermente ao pico da lactação.

CONCLUSÕES

A proteína bruta do leite e as frações nitrogenadas do leite não foram influenciadas pela deficiência em PNDR da dieta.

A qualidade da matéria protéica do leite não foi alterada diante da suplementação com fontes de metionina.

O nível de produção das vacas não influenciou na resposta à suplementação com fontes de metionina em dietas deficientes em PNDR.

Os valores de NUL, embora dentro dos limites considerados satisfatórios, não evidenciaram consistentes efeitos dos níveis de produção das vacas nem dos tipos de suplementação com metionina.

É necessário rever os requerimentos protéicos de vacas leiteiras com elevadas produções de leite, portanto, mais estudos são necessários.

ABSTRACT

Eight Holstein dairy cows were used to study the effect of the supplementation with 8.4 g/day of rumen protected methionine (RPM) or non protected methionine (RNPM) or methionine mixture (50%RPM + 50% RNPM), comparatively to control cows, on the nitrogen fractions and milk protein composition during the peak, post-peak and middle of the lactation. The cows in initial phase of lactation were divided in two

groups according to milk production (MP), group-1 was formed by cows with MP $\geq$ 25.0 kg/day and group-2 by cows with MP < 25.0 kg/day. Both groups were fed with ration containing corn silage and concentrate and formulated to provide deficiency of 23% of rumen undegradable protein (RUP) and 13.4% of crude protein (DM basis). The supplementation with methionine sources did not affect the milk protein, the total nitrogen, true nitrogen, nitrogen casein, non protein nitrogen, whey nitrogen, and urea nitrogen of the milk during the peak, post-peak, and middle of the lactation. The level of milk production of the cows was not influenced by the methionine sources. It is necessary to review the protein requirements of lactating cows with high milk production in tropical conditions.

Key-words: casein, milk urea nitrogen, non protein nitrogen, total nitrogen, whey nitrogen

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALDRICH, J. M. et al. Effect of somatotropin administration and duodenal infusion of methionine and lysine on lactational performance and nutrient flow to the small intestine. *British J. Nutr.*, v. 69, p. 49-58, 1993.
- ARMENTANO, L. E. et al. Lactation. response to rumen-protected methionine, or methionine with lysine in diets based in alfalfa haylage. *J. Dairy Sci.*, v. 76, suppl. 1, p. 202, 1993. Abstract 167.
- ARMENTANO, L. E. et al. Response of lactating cows to methionine, or methionine plus lysine added to high protein diets based on alfalfa and heated soybeans. *J. Dairy Sci.*, v. 80, n. 6, p. 1194-1199, 1997.
- ASSOCIATION OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 15. ed. Washington, 1990. v. 1, 1117p.
- BEHMER, M. L. A. **Tecnologia do leite: produção, industrialização e análise**. 15. ed. São Paulo : Nobel, 1987. p.321.
- BREMMER, D. R. et al. Production and composition of milk from Jersey cows administered bovine somatotropin and fed ruminally protected amino acids. *J. Dairy Sci.*, v. 80, n. 7, p. 1374-1380, 1997.
- CANALE, C. J. et al. Dietary fat and ruminally protected amino acids for high producing dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 73, n. 1, p. 135-41, 1990.

CASPER, D. P. et al. Protected methionine supplementation with an extruded blend of soybeans and soybean meal for dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 70, n. 2, p. 321-8, 1987.

CLARK, J. H. T. et al. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 75, p. 2304-2323, 1992.

DONKIN, S. S. et al. Rumen-protected methionine and lysine: effects on animal performance, milk protein yield, and physiological measures. *J. Dairy Sci.*, v. 72, p. 1484-91, 1989.

EXPO NACIONAL DOS MUNICÍPIOS. São Paulo: Estado de São Paulo, Rede Municipalista de divulgação e imprensa, 1974. p. 404.

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

GUILLAUME, B. et al. Raw or extruded soybeans and rumen-protected methionine and lysine in alfalfa-based diets for dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 74, n. 6, p. 1912-22, 1991.

GUINARD, J., RULQUIN, H. Effects of graded amounts of duodenal infusions of methionine on the mammary uptake of major milk precursors in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 78, n. 10, p. 2196-207, 1995.

HOLMES, C. W., WILSON, C. F. **Produção de Leite a Pasto**. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1990. 708p.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Determination of the casein content of milk. *Int. Dairy Fed.*, v. 29., 1964. 12p.

KALIL, E. B. **Técnica experimental com animais**. São Paulo: Instituto de Zootecnia, 1971. 177p.

KUNG, L., RODE, L. M. Amino acid metabolism in ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v. 59, p. 167-172, 1996.

LEHENAFF, L. et al. Lactational responses to postprandial infusions of amino acids (AA) in dairy cows fed with maize silage, hay or grass silage. *Reprod. Nutr. Dev.*, suppl. 2, 1990. (abstract 237).

MERCHEN, N. R.; TITGEMEYER, E. C. Manipulation of amino acid supply to growing ruminant. *J. Anim. Sci.*, v. 30, p. 3237-3247, 1992.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrients requirements of dairy cattle**. 6.ed. Washington: National Academy Press, 1989. 157p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrients requirements of dairy cattle** (NRC). Washington: DC.: National Academy Press, 2001. 381p.

OVERTON, T. R. et al. Evaluation of a ruminally protected methionine product for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 79, n. 4, p. 631-638, 1996.

PATTERSON, H. D.; LUCAS, H. L. **Change-over designs**. North Carolina: Agriculture Experimental Station, 1962. 53p.

PEREZ, J. R. **Avaliação do nitrogênio uréico do leite: sintonia fina na nutrição**. Disponível em: <http://www.milkpoint.com.br/seções/radar.asp?dicasid=54&secoisid=1> Acesso em 3 abr. 2001.

PIEPENBRINK, M. S. et al. Response of cows fed a low crude protein diet to ruminally protected methionine and lysine. *J. Dairy Sci.*, v. 79, n. 9, p. 1638-1646, 1996.

PISULEWSKI, P. M. et al. Lactational and systemic response of dairy cows to postprandial infusions of increasing amounts of methionine. *J. Dairy Sci.*, v. 79, n. 10, p. 1781-1791, 1996.

POLAN, C. E. et al. Response of dairy cows to supplemental rumen-protected forms of methionine and lysine. *J. Dairy Sci.*, v. 74, n. 9, p. 2997-3013, 1991.

RIOS, D. P. et al. The effects of methionine supplementation upon milk composition and production of forage-fed dairy cows. *Can. J. Anim. Sci.*, v. 79, n. 2, p. 235-241, 1999.

ROBINSON, P. H. et al. Influence of postprandial supplementation of methionine and lysine, isoleucine, or all three amino acids intake and chewing behavior, ruminal fermentation, and milk and milk component production. *J. Anim. Sci.*, v. 77, n. 10, p. 2781-1792, 1999.

RODRIGUEZ, N. M. Exigência em aminoácidos para vacas de alta produção. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, SEMINÁRIO SOBRE TECNOLOGIA DA PRODUÇÃO DE RAÇÕES, 1996, Campinas. *Anais...* p. 102-137.

ROGERS, J. A. et al. Production response of dairy

cows fed various amounts of rumen-protected methionine and lysine. *J. Dairy Sci.*, v. 72, p. 1800-17, 1989.

RULQUIN, H., DELABY, L. Effects of energy status on lactational responses of dairy cows to rumen protected methionine. *J. Dairy Sci.*, v. 72, suppl. 1, p. 91, 1994. Abstract 346.

RULQUIN, H. et al. Milk production and composition as a function of postprandial lysine and methionine supply: a nutrient response approach. *Livest. Prod. Sci.*, v. 37, p. 69-90, 1993.

SANCANARI, J.B.D; et al. Efeito do fornecimento de metionina protegida e não protegida da degradação ruminal sobre a produção de leite de vacas holandesas. In: REUNIÃO LATINO AMERICANA DE PRODUÇÃO ANIMAL, 16, 2000, Uruguai, *Anais...*, p. 1-9. CD ROM.

SANCANARI, J.B.D. et al. Efeito da metionina protegida e não protegida da degradação ruminal sobre a produção e composição do leite de vacas Holandesas. *Rev. Bras. Zootec.*, v. 30, n. 1, p. 286-294, 2001 a.

SANCANARI et al. (2001) Matéria protéica do leite de vacas holandesas suplementadas com diferentes fontes de metionina. In: REUNION LATINOAMERICANA DE PRODUCCION ANIMAL, XVII, 2001, Havana - Cuba. *Anais...*, p. 52 e trabalho na íntegra em CDROM. (DP 60), 2001 b

SANCANARI, J. B. D et al. Efeito da metionina protegida e não protegida da degradação ruminal sobre a produção e composição do leite de vacas alimentadas com deficiência de proteína na ração. In: REUNION LATINOAMERICANA DE PRODUCCION ANIMAL, XVII, 2001, Havana - Cuba. *Anais...*, p. 58 e trabalho na íntegra em CDROM. (DP 85), 2001 c

SANTOS, F. A. P. et al. Effects of rumen undegradable protein on dairy cows performance: A 12-year literature review. *J. Dairy Sci.*, v. 81, p. 3182-3213, 1998.

SCHINGOETH, D. J. Dietary influence on protein level in milk and milk yield in dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v. 60, p. 181-190, 1996.

SCHWAB, C. G. Optimizing amino acids nutrition for optimum yields of milk and milk protein. *Proc. Southwest Nutr. Manage. Conf. Phenix, AZ, Univ. Arizona, Tucson*, p. 114-129, 1994.

SCHWAB, C. G. Rumen-protected amino acids for dairy cattle : progress towards determining lysine and methionine requirements. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v. 59, p. 87-101, 1996.

SCHWAB, C. G.; SOCHA, M. T. **Opportunities for rumen protected lysine and methionine in lactating dairy cows nutrition.** Rône-Poulenc Animal Nutrition Symposium. April 20, guelph, Ontario, Mississauga, Ontario: RPAN, p. 3-28, 1993.

SCHWAB, C. G. et al. Amino acid limitation and flow to duodenum at four stages of lactation.1. Sequence of lysine and methionine limitation. *J. Dairy Sci.*, v. 75, n. 12, p. 3486-3502, 1992a.

SCHWAB, C. G. et al. Amino acid limitation and flow to duodenum at four stages of lactation.1. Extent of lysine limitation. *J. Dairy Sci.*, v. 75, n. 12, p. 3503-3518, 1992b.

SEYMOUR, W. M. et al. Effects of dietary protein degradability and casein or amino acids infusions on production and plasma amino acids

in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 73, n. 3, p. 735-48, 1990.

SILVA, D. J. *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos.* Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 1990. 166p.

SOCHA, M. E.; SCHWAB, C. G. Developing dose-response relationships for absorbable lysine and methionine supplies in relation milk and milk protein production from published data using the University of New Hampshire equations. *J. Anim. Sci.*, Suppl. 2, 1994. Abstract 124.

SOCHA, M. E. et al. Determining methionine requirements of dairy cows during peak lactation by postruminally infusing incremental amounts of methionine. *J. Dairy Sci.*, v. 77, suppl.1, 1994a. Abstract 350.

SOCHA, M. E. et al. Determining methionine requirements of dairy cows during mid lactation by postruminally infusing incremental amounts of methionine. *J. Dairy Sci.*, v. 77, suppl.1, 1994b. Abstract 351.

CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DE QUEIJO CATIARA COMERCIALIZADO EM LAVRAS - MG

Victor Maximiliano Reis Tebaldi¹
Thales Leandro Coutinho de Oliveira²
Guilherme Cabral de Ávila Ramalho²
Luis Ronaldo de Abreu³
Roberta Hilsdorf Piccoli³

RESUMO

Para se ter queijo de qualidade, busca-se cada vez mais matéria-prima dentro de padrões higiênico-sanitários, não deixando de se ressaltar cuidados no processo de fabricação, no transporte e comercialização do produto, higienização correta dos equipamentos utilizados e cuidados na manipulação do queijo em qualquer dessas etapas. O queijo produzido na Região da Serra da Canastra - MG fabricado a partir de leite cru destaca-se por ter legislação vigente pela lei 14.185 do Estado de Minas Gerais que regulamenta a fabricação deste tipo de queijo. Contudo poucos produtores conseguem colocar no mercado esse tipo de queijo em condições higiênico-sanitárias adequadas. O objetivo do trabalho foi avaliar as condições higiênico-sanitárias, do queijo tipo Catiara obtido da Região da Canastra (MG) comercializado em Lavras-MG e levantar parâmetros de qualidade para contribuir para o desenvolvimento das ações da Vigilância Sanitária. Foram coletadas 5 amostras no comércio e realizadas as análises de coliformes a 35°C e 45°C, estafilococos coagulase positiva, contagem de fungos filamentosos e leveduras e pesquisa de *Salmonella* sp. Sugere-se que os padrões microbiológicos a serem seguidos sejam os adotados para queijos de média umidade, uma vez que não existe uma legislação microbiológica específica para o tipo de queijo analisado.

Palavras-chave: queijo Catiara, contaminação, análises microbiológicas.

1. INTRODUÇÃO

O leite é um alimento universalmente conhecido pelo seu alto valor nutricional, fator que o torna um dos principais alimentos para o homem e capaz de alojar e servir como meio de crescimento para inúmeros microrganismos deteriorantes e patogênicos como *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, dentre outros (BONASSI et al., 1997; PONSANO et al., 2001).

A qualidade higiênica do leite depende de vários aspectos, tais como estado sanitário dos animais, habilidade do ordenhador e higienização de equipamentos e de todas as superfícies que entram em contato com o produto. Qualidade esta que interfere diretamente na qualidade e na capacidade do produto final ser um potencial veiculador de patógenos.

A fabricação de queijo Minas com leite cru é uma tradição de mais de dois séculos em Minas Gerais, principalmente na Serra da Canastra e no

Serro. A Secretaria da Agricultura de Minas através do regulamento da Lei nº 14.185 do Instituto Mineiro de Agropecuária deseja alavancar essa produção em condições que possam ampliar a participação do Serro e Canastra no mercado, mas para isso é necessário que as queijarias locais sigam as boas práticas de fabricação.

As alterações microbiológicas evidenciadas nos queijos são oriundas das condições de processamento, considerando-se a qualidade do leite, da água, da cultura láctea, da adição de enzima, da temperatura de incubação e maturação, da umidade, adição de sal e manipulação, como os principais parâmetros determinantes na multiplicação de microrganismos deteriorantes e patogênicos no produto aliados a condições de transporte e comercialização (MADALENA, 2001).

Segundo a Organização Mundial de Saúde, mais de 60% das doenças de origem alimentar são provocadas por agentes microbiológicos, ressaltando que o manipulador é o principal veículo desta transmissão, seja no processo de fabricação

1 Biólogo. Mestrando em Microbiologia Agrícola . Universidade Federal de Lavras
2 Graduandos em Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Lavras
3 Professores Drs do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras

ILCT

ou comercialização do produto (SILVA Jr., 2001). Além dos manipuladores, os equipamentos, utensílios e superfícies mal higienizados também têm sido incriminados em surtos de doença de origem alimentar (HOBBS & ROBERTS, 1998).

O queijo Catiara por passar por uma acentuada manipulação, apresenta condições propícias para a contaminação, sobrevivência e multiplicação bacteriana; e muitas dessas bactérias podem ser patogênicas ou produzir metabólitos microbianos que poderão causar intoxicações e ou infecções alimentares no ser humano.

Os queijeiros de Minas Gerais produzem 215 mil toneladas, metade de todo o queijo que os brasileiros consomem - 2,3 quilos per capita por ano; o país de maior consumo individual é a Grécia, com 26,6 quilos/ano, seguida da França, com 24,5 quilos anuais. Outra característica do segmento é que 83% das propriedades têm menos de 100 hectares. O substrato principal desse dinamismo é a pequena escala e um dos elos referenciais é o queijo artesanal.

Este trabalho teve como objetivo avaliar as condições higiênico-sanitárias, do queijo tipo Catiara da Região da Canastra (MG) comercializado em Lavras - MG, e contribuir para o desenvolvimento das ações da Vigilância Sanitária local, referente à prevenção de agravos à saúde pública.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção das amostras de queijo

Foram utilizadas 5 amostras de queijo Catiara adquiridas no comércio varejista da cidade de Lavras-MG e transportadas para o Laboratório de Microbiologia do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras.

2.2. Preparo das amostras

Cada uma das amostras foi preparada pesando 25 g em sacos plásticos estéreis, onde foi acrescido 225 mL de citrato de sódio a 2% homogeneizando-as para análises de coliformes a 35°C e 45°C, estafilococos coagulase positiva, fungos filamentosos e leveduras e *Salmonella* sp. Todas as análises microbiológicas foram realizadas de acordo com ICMSF (1983).

a- Determinação de coliformes a 35°C e termotolerantes

A partir das diluições adequadas, foram retiradas alíquotas de 1 mL e transferidas para

séries de 3 tubos contendo caldo LST e homogeneizadas. Os tubos foram incubados à 35°C por 24/48 h. Os tubos positivos foram observados pela turvação e produção de gás em tubos de Durhan, sendo transferida alíquota com auxílio de alça de platina, para tubos contendo Caldo Bile Verde Brilhante incubados a 35°C/24-48 horas, uma alíquota dos tubos que apresentaram-se positivos para caldo bile verde brilhante foi transferida com auxílio de uma alça de platina para tubos contendo Caldo EC e incubados a 45°C/24-48 horas em banho-maria para confirmação de coliformes a 45°C.

b- Contagem de fungos filamentosos e leveduras

Para enumeração de fungos filamentosos e leveduras foi empregado o meio BDA, acrescido de ácido tartárico, utilizando-se o método de plaqueamento em superfície, semeando-se com alça de Drigalsk, seguido de incubação à 25°C por 5 dias.

c- Contagem de estafilococos coagulase positiva

O número total de *Staphylococcus* foi determinado utilizando-se a técnica de plaqueamento em superfície empregando o meio Baird-Parker (35°C/48 h), com posterior transferência de colônias suspeitas de *Staphylococcus aureus* (colônias com halo) e não suspeitas para caldo BHI, sendo as mesmas incubadas à 37°C/24 h. Após crescimento em BHI realizou-se a confirmação pela coloração de Gram, teste da catalase e coagulase em plasma de coelho-EDTA.

d- Contagem de *Salmonella*

Para a detecção de *Salmonella* fez a incubação de 25 g de cada amostra em água peptonada tamponada por 18 h à 37°C para o pré-enriquecimento, decorrido esse período foram transferidas alíquotas de 1 mL para os caldos Rappaport e Tetrationato para o enriquecimento, sendo os mesmos incubados à 37°C por 24 h. Após crescimento nesses caldos fez-se o plaqueamento seletivo em ágar Rambach e Hektoen à 37°C por 24 h e seleção bioquímica pelo Ágar TSI e LIA.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos após análise são mostrados na Tabela 1.

TABELA 1. Resultados obtidos após quantificação de coliformes a 35°C e 45°C para as 5 amostras de queijo Catiara comercializados no município de Lavras-MG

Amostras	QUEIJO CATIARA	
	Coliformes a 35°C (NMP/g)	Coliformes termotolerantes (NMP/g)
1	2,4 x 10 ³	2,4 x 10 ³
2	2,4 x 10 ³	2,4 x 10 ³
3	2,4 x 10 ³	2,4 x 10 ³
4	2,4 x 10 ³	2,4 x 10 ³
5	2,4 x 10 ³	2,4 x 10 ³

O teste confirmativo para coliformes a 35°C e 45°C revelou-se positivo em todos os tubos inoculados com as amostras. As amostras analisadas encontram-se acima dos padrões estabelecidos pela legislação sugerida, ainda não aprovada. Sabe-se que os coliformes termotolerantes pertencem a um grupo de microrganismos que habita exclusivamente o trato intestinal do homem e outros animais, portanto, a sua presença no produto pode ser interpretada como indicador de contaminação fecal, ou seja, de condições higiênico-sanitárias insatisfatórias. Demonstrando que estas amostras encontram-se impróprias para consumo humano.

Não se observou a presença de colônias de fungos filamentosos, porém houve alta contagem de leveduras, as quais podem ser observadas na Tabela 2.

TABELA 2. Contagem de leveduras em placas de ágar BDA expressa em UFC/mL das 5 amostras de queijo Catiara comercializadas em Lavras-MG:

AMOSTRAS	UFC/mL
1	1,06 x 10 ⁷
2	1,31 x 10 ⁷
3	1,07 x 10 ⁷
4	9,91 x 10 ⁶
5	1,03 x 10 ⁷

Alguns fungos filamentosos são produtores de micotoxinas as quais podem ocasionar grandes prejuízos a saúde humana e animal, não podendo ser encontrados em contagens elevadas. Entretanto altas contagens de leveduras foram detectadas, fornecendo assim informações, tais como, condições higiênico-sanitárias deficientes; multiplicação no produto em decorrência de falhas no

processamento e/ou, estocagem; matéria-prima com contaminação excessiva.

TABELA 3. Contagem de estafilococos coagulase positiva expressa em UFC/mL das 5 amostras de queijo Catiara analisadas.

AMOSTRAS	UFC/mL	CATALASE	COAGULASE
1	1,4 x 10 ⁷	positivo	positivo
2	1,1 x 10 ⁷	positivo	positivo
3	7,5 x 10 ⁶	positivo	positivo
4	1,3 x 10 ⁷	positivo	positivo
5	1,1 x 10 ⁷	positivo	positivo

Os níveis de contaminação por estafilococos coagulase positiva foram alarmantes. Apresentam-se fora dos padrões estabelecidos pelo IMA como um potencial veiculador de toxínose pois sabe-se que dentre as espécies de estafilococos coagulase positiva encontra-se *Staphylococcus aureus* que em níveis de 10⁵ UFC/g já são capazes de produzir enterotoxinas que é uma das principais causas de toxínose alimentar.

De acordo com as análises realizadas não foi detectada a presença de *Salmonella* sp. em nenhuma das amostras analisadas.

4. CONCLUSÃO

Todas as amostras analisadas encontravam-se impróprias para consumo humano por estarem fora dos padrões legais vigentes. Dados estes que serão aproveitados pela Vigilância Sanitária de Lavras para se confirmar sobre a qualidade microbiológica de queijo tipo Catiara comercializados no município de Lavras-MG.

5. ABSTRACT

To obtain cheese with quality searches are made for raw material with hygienical and sanitary standars. Attention must be paid during the process of fabrication, in the transport and comercialization, as also in the correct hygienization in the equipment to be used. It is important to take care in the handling of the cheese at any of these stages. The cheese produced in the Serra da Canastra region in Minas Gerais State, from fresh milk, stands out for having a specific legislation (law 14.185 of the State of Minas Gerais). Nevertheless few producers are able to set this type of cheese in the market with the appropriate hygienical sanitary standars. The aim of the work was to evaluate the hygienical and sanitary conditions on the Catiara cheese type obtained from the

Canastra region in the State of Minas Gerais, marketed in Lavras city and to evaluate the quality parameter to contribute to the development of actions on the Sanitary Vigilance. Five samples were collected in the market and analysis were conducted on coliforms at 35°C and at 45°C, estafilococcus coagulase positive, filamentous fungi counting, yeasts and reaserch of Salmonella sp. It is suggested that the microbiological standards to be followed be the ones used for cheese with medium moisture, since there is not especified a legislation for this type of cheese.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DANGLA, I. G., SOLLIS, R. M., BAQUERO, C. et al. Calidad microbiológica de los quesos producidos a nivel artesanal en Costa Rica. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, Santiago, v. 35, n. 3, p. 466-479, 1985.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. Editora Atheneu, São Paulo, 2002.

HOBBS, B.C; ROBERTS, S. *Toxinfecções e controle higiênico-sanitário de alimentos*.

São Paulo: Varela. 1998. 6ª ed. 376 p.

MADALENA, F.C. 'A cadeia do leite no Brasil'. In: *Produção de leite e sociedade: Uma análise crítica do leite no Brasil*. Ed. MADALENA, F.C.; MATOS, L.L.; JUNIOR, C.U.M. Belo Horizonte: FEPMU 2000.

PONSANO, E.H.G.; PINTO, M.F.; DELBEM, A.C.B.; DE LARA, J.A.F.; PERRI, S.H.V. "Avaliação da qualidade de amostras de leite cru comercializado no município de Araçatuba e potenciais riscos decorrentes de seu consumo" *Revista Higiene Alimentar*, vol. 15, nº 55, 1998, p. 31-34.

SILVA, Jr.E.A. *Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos*. São Paulo: Varela, 4ª ed., 2001, 475 p.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. Editora Varela, São Paulo, 2001, 2ª ed.

SIQUEIRA, R. S. da. *Manual de microbiologia de alimentos*. EMBRAPA-CTAA, Rio de Janeiro, 1995, 159 p.

PONTOS CRÍTICOS DE CONTROLE NA PASTEURIZAÇÃO DO LEITE EM MICROUSINAS

Timm, C.D.¹
Roos, T.B.²
Gonzalez, H.L.²
Oliveira, D.S.¹

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, observa-se em todo o mundo um rápido desenvolvimento e aperfeiçoamento de novos métodos de detecção de agentes de natureza biológica, química e física causadores de moléstias nos seres humanos e nos animais. Muitos destes agentes são passíveis de veiculação pelos alimentos, sendo motivo de preocupação por parte de entidades voltadas à saúde pública. (BRASIL, 1998)

Ao mesmo tempo, aumentam as perdas de alimentos e matérias-primas em decorrência de processos de deterioração de origem microbiológica, infestação por pragas e beneficiamento ineficaz, com severos prejuízos financeiros às indústrias de alimentos, à rede de distribuição e aos consumidores. (BRASIL, 1998)

Face a esse contexto, às novas exigências sanitárias e aos requisitos de qualidade, o governo brasileiro, junto com a iniciativa privada, vem desenvolvendo desde 1991, a implantação de um sistema de produção e controle, com base na Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC). (BRASIL, 1998)

APPCC pode ser definido como um sistema de análise que identifica perigos específicos e medidas preventivas para seu controle, objetivando a segurança do alimento e contemplando os aspectos de garantia da qualidade e integridade econômica. Baseia-se na prevenção, eliminação ou redução dos perigos em todas as etapas da cadeia produtiva. O APPCC não é um método de inspeção, mas sim um sistema dinâmico de controle de qualidade que fornece valiosas informações ao sistema clássico de inspeção; o Ministério da Agricultura adotou este sistema de gerenciamento de qualidade do processo industrial porque, além de assegurar os objetivos propostos, torna mais eficaz o serviço de Inspeção Federal. (VIALTA, 2002)

O APPCC é uma ferramenta para controle de processo e não para o ambiente onde o processo

ocorre. Embora o APPCC seja um sistema amplo para a garantia da inocuidade, da qualidade e da integridade do alimento, não é único e independente (BRASIL, 2003).

Para a implantação de um plano APPCC é necessário que a indústria adote Boas Práticas de Fabricação (BPF), ou seja, medidas higiênico-sanitárias apropriadas, conforme preconizado no Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênico-sanitárias e de Boas Práticas de Elaboração para Estabelecimentos Elaboradores/Industrializadores de Alimentos (BRASIL, 1997). Quando o programa de BPF não é eficientemente implantado e controlado, pontos críticos de controle adicionais são identificados, monitorados e mantidos sob a égide do Plano APPCC. Portanto, a implantação das BPF irá viabilizar e simplificar o Plano APPCC, assegurando sua integridade e eficiência, com o objetivo de garantir a segurança dos alimentos. (GUIA PARA ELABORAÇÃO DO PLANO APPCC, 1999)

Em 2003, entrou em vigor a Resolução DIPOA/SDA nº 10, do Ministério da Agricultura e Pecuária (BRASIL, 2003), que instituiu o Programa Genérico de Procedimentos-padrão de Higiene Operacional – PPHO, o qual, juntamente com as Boas Práticas de Fabricação, constituem-se em pré-requisitos essenciais à implantação do APPCC.

Uma vez atendidos os pré-requisitos, a elaboração de um plano APPCC alicerça-se na identificação de pontos críticos de controle (PCC), que são aquelas etapas do fluxograma de produção que apresentam riscos de ocorrência de perigos que não são controlados pelas medidas preventivas (BPF e PPHO) e não são eliminados em etapas subsequentes.

A cadeia do leite no Brasil, em parte por estar vulnerável a oscilações de mercado e políticas econômicas nem sempre voltadas aos interesses do setor, tem sofrido instabilidades frequentes, não garantindo segurança às diferentes partes que

¹ Professores de Inspeção de Leite e Derivados, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas
² Médicas Veterinárias

ILCT

A tradição que desenvolve a tecnologia

a integram. Como via alternativa, tem surgido, nos últimos anos, em várias regiões do país, pequenas indústrias destinadas ao processamento de pequenos volumes de leite, as quais tem buscado e ocupado determinados nichos de mercado. Uma forma destas microusinas consolidarem-se no mercado é oferecendo produtos com padrões estáveis de qualidade.

O presente trabalho não tem por objetivo sugerir um plano APPCC para microusinas de leite, mas sim identificar pontos críticos de controle, a partir de um fluxograma básico de processamento, que possam ser monitorados em qualquer usina, independentemente da necessidade de controle de pontos críticos adicionais.

2. OBJETIVO

Identificar pontos críticos de controle na pasteurização de leite em microusinas.

3. METODOLOGIA

A partir do fluxograma de processamento industrial de pasteurização de leite observado em seis microusinas da região sul do Rio Grande do Sul, foi estabelecido um fluxograma básico para identificação de PCC (figura 1).

Recepção do leite: o leite deverá estar com acidez máxima de 18°D e isento de qualquer tipo de fraude.

1ª filtração: a primeira filtração tem por finalidade remover as impurezas maiores.

Resfriamento: o leite deve ser resfriado no máximo a 4°C.

Estocagem do leite cru: a estocagem deve ser feita em tanques isotérmicos para dificultar a troca térmica do leite com o meio ambiente.

2ª filtração: a segunda filtração tem como objetivo remover as impurezas menores.

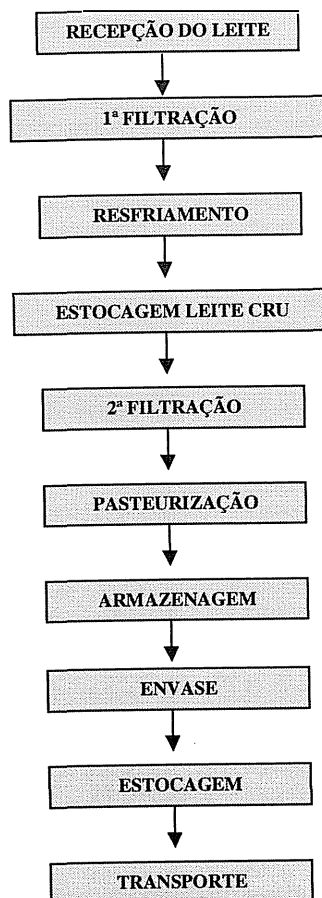


Figura 1: Fluxograma básico de pasteurização do leite

Pasteurização: o leite é aquecido a 72-75°C durante 15-20 segundos, com a finalidade principal de eliminar microrganismos patogênicos, e imediatamente resfriado.

Armazenagem: o leite pasteurizado deve ser estocado a 4°C, no máximo.

Envase: o produto é embalado em sacos de polietileno de baixa densidade.

Estocagem: o leite embalado é estocado em câmaras frias até a expedição.

Transporte: o leite é transportado em caminhões com câmaras refrigeradas.

Os pontos críticos de controle, o monitoramento, os limites críticos, as medidas de correção e a forma de verificação foram determinados seguindo a sequência de sete princípios recomendada pelo Manual de procedimentos para APPCC em indústrias de produtos de origem animal (BRASIL, 1998).

Princípio 1: Identificação dos perigos, analise dos riscos e consideração das medidas preventivas de controle.

Perigos podem ser contaminantes de natureza biológica, química ou física que pode causardano à saúde ou à integridade do consumidor.

Os riscos foram analisados em relação a sua importância para a saúde pública, a perda da qualidade de um produto e a sua integridade econômica.

Princípio 2: Identificação dos pontos críticos de controle e aplicação da árvore decisória.

PCC é qualquer ponto, etapa ou procedimento que apresenta um perigo não controlado pelas BPF e não eliminado em uma etapa posterior.

A árvore decisória (diagrama decisório dos PCC) consiste em uma série de perguntas para determinar se uma matéria-prima ou etapa do processo é um PCC (figura 2).

Princípio 3: Limites críticos para cada PCC.

Os limites críticos são os valores que separam os produtos aceitáveis dos não aceitáveis, podendo ser qualitativos ou quantitativos. O estabele-

QUESTÃO 1 – Existe(m) medida(s) preventiva(s) para o perigo?

SIM

NÃO

O controle nessa etapa é necessário para a segurança?

NÃO

SIM

Modificar a etapa, processo ou produto

NÃO É PCC

QUESTÃO 2 – Esta etapa elimina ou reduz o perigo a níveis aceitáveis?

NÃO

SIM

PCC

QUESTÃO 3 – O perigo pode aumentar a níveis inaceitáveis?

SIM

NÃO

NÃO É PCC

QUESTÃO 4 – Uma etapa subsequente eliminará ou reduzirá o perigo a níveis aceitáveis?

SIM

NÃO

NÃO É PCC

PCC

Figura 2: Arvore decisória (BRASIL, 1998)

cimento destes limites foi baseado no conhecimento disponível em fontes, tais como: regulamentos e legislação, literatura científica ou dados de pesquisa.

Princípio 4: Sistema de monitoramento para cada PCC.

O monitoramento deve ser capaz de detectar qualquer desvio do processo com tempo suficiente para que as medidas corretivas possam ser adotadas antes da distribuição do produto.

Princípio 5: Ações corretivas.

As ações corretivas devem ser específicas e suficientes para a eliminação do perigo após a sua aplicação.

Princípio 6: Documentação e procedimentos de registro.

Todos os dados e informações obtidas durante o processo de vigilância, de verificação, resultados laboratoriais, etc., devem ser registrados em formulários próprios.

Princípio 7: Procedimentos de verificação.

O monitoramento dos PCC deve ser alvo de verificação, como forma de garantir sua perfeita execução.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir do fluxograma utilizado no trabalho, foram identificados quatro PCC (figura 3). Os dois primeiros na etapa de recepção do leite, apresentando como perigo a presença de inibidores decorrente da não observação do período de carência necessário para o envio à indústria do leite de animais tratados com antibióticos. O outro perigo observado nesta etapa foi a produção de toxinas por *Staphylococcus aureus*, a qual tem sido responsável por intoxicações alimentares. A manutenção do leite a baixas temperaturas impede que estas bactérias se multipliquem a ponto de produzir toxinas em quantidade suficiente para provocar intoxicações em humanos. O terceiro PCC considerado foi na segunda filtração, quando podem permanecer sujidades no leite após a passagem pelo filtro, caso este não esteja íntegro e permeável. O quarto PCC identificado foi a pasteurização que, se não for corretamente realizada, pode permitir a sobrevivência de microorganismos patogênicos, com possíveis consequências de ordem sanitária para os consumidores do produto.

Identificados os pontos críticos de controle, foram estabelecidos os limites críticos,

a forma de monitoramento, a ação corretiva caso o limite seja ultrapassado e a verificação do monitoramento (figura 4).

5. CONCLUSÃO

O presente trabalho apresenta pontos críticos de controle em um fluxograma mínimo para pasteurização do leite. Dependendo da microusina, outros pontos críticos de controle podem ser identificados, conforme o fluxograma utilizado e a eficiência da aplicação de Boas Práticas de Fabricação.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL, Leis, Decretos, etc... Manual genérico de procedimentos para APPCC em indústrias de produtos de origem animal. Portaria n° 46, de 10/02/98, Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Diário Oficial da União**, 16/03/98, seção I, 1998.

BRASIL, Leis, Decretos, etc... Programa de procedimentos-padrão de higiene operacional (PPHO) nos estabelecimentos de leite e derivados. Resolução DIPOA/DAS n° 10, de 22/05/2003, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Diário Oficial da União**, 28/05/2003, seção I, p. 4-5, 2003.

BRASIL, Leis, Decretos, etc... Regulamento técnico sobre as condições higiênicas-sanitárias e de boas práticas de elaboração para estabelecimentos elaboradores/industrializadores de alimentos. Portaria n° 368, de 04/09/97, Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Diário Oficial da União**, 08/09/97, n° 172, seção I, 1997.

GUIA PARA ELABORAÇÃO DO PLANO APPCC; LATICÍNIO E SORVETES. Projeto APPCC. Convênio CNI/SENAI/SEBRAE. Brasília, SENAI/DN, 1999. 173 p.

VIALTA, A.; MORENO, I.; VALLE, J.L.E. Boas práticas de fabricação, higienização e análise de perigos e pontos críticos de controle na indústria de laticínios: l-requeijão. **Indústria de Laticínios**, n. 37, p. 56-63, 2002.

ETAPAS DO PROCESSO	IDENTIFICAÇÃO DO PERIGO	MEDIDAS DE CONTROLE	PCC
Recepção do leite	Antibióticos (Q)	Realização de testes para verificação da presença de resíduos de antibióticos	Sim
	Microorganismos patogênicos (B)	Pasteurização	Não
	Toxinas de <i>Staphylococcus aureus</i> (B)	Controle de temperatura para prevenir a produção de toxinas	Sim
1ª filtração	Sujidades e corpos estranhos (F)	Filtros em boas condições; nova filtração em etapa subsequente	Não
Resfriamento/Estocagem	Multiplicação de microorganismos patogênicos (B)	Pasteurização	Não
	Acidez (Q)	Controle da temperatura	Não
	Toxinas (B)	Controle da temperatura	Não
2ª filtração	Sujidades e corpos estranhos (F)	Filtro em boas condições	Sim
Pasteurização	Sobrevivência de microorganismos patogênicos (B)	Tempo e temperatura de pasteurização	Sim
Armazenagem	Acidez (Q)	Controle da temperatura	Não
	Recontaminação (B)	Programa prévio para prevenir a contaminação pós-pasteurização	Não
Envase	Recontaminação (B)	Programa prévio para prevenir a contaminação pós-pasteurização	Não
Estocagem	Acidez (Q)	Controle da temperatura	Não
Transporte	Acidez (Q)	Controle da temperatura	Não

Figura 3: Determinação de Pontos Críticos de Controle em microusina de leite

PCC	Risco	Ponto de controle	Limite crítico	Monitoramento	Ação corretiva	Verificação
Recepção do leite	Resíduos de antibiótico	Testes de detecção de resíduos de antibióticos	Ausência	Testes de detecção de antibióticos em todos os tanques	Descarte do leite e comunicação aos fornecedores	Verificação de técnicas e observação da validade dos kits
Recepção do leite	Toxina de <i>Staphylococcus aureus</i>	Temperatura de chegada do leite	10°C	Medição da temperatura em todos os tanques	Descarte/ aproveitamento condicional	Aferição de termômetros
2ª filtração	Sujidades e corpos estranhos	Filtro em boas condições	Ausência de danos e obstruções	Inspeção visual a cada turno	Troca do filtro	Supervisão
Pasteurização	Sobrevivência de microrganismos patogênicos	Tempo e temperatura	72 a 75°C por 15 a 20s	Inspeção do marcador de temperatura e do tempo de retenção do leite	Ajuste de tempo e temperatura	Aferição de equipamentos e instrumentos/ pesquisa de peroxidase e fosfatase

Figura 4: Mapa descritivo para microusina de leite

A melhor companhia para o seu produto

Os produtos Macalé possuem mais do que a experiência de uma empresa pioneira, possuem antes a qualidade de quem soube se antecipar ao futuro.

- Coalhos
- Fermentos
- Aromas
- Corantes
- Estabilizantes
- Reagentes
- Conservantes
- Polpas de frutas
- Vidrarias
- Fôrmas diversas
- Meios de cultura
- Uniformes

Faça do MACALÉ seu parceiro em ingredientes e acessórios para seu laticínio.

MACALÉ

Distribuidor Autorizado



Produtos Macalé Ltda.

Rua Humberto de Campos, 42/44 - Santa Terezinha

CEP 36045-450 - Juiz de Fora - MG

Telefendas: (32) 3224-3035

E-mail: macalef@zaz.com.br

QUEIJO MINAS ARTESANAL DA REGIÃO DO SERRO: AVALIAÇÃO DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* E SUAS ENTEROTOXINAS

Maximiliano Soares Pinto¹
José Manoel Martins¹
Romilda A. B. Monteiro Araújo²
Maria Crisolita Cabral da Silva³
Célia Lúcia de Lucas Fortes Ferreira⁴

RESUMO

Queijo Minas artesanal produzido nas regiões de Araxá, Serra da Canastra, Alto do Paranaíba e do Serro recentemente foram tombados como patrimônio imaterial. São produzidos com leite cru e devem ser produzidos com segurança alimentar para não apresentarem risco à saúde do consumidor. Não existem dados correlacionando o número de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) nestes queijos e a presença de enterotoxinas. Nesta experimentação determinou-se em 14 unidades produtoras em diferentes municípios da região do Serro, a contagem total de *S. aureus* (CTS) em kits rápidos de identificação e de enterotoxinas pelo teste imunoenzimático em sistema automatizado mini Vidas. Metade das amostras apresentou CTS (log) na faixa de 5,04 - 6,0 ufc/g. Em 29% e 21% das unidades produtoras essas contagens ficaram entre 4,04-5,04 ufc/g e 6,0-7,0 ufc/g, respectivamente. No entanto, nenhuma das amostras apresentou níveis detectáveis de enterotoxinas. Embora o número amostral seja pequeno, observa-se que o sistema vivo representado por uma microbiota diversa, competitiva, rica em bactérias do ácido láctico, de alguma forma atua desfavorecendo a produção da enterotoxina. Estudos nesta área devem ser estimulados pois, somente o entendimento dos componentes do sistema que afetam a produção e o acúmulo das enterotoxinas estafilocócicas nos queijos feitos com leite cru, parâmetros adequados que garantam a segurança alimentar, e exequíveis, poderão ser definidos.

Palavras-chave: queijos artesanais, enterotoxinas, *Staphylococcus aureus*, contagem bacteriana

INTRODUÇÃO

Os queijos artesanais produzidos nas regiões de Araxá, Serra da Canastra, Alto Paranaíba e do Serro foram recentemente tombados como patrimônio imaterial (lei 14.185, de 31 de janeiro de 2002, aprovado pelo decreto 42.645, de 5 de junho do mesmo ano) e estudos para diagnosticar o atual quadro de adequação desses queijos têm sido realizados. O resultado desses estudos e a implementação das alterações nas unidades produtoras, no manuseio, transporte e comercialização são esperados para que o consumo desses produtos não represente qualquer risco para a saúde do consumidor. Além disso, o incremento na qualidade desses produtos resultante da reorientação nos diversos aspectos dessa cadeia alimentar permitirá que a tradição de Minas Gerais na produção de queijos artesanais seja mantida, assim como a garantia da sustentabilidade desse segmento da agricultura familiar.

Existe uma relação entre contaminação alimentar e gastroenteritis. A presença de *Staphylococcus aureus* representa um dos principais agentes etiológicos dessa patologia, sendo que os derivados de leites e carnes estão entre os principais carreadores das enterotoxinas responsáveis pela doença. Outras espécies como *S. intermedius* e *S. hyicus* também são enterotoxigênicas (Adeniyun et al., 1984; Hirooka et al., 1988). Além disso tem aumentado o número de estirpes coagulase negativas produtoras de enterotoxinas. Na área médica tais estirpes são geralmente consideradas comensais do corpo humano sendo frequentemente encontradas na boca, garganta e em outros nichos ecológicos específicos. Estirpes das espécies *S. simulans*, *S. xylosus*, *S. equorum*, *S. lentus* e *S. capitis* podem produzir enterotoxina E, e as de *S. chromogenes*, enterotoxina C (Vernozy-Rozand et al., 1996). Ultimamente, no entanto, essas estirpes têm assumido importância pelo aumento de incidência

e de patogenicidade (Von Eiff, 2002). No entanto o papel de tais estirpes na intoxicação alimentar não se encontra devidamente documentado (Lotter, 1977; Bennet, 1996). As enterotoxinas estafilocócicas (SE) pertencem a família de exotoxinas pirogênicas (estafilocócicas e estreptocócicas), que compartilham relações filogenéticas, e funcionais. Podem ainda produzir e secretar proteínas que exibem atividade de super antígeno (Sag) (Balaban e Rasooly, 2000). São classificadas em SEA (Staphylococcal Enterotoxin A), SEB, SEC (SEC1, 2 e 3), SED, SEE, SEF, SEG, SEH, SEJ (Carmo e outros, 2002). Uma enterotoxina SEK foi descrita (Orwin e outros, 2001). Dessas, a SEA tem sido indicada como prevalente (Holmberg, 1984). A elevada resistência térmica é provavelmente uma das características físicas mais importantes das enterotoxinas estafilocócicas e esse conhecimento tem sido utilizado no processo de identificação das mesmas, especialmente em kits rápidos de identificação. Além disso essa característica faz com que a atividade biológica dessas toxinas seja mantida após o processamento térmico geralmente aplicado aos alimentos (Holeckova e outros, 2002), indicando que uma matéria prima já contaminada com enterotoxinas estafilocócicas não estará isenta do seu potencial contaminante mesmo se tratada termicamente.

Após ingestão do alimento contaminado, as toxinas chegam até o sangue absorvidas pela parede intestinal, ativam um reflexo emético, produzindo náusea, vômito, cólicas, diarreia, podendo também ocorrer dores de cabeça, tonteira e calafrios (Simeão e outros, 2002; Holeckova e outros, 2002).

Em bovinos, estirpes estafilocócicas coagulase positivas e coagulase negativas estão geralmente relacionadas à mastite subclínica e crônica (Leitner et al., 2003). Podem estar presentes em queijos produzidos com fermento pouco ativo (Gilmour e Harvey, 1990). Estirpes estafilocócicas podem desenvolver-se nos queijos durante o processamento e nos primeiros estágios da maturação (Tuckey et al., 1964). Contagens acima de 10^7 UFC/g têm sido relacionadas ao acúmulo de enterotoxinas em diversos tipos de queijos (Tatini et al., 1971). Em queijos Manchego (Tatini et al., 1973) e Brick (Gomez-Lucia, et al., 1986) a presença de toxinas está relacionada a contagens de 10^6 UFC/g. Embora o número de Staphylococci decresça durante a maturação, as enterotoxinas formadas podem persistir por longos períodos não eliminando o risco da intoxicação (Kolecková et al., 2002). O queijo Minas artesanal é feito com leite cru e bactérias lácticas endógenas são adicionadas na forma de pingos, em substituição aos fermentos comerciais.

O pingo é soro-fermento que resulta do dessoramento do queijo produzido no dia anterior, rico em sal e em bactérias do ácido láctico. Esse direcionamento do processo com o fermento endógeno geralmente resulta numa fermentação favorável, e em queijos com um padrão organoléptico característico da região. Quando o leite não é obtido de maneira higiênica, ou quando as práticas de fabricação não são acompanhadas de práticas assepsicas suficientes para evitar contaminação, a segurança alimentar do produto final pode apresentar-se comprometida. Uma das principais preocupações dos produtores e dos responsáveis pelas vigilância sanitária é a colocação no mercado de um produto sem riscos para o consumidor. Uma contaminação máxima de $1,0 \times 10^3$ UFC/g de queijo é atualmente um dos parâmetros microbiológicos determinados pela legislação estadual vigente. Inexiste, no Brasil, dados que informem sobre a relação entre a população estafilocócica e a presença de toxinas nesses queijos. Informações sobre esses parâmetros são de importância para: i) verificar os níveis normalmente presentes nos queijos produzidos em diferentes regiões reconhecidas como produtoras de queijos artesanais, ii) definir e avaliar pontos críticos de fabricação, iii) reavaliar níveis estabelecidos pela legislação, iv) correlacionar população microbiana e níveis detectáveis de enterotoxinas, nos queijos v) permitir direcionamento para a adequação física das unidades produtoras, do manejo do rebanho e do treinamento de recursos humanos inseridos nas unidades produtoras.

MATERIAL E MÉTODOS

Nesta experimentação queijos coletados de 14 diferentes unidades produtoras em 05 municípios da região do Serro foram avaliados para a presença de *Staphylococcus aureus* e para a presença de suas enterotoxinas. As determinações microbianas foram feitas nos laboratórios de culturas lácticas do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, empregando-se kits rápidos de identificação (Biomerieux). A presença de enterotoxinas foi determinada pelo teste qualitativo imunoenzimático: Vidas Staph Enterotoxin (SET, 30701, Bio Merieux, Marcy-Létoile, França) no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Fundação Ezequiel Dias (FUNED), Belo Horizonte, Minas Gerais. O teste permite a detecção simultânea de 7 diferentes enterotoxinas (SEA, SEB, SEC, SEC2, SEC3, SED e SEE). A detecção foi feita no sistema automatizado Vidas Set, de acordo com instrução dos fabricantes.

- 1 Doutorando em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Viçosa (UFV);
- 2 Mestranda em Ciência dos Alimentos, UFV;
- 3 Chefe do Serviço de Microbiologia, Fundação Ezequiel Dias, Belo Horizonte, MG; 4 Prof. Titular, UFV, 36570.000 Viçosa/MG.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as amostras apresentaram CTS (contagem total de *Staphylococcus*) acima daquelas permitidas pela legislação atual para queijos artesanais (decreto 42 645 de 5 de junho de 2002). Metade das amostras (7) apresentaram números que ficaram na faixa de $1,1 \times 10^5$ - $1,0 \times 10^6$. Queijos de 29% (4) das unidades produtoras apresentaram UFC/g que ficaram entre $1,1 \times 10^4$ e $1,1 \times 10^5$, e portanto um a dois ciclos logarítmicos acima do máximo atualmente permitido ($1,0 \times 10^2$ - $1,0 \times 10^3$). Os restantes 21% (3) foram de queijos que continham concentrações na faixa de 10^6 a 10^7 UFC/grama). De acordo com trabalhos desenvolvidos em outros tipos de queijos concentrações de 10^6 UFC/g estão relacionadas com o acúmulo de toxinas em alguns queijos (Tatini et al., 1973; Gomez-Lucia et al., 1986). Mas há relatos onde concentrações maiores e menores estão envolvidas com detecção de toxinas estafilocócicas em alimentos (Otero e outros, 1988). Nesta avaliação, nenhuma das amostras de queijo do Serro analisadas, colhidas em 14 propriedades da região apresentou concentração de enterotoxinas em níveis detectáveis. Os resultados encontram-se no Quadro 1.

Quadro 1- Contagem (UFC/g) de *Staphylococcus aureus* e determinação de enterotoxinas em amostras de queijos artesanais da região do Serro, Minas Gerais.

Amostra	log ufc/g	Teste imunoenzimático (positivo/negativo)
1	7,17	negativo
2	4,74	negativo
3	5,28	negativo
4	7,17	negativo
5	5,11	negativo
6	5,72	negativo
7	7,11	negativo
8	4,15	negativo
9	5,48	negativo
10	4,65	negativo
11	5,84	negativo
12	4,48	negativo
13	5,46	negativo
14	5,26	negativo

Esse diagnóstico parcial talvez explique em parte, a baixa incidência de notificações relacionando o consumo de queijo Minas artesanal e toxinfecções. Embora em situação de cultura pura concentrações acima de 10^5 UFC/g possam estar relacionados ao acúmulo de toxinas no meio, o leite cru por possuir uma microbiota diversificada, dominada por bactérias lácticas, provavelmente

promove uma proteção natural inerente ao sistema vivo, que é direcionado pela presença de uma microbiota favorável do pingo (fermento endógeno). Observações feitas em outros tipos de queijos artesanais produzidas em diferentes regiões do mundo indicam efeito antagonista de bactérias lácticas a *Staphylococcus aureus* (Nuñez et al., 1986; Gaya et al., 1988; Coppola,). Um sistema microbiano favorável onde o leite cru é originado de animais sadios, aliado a boas práticas de fabricação e a uma unidade de fabricação que atende aos requisitos básicos podem constituir a base para a colocação no mercado de um produto com segurança alimentar para o consumidor, capaz de manter no campo o produtor rural e de manter a tradição já reconhecida como um patrimônio imaterial e que deve ser preservada.

CONCLUSÃO

Embora a contagem estafilocócica elevada não deva ser justificada em queijos e ou em qualquer outro produto para consumo humano, ao se falar em segurança alimentar em relação a este grupo microbiano, a detecção da toxina parece ser a medida mais apropriada para garantir esta segurança. A preocupação que tem atualmente o produtor rural em produzir um queijo com a melhor qualidade possível aliada a informações geradas pela pesquisa desses queijos, tem acumulado dados e informações que num futuro próximo poderão contribuir para a decodificação dos processos biológicos e bioquímicos que, com certeza, protegem o queijo feito de acordo com uma tradição centenária. Sugere-se que a determinação de enterotoxinas seja feita numa amostragem exaustiva representativa das quatro regiões para se avaliar o impacto desse grupo microbiano na segurança alimentar do queijo Minas artesanal. Além disso, deve-se incrementar estudos na área de fisiologia das espécies bacterianas coagulase negativas, determinando-se as condições ótimas para a produção de enterotoxinas. Essas enterotoxinas podem ter características diferentes daquelas já estabelecidas para *S. aureus*. É importante que investimentos para a pesquisa aplicada sejam disponibilizados por instituições de fomento pois, somente após o entendimento dos componentes do sistema que afetam a produção e o acúmulo das enterotoxinas estafilocócicas nos queijos feitos com leite cru, parâmetros adequados e exequíveis poderão ser definidos.

SUMMARY

Artisanal cheeses produced in the regions of Araxá, Alto Paranaíba, Serra da Canastra, and Serro, have recently been preserved as imaterial

patrimony of the State of Minas Gerais. These cheeses are produced with raw milk and should have quality assurance and comply to the legislation, and should not constitute a risk to the consumer's health. There is no data relating *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) numbers and the presence of its enterotoxins. In this work it was determined the total counts of *S. aureus* (TCS) and enterotoxins were determined with immunoenzymatic tests in cheeses collected from fourteen farm units from the Serro's region. Half of the samples indicated a log of TCS in the range of 5,04-6,0 ufc/g. In 29% and 21% these counts were in the range of 4,04-5,05 ufc/g and 6,0-7,0 ufc/g, respectively. However, in none of these samples enterotoxins were detected. More studies in this area should pursue the mechanisms of enterotoxin production and inhibition in the raw milk system.

BIBLIOGRAFIA

- ADENIYUM, A. A., TATINI, S. R. e HOOVER, D. G. 1984. Production of enterotoxin(s) by *Staphylococcus hyicus*. *Vet. Microbiol.* 9:487-495.
- BALABAN, N. & RASOOLY, A. 2000. Staphylococcal enterotoxins. *Int. J. Food Microbiol.* 61, 1-10.
- BENNET, R. W. 1996. Atypical Toxigenic *Staphylococcus* and non-*Staphylococcus aureus* species on the Horizon? An update. *Food Prot.* 59:1123-1126.
- CARMO, L. S., DIAS, R. S., LINARDI, V. R., SENA, M. J., SANTOS, D. A., FARIA, M. E., PENA, E. C., JETT, M. e HENEINE, G. 2002. Food Poisoning due to enterotoxigenic strains of *Staphylococcus* present in Minas cheese and raw milk in Brazil. *Food Microbiology* 19:9-14.
- COPPOLA, S., PARENTE, E., DUMONTET, S., & LA PECERELLA, A. 1988. The microflora of natural whey starters in the manufacture of Mozzarella cheese from water-buffalo milk. *Lait* 68,, 295-310.
- EMATER, 2003. Relatório de diagnóstico socio econômico das regiões produtoras de queijo Minas artesanal. Belo Horizonte.
- GAYA, P., MEDINA, M., & NUNEZ, M. 1983. Accelerated decrease of Enterobacteriaceae counts during ripening of raw milk Manchego cheese by lactic culture inoculation. *J. Food Protect.* 46, 305-309.

GAYA, P., MEDINA, M., & NUNEZ, M. BAUTISTA, L. & NUNEZ, M. 1988. Influence of lactic starter inoculation, curd heating and ripening temperature on *Staphylococcus aureus* behaviour in Manchego cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 6:249-257.

GILMOUR, A., & HARVEY, J. 1990. Staphylococci in milk products. *J. Appl. Bacteriol.* 71 (Symposium Supplement) 147S-166S.

GLOBO RURAL, 2002. Queijo: Mineiros tentam ajustar modernidade na produção artesanal. *Revista Globo Rural*, Ano 17, n.200, 36-46, junho.

GOMEZ-LUCIA, E., BLANCO, J. L., GOYACHE, J., DE LA FUENTE, R., VAZQUEZ, J. A., FERRI, E. F. R. & SUAREZ, G. 1986. Growth and enterotoxin A production by *Staphylococcus aureus* S6 in Manchego type cheese. *J. Appl. Bacteriol.* 61, 499-503.

HOLECKOVA, B; HOLODA E., FOTTA M, KALINACOVA V., GONDOL J e J. GROLMUS. 2002. Occurrence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in Food. *Ann. Agric. Environm. Med.*, nº 9, 179-182.

HOLMBERG, S. D., BLAKE, P. A. 1984. Staphylococcal food poisoning in the United States. New facts and old misconceptions. *J. Am. Med. Assoc.* 251, 487-489.

HIROOKA, E. Y., MÜLLER, E. E., FREITAS, J. C., VICENTE, E., YOSHIMOTO, Y. & BERRGDOLL, M. S. 1988. Enterotoxigenicity of *Staphylococcus intermedius* of canine origin. *Int. J. Food Microbiol.* 7, 185-191.

LEITNER, G., KRIFUCKS, O., GLICKMAN, A., YOUNIS, A. & SARAN, A. 2003. Staphylococcus aureus strains isolated from bovine mastitis: virulence, antibody production and protection from challenge in a mouse model. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 35, 99-106.

LOTTER, L. P. e GENIGEORGIS, C. A. 1977. Isolation of coagulase-negative enterotoxigenic cocci. *Appl. Microbiol.* 28: 52-158.

NUÑEZ, M., CHAVARRI, F., GARCIA, B. & GAYTÁN, L. E. 1986. The effect of lactic starter inoculation and storage temperature on the behavior of *Staphylococcus aureus* and *Enterobacter cloacae* in Burgos cheese. *Food Microbiol.* 3:235-242.

ORWIN, P. M., LEUNG, D. Y., DONAHUE, H. L., NOVICK, R. P., SCHLIEVERT P. M. 2001. Biochemical and biological properties of staphylococcal enterotoxin K. *Infect. Immunol.* 69:360-366.

OTERO, A., GARCIA, M. C., GARCIA, M. L., PRIETO, M., MORENO, B. 1988. *Behavior of Staphylococcus aureus strains, producers of enterotoxins C₁ or C₂, during manufacture and storage of Burgos cheese.* *J. Appl. Bact.* 64, 117-122.

PARENTE, E., ROTA, M. A., RICCIARDI, A & CLEMENTI, F. 1997. Characterization of natural starter cultures used in the manufacture of pasta filata cheese in Basilicata (Southern Italy). *Int. Dairy J.* 7, 775-783.

SUTHERLAND, J. P., BAYLISS, A. S. & ROBERTS, T. A. 1994. Predictive modelling of growth of *Staphylococcus aureus*. The effects of temperature, pH and Sodium chloride. *Int. J. Food Microbiol.* 21, 217-236.

TATINI, S. R., JEZESKI, J. J., MORRIS, H.

A., OLSON, JR. J. C., & CASMAN, E. P. 1971. Production of Staphylococcal enterotoxin A in Cheddar and Colby cheeses. *J. Dairy Sci.*, 54, 815-825.

TATINI, S. R., WESSALA, W. D., JEZESKI, J. J. & MORRIS, H. A. 1973 Production of Staphylococcal enterotoxin A in Blue, Brick, Mozzarella and Swiss cheeses. *J. Dairy Sci.*, 56, 429-435.

TUCKEY, S. L., STILES, M. E., ORDAL, Z. J. & WITTER, L. D. 1964. Relation of cheese-making operations to survival and growth of *Staphylococcus aureus* in different varieties. *J. Dairy Sci.*, 47, 604-611.

VERNOZY-ROZAND, C., MAZUY, C., PREVOST, G., LAPREYRE, C., BES, M., BRUN, Y., & FLEURETTE, J. 1996. Enterotoxin production by coagulase-negative staphylococci isolated from goat's milk and cheese. *Int. J. Food Milk Microbiol.* 30, 271-280.

VON EIFF, C., PETERS, G. & HEILMANN, C. 2002. *Lancet Infect. Dis.* 2:677-685.

"IMPACTOS TECNOLÓGICOS CAUSADOS NA FABRICAÇÃO DE QUEIJOS PELOS RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS NO LEITE"

Renata Golin Bueno Costa¹
Verônica Lobato²

RESUMO

A presença de antibióticos no leite constitui um fator de risco para o consumidor, podendo causar vários problemas de saúde, tais como, alergias, resistência bacteriana e até mesmo choques anafiláticos em indivíduos suscetíveis. A introdução fraudulenta pelo produtor ou seu uso indiscriminado para o tratamento de infecções no gado leiteiro são as principais formas de contaminação do leite pelos antibióticos. Para a indústria, a presença de antibióticos em leite, mesmo em quantidades diminutas, acarreta problemas na fabricação de produtos fermentados (iogurtes, bebida láctea, queijos, coalhada), devido a sensibilidade das culturas lácticas a grande maioria dos antibióticos. Este artigo visa relatar os efeitos destes resíduos na fabricação de queijos e como a sua presença pode ser evitada.

(Furtado, 1999), e portanto permanecem no leite e seus produtos após o tratamento térmico.

1. EFEITOS DOS RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS NA INDÚSTRIA DE LATICÍNIOS

A presença de antibióticos em leite, mesmo em quantidades diminutas, acarreta problemas na fabricação de queijos, manteiga e produtos fermentados (iogurtes, bebida láctea, coalhada), devido à sensibilidade das culturas lácticas empregadas nestas tecnologias à grande maioria dos antibióticos utilizados no tratamento de doenças infecciosas dos animais. Os principais problemas causados na indústria laticinista incluem: diminuição do crescimento das bactérias do fermento láctico e maturação incorreta de queijos; dificuldades na produção de leites fermentados; diminuição da produção de ácido e *flavor* durante a produção de manteiga; diminuição do crescimento da cultura quando propagada em leite desnatado reconstituído e validade de certos testes de controle de qualidade. Isto resulta na obtenção de produtos inferiores que devem ser descartados, causando prejuízos à indústria, que arca com os custos de limpeza de equipamentos e com subsequente interrupção da programação de fabricação (IDFS, 1991; Bishop & White, 1984).

Os antibióticos, em sua maioria, são resistentes à pasteurização e à esterilização do leite, conforme os dados apresentados na Tabela 1

1.1. Influência dos resíduos na fabricação de queijos

Segundo Fagundes & Moulin (1988) os antibióticos agem sobre os fermentos utilizados na fabricação dos queijos. A penicilina na concentração de 10 a 500 UI/mL é capaz de inibir totalmente o crescimento do *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*. Concentrações acima de 500 UI/mL retardam o ponto de coagulação de forma dose-dependente porém, o valor máximo utilizado (5.000 UI/mL) não é suficiente para abolir este processo.

Normalmente, cocos são muito mais sensíveis do que bacilos aos antibióticos. O leite de animais recém tratados com penicilina G contém, em média, mais de 1 UI/mL (corresponde a 600 ppb de penicilina G), quantidade mais que suficiente para provocar a inibição total de qualquer bactéria láctica. Cocos são inibidos por 0,05-0,3 UI/mL de leite, enquanto que bacilos requerem de 0,3 a 0,6 UI/mL. Em queijos contendo *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii*, uma dose de 0,01 UI/mL provoca acidentes, tais como, a redução da atividade do fermento e prejuízos na fermentação propiônica, devido à forte sensibilidade destes microrganismos (Tabela 2) (Furtado, 1999).

1 Engenheira de Alimentos: renatagolin@bol.com.br
2 Professora DCA/UFLA/MG

ILCT

Tabela 1 - Estabilidade térmica dos antibióticos, expressa em percentual de inativação, após diferentes tratamentos térmicos

Antibiótico	% de destruição		
	72°C/ 15 segundos	90°C/ 30 minutos	100°C/ 30 minutos
Penicilina	8%	20%	50 %
Estreptomicina	-	-	66 %
Neomicina	-	-	66%
Clorotetraciclina	-	-	90 %
Oxitetraciclina	-	-	90 %
Cloranfenicol	0%	0%	0 %

Fonte: Furtado (1999)

Tabela 2 Sensibilidade das bactérias lácticas à penicilina

Microrganismo	Penicilina (UI*/ mL leite)	
	Inibição parcial	Inibição total
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	0,05-0,17	0,1-0,5
<i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>	0,0017	0,025
<i>Lactobacillus delbrückii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	0,1-0,3	0,3-0,6
<i>Lactobacillus helveticus</i>	0,3	-
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i>	0,017	-
<i>Propionibacterium freudenreichii</i> ssp. <i>shermanii</i>	0,01	0,05

Fonte: Furtado (1999)

*1 UI penicilina = 0,6 micrograma

Tabela 3 Sensibilidade de fermentos termofílicos e mesofílicos a diferentes antibióticos

Antibióticos (ppb)	Sensibilidade das culturas lácticas	
	Termofílicos (1)	Mesofílicos (2)
Penicilina	4 - 10	5 - 10
Tetraciclina	300 - 500	500 - 2000
Estreptomicina	500 - 5000	500 - 1000
Cloranfenicol	500 - 1000	200 - 300
Espiramicina	300 - 500	2000 - 4000

1) diferentes cepas de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*. 2) cepas individuais de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* / *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* e *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* em três cultivos mesclados. Fonte: Castañeda (2002)

Outros antibióticos também afetam o desenvolvimento das bactérias lácticas, assim como a penicilina e apresentam forte influência sobre fermentos termofílicos, constituído por diferentes cepas de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e fermentos mesofílicos (cepas individuais de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* / *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* e *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* em três cultivos mesclados) (Tabela 3) (Castañeda, 2002).

A acidificação promovida pela fermentação das bactérias lácticas adicionadas no processo tecnológico, tem diversos objetivos no queijo, tais

como, favorecer a drenagem do soro, regular o teor final de minerais e preparar a coalhada para a maturação, sendo esta etapa responsável pelas características finais do queijo, tais como, aroma, sabor, textura e consistência. O aumento da acidez deve-se a ação das bactérias lácticas que na presença de resíduos de antibióticos, leva a formação de uma coalhada sem acidez suficiente, queijos com dessora deficiente, apresentando alterações nas suas características sensoriais (Castañeda, 2002).

Segundo a Federação IDFS (1991) e Furtado (1999) alguns problemas são encontrados quando ocorre a fabricação do queijo com leite contendo antibióticos:

- fermentação do leite: o leite usado para a fabricação do fermento não coagula, mesmo tendo sido esterilizado por uma hora e repicado com cultura em plena atividade;
- ponto de massa: a massa no tanque não atinge o ponto, fica úmida e meio pastosa, mesmo após o cozimento e/ou semicozimento e agitação prolongada. Como o fermento é praticamente destruído, não há produção de acidez dentro do grão, que não adquire porosidade e retém mais soro;
- dessora: o queijo não dessora bem e mesmo após a prensagem, fica macio demais devido ao aumento da umidade na massa e quando pressionado com as mãos, após o corte, libera soro em quantidade anormal;
- fermentação do queijo: o queijo não fermenta adequadamente e portanto, o seu pH não abaixa aos níveis desejados. Por exemplo, um queijo Prato apresentaria pH entre 5,1 e 5,3 em 24 horas; com a inibição por antibióticos, o pH estaria muito acima desta faixa. Para a fabricação de queijo Mussarela ou Provolone a massa não fila e pode levar mais de 48 horas para fermentar de maneira adequada;
- formação de gás: aumenta o risco de formação de gás por coliformes, já que estes são muito mais resistentes a antibióticos do que as bactérias lácticas e

encontrarão no queijo um alto teor de lactose que não foi fermentada pelas bactérias lácticas. O queijo Camembert fabricado com leite contendo concentrações de penicilina de 0,5 - 1,0 UI/mL apresenta-se como um produto impregnado de gás. Para o queijo Cottage, pequenas concentrações de tetraciclina interagem com a caseína e cálcio, impedindo a coagulação (Fagundes & Moulin, 1988);

- maturação: o queijo não matura adequadamente, vindo a constituir o chamado "queijo morto", ou seja, um queijo meio borrachento, de sabor e aroma muito fracos (Federação IDFS, 1991 e Furtado, 1999).

Sbampato et al. (2000) avaliaram os efeitos da presença de resíduos de antibióticos (penicilina, estreptomicina e tetraciclina) sobre os aspectos tecnológicos da fabricação de queijo. Dentre os antibióticos utilizados, a penicilina nas concentrações de 100, 200 e 400 UI/mL não alteraram o tempo de coagulação do leite na fabricação de queijo, embora ocorreram uma coagulação deficiente e leve sinérese na concentração de 400 UI/mL. A utilização da estreptomicina (1, 2 e 4 UI/mL) provocou um aumento no tempo de coagulação proporcional às doses empregadas. Enquanto que, a concentração de tetraciclina de 4 mg/mL causou deficiência na coagulação do leite, devido a menor atuação do fermento e redução de acidificação (Tabela 4).

Tabela 4 Tempo médio (n = 4) de coagulação dos queijos

Tempo (min)	Testemunha	Tratamento								
		Penicilina (UI/mL)			Estreptomicina (UI/mL)			Tetraciclina (µg/mL)		
		100	200	400	1	2	4	1	2	4
40	X	X	X	X						
50					X			X	X	
55						X				X
60							X			

Fonte: Sbampato et al. (2000)

Tabela 5 Efeitos de diferentes concentrações de penicilina na fabricação de queijo tipo Suíço

Concentração de Penicilina no leite (UI/kg)	Acidificação (°D)	Evolução em 3 meses
3	59,2	Sem defeitos
5	52	Numerosas pequenas olhaduras/flavor forte
8	38	Fermentação butírica/ forte flavor indesejável
Controle	77,4	Sem defeitos

Fonte: Castañeda (2002)

Tabela 6 Efeitos da espiramicina, estreptomicina e tetraciclina na elaboração do queijo Suíço

Concentração no leite	Acidificação (°D)	Evolução em 3 meses
Espiramicina 1000 UI/kg	78,1	Odor de ácido butírico/flavor indesejável/olhaduras irregulares
Estreptomicina 1000 ppb	73	Pontos escuros na massa/forte flavor indesejável
Tetraciclina 200 ppb	68,2	Alguns pontos escuros/flavor indesejável
Controle	76	Sem defeitos

Fonte: Castañeda (2002)

Segundo Castañeda (2002) em concentrações muito baixas de penicilina (3 - 4 UI/kg) observa-se problemas na acidificação e na evolução sensorial do queijo tipo Suíço após 3 meses de maturação (Tabela 5). Outros antibióticos, tais como espiramicina, estreptomicina, tetraciclina, mesmo em baixas concentrações no leite também produzem graves problemas no queijo tipo Suíço durante sua elaboração e no final da sua maturação (Tabela 6).

2. MÉTODOS PARA DETECÇÃO DE RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS NO LEITE

Os primeiros testes utilizados para detecção de resíduos de antibióticos foram baseados na detecção da inibição de crescimento de organismos testes. No entanto, apresentavam como desvantagem o tempo prolongado (até 3 horas) para obtenção do resultado, tornando-se impraticável para a rotina de liberação de leite em plataformas de recepção da indústria. Nas décadas de 70 e 80 foram desenvolvidos testes rápidos e, atualmente, existem vários métodos de detecção comumente utilizados, tais como: testes inibidores de crescimento microbiano, testes imunológicos, testes receptores e enzimas e alguns métodos especiais (Mitchell et al., 1995).

Os testes para detecção de resíduos de antibióticos podem ser divididos em qualitativos, quantitativos ou semi-quantitativos. Os testes qualitativos empregam um valor de corte para classificar as amostras como positivas ou negativas relativamente à concentração de uma droga específica. Testes quantitativos exigem que controles abrangendo uma larga faixa de concentração de droga sejam testados com cada amostra, permitindo assim quantificar o resíduo pela extrapolação de uma curva padrão. Os testes semi-quantitativos são similares aos quantitativos, exceto pelo fato de que os resultados são interpretados relativamente a um intervalo de concentração da droga, isto é, negativo, relativamente positivo ou altamente positivo, comparados com um intervalo de controles feitos

as (Mitchell et al., 1998).

2.1. Tipos de testes utilizados na detecção de resíduos de antibióticos em leite

1. Testes baseados na inibição do crescimento bacteriano

Nestes testes a amostra de leite é colocada em contato com um microrganismo sensível. Adicionam-se nutrientes e, após um período de incubação, se houver a presença de resíduos na amostra, observa-se a ausência do crescimento bacteriano. Na ausência de resíduos, o crescimento bacteriano é evidenciado pela produção de ácido, redução de corantes ou pela formação de uma camada visível de crescimento na superfície de ágar (Carraro & Veiga, 2000).

As principais vantagens destes testes são: seu baixo custo, a facilidade de execução e a possibilidade de diversas amostras poderem ser analisadas simultaneamente. Como desvantagem, os testes microbiológicos apresentam um elevado tempo de incubação, além de poderem ser afetados por inibidores naturais (Mitchell et al., 1998). Alguns testes não podem ser realizados pelo produtor na fazenda, pois exigem equipamentos, instalações e pessoal adequados (Oliveira, 1998).

Como exemplo destes testes, têm-se: Delvotest P/SP, ADM, prova do disco (BSDA), método oficial brasileiro, método T.T.C., método da redutase modificado para detectar antibióticos no leite e método de acidificação do iogurte indicador (Carraro & Veiga, 2000).

2. Testes imunológicos

Os testes baseados em reações imunológicas e/ou enzimáticas oferecem uma alternativa prática aos sistemas microbiológicos, destacando-se: a rapidez e a simplicidade de execução; a exigência de menor conhecimento técnico na sua execução; a maior especificidade para determinados antibióticos e a possibilidade de detecção de outros agentes antimicrobianos, além dos antibióticos (Seymour et al., 1998).

Estes métodos são baseados na reação do antibiótico (antígeno) com um anticorpo

específico. Os testes que utilizam este princípio empregam substâncias radioativas, ou empregam enzimas, na técnica conhecida como ELISA. Alguns exemplos são: CITE Probe, Lac Tek e Charm II. Na técnica ELISA, quando uma amostra é positiva, há alteração de cor, que pode ser visualizada (Mitchell et al., 1998).

3. Testes receptores e enzimas

Diferente dos testes imunológicos, que empregam anticorpos específicos para detectar um antimicrobiano particular, alguns testes usam receptores específicos que detectam várias classes de substâncias antimicrobianas. Como exemplo, pode ser citado o SNAP, que é um teste enzimático, com receptor específico no qual os Beta-lactâmicos são capturados por uma proteína em um suporte plástico (Brito, 1998; Mitchell et al., 1998).

4. Métodos especiais

Estes métodos incluem: cromatografia gasosa e em camada delgada, HPLC, eletroforese, outros métodos enzimáticos e alguns métodos microbiológicos. Não são usados como rotina, mas para propósitos especiais, como por exemplo, em casos que necessitam confirmação. Esses testes permitem identificar e quantificar o antibiótico presente na amostra. Na maioria dos casos, há necessidade de equipamentos sofisticados e demandam pessoal treinado para o uso. Para alguns métodos químicos, o leite necessita ser desengordurado e desproteínizado antes da avaliação. (Brito, 1998).

A Tabela 7 apresenta os testes disponíveis comercialmente para detecção de resíduos de antibióticos no leite e o princípio em que se baseiam. Cada teste apresenta vantagens e desvantagens, como por exemplo, a ocorrência de falso-negativos, naqueles com baixa sensibilidade e de resultados falso-positivos, algumas vezes devido à presença de substâncias antimicrobianas naturais (lactoferrina, lisozima) ou mediadores do processo inflamatório, que interferem nos resultados dos testes (Costa, 1996). Segundo Mitchell et al. (1998) testes com baixa especificidade também leva a resultados falso-positivos. Andrew et al. (1997) obtiveram um aumento na probabilidade de falso-positivos possivelmente relacionado com o aumento da gordura e/ou proteína do leite. O aumento da contagem de células somáticas no leite durante a infecção intramamária, acompanhada de uma rápida elevação de componentes do plasma também produzem resultados falso-positivos (Carlsson et al., 1989).

Tabela 7 Testes disponíveis para detecção de resíduos de antibióticos no leite e o princípio em que se baseiam.

Princípio do Teste	Teste
Inibição do crescimento microbiano	Teste do disco BR-Test BR-Test "Blue Start" BR-Test AS Charm Farm Test Charm inhibition assay Delvotest - PÔ Delvotest - SPÔ
Receptor	Charm Cowside Test Charm I Test Charm II Test
Ligação a proteína	CITE Probe (Beta-lactâmicos) CITE Probe (tetraciclina, gentamicina) CITEO Sulfa-trio (sulfametazina, sulfatiazol, sulfametoxina)
Imunoenzimático (ELISA)	EZ-Screen Lactek (Beta-lactâmicos, sulfametazina, gentamicina) Signal Neomycin Detection Test, Signal Foresite Gentamicin, Signal Gentamicin, Signal Foresite Sulfamethazine
Enzima	Penzyme, IDEXX Snap test
Agglutinação em látex	Spot test

FONTE: Seymour et al. (1998); Fonseca & Santos (2000).

3. PREVENÇÃO DE RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS NO LEITE

A responsabilidade pela prevenção de resíduos de antibióticos no leite deve ser dividida entre o produtor rural, a indústria e os órgãos fiscalizadores. A prevenção básica baseia-se em respeitar o período de carência de cada fármaco indicado nas bulas dos medicamentos e também seguir alguns critérios de manejo, tais como:

- O uso de antibióticos no período seco (início da secagem) traz melhores resultados na cura de mastites (tanto clínica como subclínica). No entanto, seus princípios ativos são liberados mais lentamente e os períodos estabelecidos pelos fabricantes têm de ser respeitados rigorosamente;
- Ordenhar os animais em tratamento por

- último, separadamente do rebanho;
- Não misturar o leite de vacas tratadas ou em período de carência com o de outras. Identificar esses animais, primeiro na ficha de controle e, depois, com fitas ou cordas coloridas no pescoço, lápis marcadores;
- Lavar e higienizar bem tubulações e coletores ao usar ordenhadeiras mecânicas. O leite de até 20 vacas pode ser contaminado com apenas 25 mL de leite, de uma vaca tratada com antibiótico;
- Algumas vacas eliminam antibiótico no

leite em tempo superior ao normal, por razões como a via de administração e associações de medicamentos. Animais de maior produção tendem a eliminar esses produtos mais rapidamente;

- Aplicação de doses superiores, por tempo maior ou por vias não recomendadas pelo fabricante, determina períodos mais longos de eliminação do produto no leite (Produtor Parmalat, 2000).

A Tabela 8 apresenta o período de carência dos principais medicamentos veterinários para uso em vacas leiteiras.

Tabela 8 Período de carência dos principais medicamentos veterinários para uso em vacas leiteiras

Nome comercial	Princípio Ativo	Período de carência
Clamoxyl	Amoxicilina	3 dias
Clavamox	Amoxicilina	3 dias
Bovigan VS	Ampicilina + cloxacilina	5 dias
Ampiclox L.C.	Ampicilina + cloxacilina	5 dias
Agroplus	Ampicilina + sulfato de colistina + acetato de dexametsona	Após a 5ª ordenha
Vetimast	Cefacetil	4 dias
Riexine 500	Cefalexina + neomicina	6 a 10 dias
Rilexine 200	Cefalexina + neomicina + prednisolona	3 dias e meio ou após a 7ª ordenha
Cepravin	Cefalônio	Não administrar em vacas em lactação
Pathozone	Cefaperazone sódico	3 dias e meio
Spectrazol	Cefaroxina	Após a 5ª ordenha
Mastizone	Cefaperazone sódico	3 dias e meio
Quemicetina	Cloranfenicol	Não administrar em vacas em lactação
Coopertet L.A.	Cloridrato de oxitetraciclina	Não administrar em vacas em lactação
Oxitrat	Cloridrato de oxitetraciclina	Não administrar em vacas em lactação
Oxitape L. A	Cloridrato de oxitetraciclina	Não administrar em vacas em lactação
Landamicina AP-200	Cloridrato de oxitetraciclina	Não administrar em vacas em lactação
Talcin	Cloridrato de tetraciclina	Não administrar em vacas em lactação
Anamastit L-200	Cloxacilina	2 dias
Obenin Extra	Cloxacilina	Não administrar em vacas em lactação
Advocin	Danofloxacin	Não administrar em vacas em lactação
Tetradur L. A	Diidrato de oxitetraciclina	Não administrar em vacas em lactação
Baytril	Enrofloxacin	3 dias
Flotril	Enrofloxacin	3 dias
Nome comercial	Princípio Ativo	Período de carência
Iflox 10%	Enrofloxacin	3 dias
Neoflox 5%	Enrofloxacin	3 dias
Quinotril	Enrofloxacin	3 dias
Flumast	Espiramicina + neomicina	4 dias
Agromastit	Estreptomicina	4 dias
Nuflor	Florfenicol	Não administrar em vacas em lactação

Continua

Continuação

Nome comercial	Princípio Ativo	Período de carência
Antidiarréico vallee	Ftalilsulfatiazol + sulfamerazina + clortetraciclina	3 dias
Gentaflex	Gentamicina	5 dias
Gentocin	Gentamicina	5 dias
Gentrin	Gentamicina	5 dias
Mastifim	Gentamicina	5 dias
Leocilin injetável	Hidroiodeto de penetamato	3 dias
Lincocin forte	Lincomycin + neomicinaetilprednisolona	2 dias e meio
Neobiotic	Neomicina	1 dia e meio
Biotef	Neomicina + clorobutanol + hidrocortisona	1 dia
Furacin	Nitrofurazona	5 dias
Norflomax	Norflomax	5 dias
Bisolvomycina	Oxitetraciclina	Não administrar em vacas em lactação
Bivatop	Oxitetraciclina	Não administrar em vacas em lactação
Kuramicina	Oxitetraciclina	Não administrar em vacas em lactação
Oxtetraciclina L.A	Oxitetraciclina	Não administrar em vacas em lactação
Oxivet L.A	Oxitetraciclina	Não administrar em vacas em lactação
Reverlin	Oxitetraciclina	Não administrar em vacas em lactação
Teldrin	Oxitetraciclina	Não administrar em vacas em lactação
Terralon	Oxitetraciclina	Não administrar em vacas em lactação
Terramicina	Oxitetraciclina	Não administrar em vacas em lactação
Terramicina L.A	Oxitetraciclina	Não administrar em vacas em lactação
Pencivet	Penicilina + estreptomicina	Não administrar em vacas em lactação
Penfort	Penicilina + estreptomicina	Não administrar em vacas em lactação
Septipen	Penicilina + estreptomicina	Não administrar em vacas em lactação
Tetra-Delta	Penicilina + novobiocina + polimixina B + diidroestreptomicina	7 dias
Nome comercial	Princípio Ativo	Período de carência
Pentabiótico	Penicilina benzatina	3 dias
Potencilin	Penicilina G	3 dias
Agrodel 5.000.000	Penicilina G + estreptomicina	3 dias
Agropen	Penicilina G + sulfato de hidroestreptomicina	Após 10ª ordenha
Prontocilin	Penicilina G + sulfato de hidroestreptomicina	4 dias
Hertabiótico	Penicilina G benzatina + penicilina G procaína + penicilina G potássica + sulfato de estreptomicina	Não administrar em vacas em lactação
Agrovet 5.000.000	Penicilina G potássica + penicilina procaína + estreptomicina	2 dias
Agrovet Plus	Penicilina G procaína + diidroestreptomicina + piroxicam	3 dias
Agrovet PS	Penicilina G procaína + diidroestreptomicina	3 dias
Pirsue Gel Aquoso	Pirlimicina	1 dia e meio
Sulfamax	Sulfadiazina + trimetropim	3 dias
Tridex	Sulfadiazina + trimetropim	3 dias
Sulfametropim	Sulfameaxazol sódico + trimetropim	3 dias
Rodissulfa	Sulfametazina	5 dias

Continua

Continuação

Nome comercial	Princípio Ativo	Período de carência
Tridoxin	Sulfametaxazol	3 dias
Sultrin	Sulfametaxazol + trimetropim	3 dias
Sulfinjex	Sulfametoxipiridazina	3 dias
Cursonegril	Sulfamilacitamida	3 dias
Leocilin mastite aguda	Sulfato de framacetina, sulfato de diidroestreptomicina e hidroiodeto de penetamato	4 dias
Leocilin vaca seca	Sulfato de framacetina, penicilina benetamida e hidroiodeto de penetamato	Período seco mínimo de 28 dias
Micotil	Tilmicosina	Não administrar em vacas em lactação
Tyladen	Tilosina	4 dias
Tylan 200	Tilosina	4 dias
Bactrosina	Triidrato de amoxicilina	2 dias
Borgal	Trimetropim + sulfadiazina	5 dias
Tribissen	Trimetropim + sulfadiazina	5 dias
Trissulfin	Trimetropim + sulfadiazina	5 dias

Fonte: Produtor Parmalat (2000)

Segundo o Comitê do Codex Alimentarius (2000), a responsabilidade da indústria quanto a presença de resíduos de antibióticos no leite está centrada no controle de qualidade do leite cru na plataforma, por meio da detecção de resíduos de antibióticos e na orientação dos produtores rurais quanto às boas práticas de manipulação de leite. Os organismos fiscalizadores devem verificar os sistemas preventivos de resíduos de antibióticos na indústria para que sejam adequados, válidos e eficazes na manutenção de um abastecimento inócuo de leite e seus derivados. O processo de prevenção de resíduos de antibióticos na cadeia do leite deve ser efetuado em todas as etapas da cadeia, desde a obtenção da matéria prima até o produto final.

4. CONCLUSÃO

Segundo Mitchell et al. (1998), a população mundial continuará crescendo, e para atender essa demanda a produção animal se tornará cada vez mais intensiva e eficiente, podendo ser acompanhada pelo aumento da utilização de antibiótico terapia.

Por isso, para maior segurança no consumo de leite e seus derivados de boa qualidade, tanto no que diz respeito à manutenção de sua composição química natural, como também desprovido de substâncias que possam levar a uma série de problemas de saúde, torna-se necessário métodos para análise de resíduos de antibióticos em alimentos que sejam mais simples, sensíveis, rápidos e de baixo custo. Esses testes podem permitir um maior controle de resíduos de antibióticos por parte das indústrias e também na realização de uma fiscalização eficiente pelos órgãos competentes para a legislação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREW, S.M.; FROBISHJ, R. A; PAAPE; MATURIN, L.J. Evaluation of selected antibiotic residue screening testes for milk from cows and examination of factors that affect the probability of false-positive outcomes. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 80, p. 3050-3057, 1997.

BISHOP, J.R.; BODINE, A B.; O'DELL, G.D.; JANZEN, J.J. Quantitative assay for antibiotics used commonly in treatment of bovine infections. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 68, p. 3031-3036, 1985.

BISHOP, J.R.; WHITE, C.H. Antibiotic residue detection in milk- a review. *Journal of Food Protection*, Ames, v. 47, n. 8, p. 647-652, 1984.

BRITO, M.A V.P. Perigos dos resíduos antimicrobianos. *A qualidade do leite*. Juiz de Fora: EMBRAPA, p. 67-74, 1998.

CARLSSON, A; BJORCK, L.; PERSSON, K. Lactoferrin and lysozyme in milk during acute mastitis and their inhibitory effect in Delvotest P. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 72, p. 3166-3175, 1989.

CARRARO, C.N.M.; VEIGA, D.R. da Avaliação do desempenho de três métodos utilizados para detecção de resíduos de antibióticos no leite. In: Congresso Nacional de Laticínios, 17, 2000, Juiz de Fora. *Anais* Juiz de Fora: Central. p.77-80.

CASTAÑEDA, R. Los residuos de antibioticos em la leche. In: Congresso Nacional de Laticínios, 19, 2002, Juiz de Fora. *Anais* Juiz de Fora: Central.

COMITÊ DEL CODEX SOBRE RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS EM LOS ALIMENTOS. *El control de medicamentos veterinarios en la leche y productos lacteos*, CX/RVDF00/12, 2000. Disponível em: <http://ftp.fao.org/codex/ccrvrdf12/rvoo_12s.pdf> Acesso em 09 outubro de 2003.

COSTA, E.O. Resíduos de antibióticos no leite: um risco à saúde do consumidor. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 10, n. 44, p. 15-17, 1996.

FAGUNDES, C.M.; MOLIN, L. Interferência de resíduos de antibióticos no controle de qualidade do leite e derivados. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v. 13, n. 155, p. 24-30, 1988.

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

FURTADO, M.M. *Principais problemas dos queijos: causas e prevenção*. São Paulo: Fonte Comunicações, 1999. p. 176

IDFS: INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION SPECIAL. *Monograph on residues and contaminants in milk products*. IDF, Bélgica, 189 p., 1991

MITCHELL, M.; BODKIN, B.; MARTIN, J. Detection of Beta-Lactam antibiotics in bulk tank milk. *Journal of Food Protection*, Ames, v. 58, n. 5, p. 577-578, 1995.

MITCHELL, J. M.; GRIFFITHS, M. W.; McEWEN, S. A; McNAB, W. B.; YEE. A J. Antimicrobial drug residues in milk and meat: causes, concerns, prevalence, regulations, tests and test performance. *Journal of Food Protection*, Ames, v. 61, n. 6, p. 742-756, 1998.

OLIVEIRA, A.F. Métodos rápidos para análise de resíduos de antibióticos no leite. *Indústria de Laticínios*, mar/abr, 1998.

PRODUTOR PARMALAT. Tolerância zero para antibióticos. *Produtor Parmalat*, São Paulo, n. 39, p. 14-19, 2000.

SBAMPATO, C.G.; ABREU, L.R. de; MENDONÇA, A T. Aspectos tecnológicos da fabricação de iogurte e queijos utilizando leite com resíduos de antibióticos. *Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v. 54, n. 313, p. 13-18, 2000.

SEYMOUR, E. H.; JONES, G. M.; MCGILLIARD, M. L. .Comparisons of on-farm screening test for detection of antibiotic residues. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 71, p. 539-544, 1988.

COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE DE BÚFALAS DA RAÇA MURRAH DE UMA FAZENDA LEITEIRA NO ESTADO DE CORRIENTES, ARGENTINA*

Exequiel M. Patiño¹
Eduardo L. Faisal²
Fernando I. Mendez³
Jose F. Cedres⁴
Maria C. Guanziroli Stefani⁵
Gustavo Angel Crudeli⁶

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi determinar a composição físico-química do leite de búfala (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah objetivando criar parâmetros para a região do nordeste Argentino. Entre julho de 2001 e junho de 2002, analisaram-se quinzenalmente amostras de leite provenientes de vinte búfalas de uma fazenda leiteira, situada no estado de Corrientes, Argentina, que está localizada numa região de clima subtropical úmido com precipitações anuais de 1.200 a 1.400 mm, temperatura média de 21,5°C e 75% umidade relativa do ar. Os valores médios encontrados foram: densidade $1,035 \pm 0,00$ g/ml; acidez $20,04 \pm 3,19^\circ\text{D}$; pH $6,70 \pm 0,17$; sólidos totais $16,91 \pm 2,44\%$; gordura $7,61 \pm 2,07\%$; proteína $3,66 \pm 0,90\%$; lactose $4,52 \pm 0,26\%$ e cinzas $0,84 \pm 0,08\%$. Os resultados deste experimento foram comparados com os de outros autores.

INTRODUÇÃO

A Argentina possui o terceiro rebanho bubalino das Américas, depois do Brasil e Venezuela. (Vale, 1999), estimado em 57.400 animais e distribuídos nos seguintes estados: Corrientes, Formosa, Chaco, Misiones, Buenos Aires, Entre Ríos, Tucumán, Mendoza e San Luis (Crudeli et al, 2002). O estado de Corrientes é o que tem a maior quantidade de cabeças do país, mais de 60% do total.

A exploração de búfalos tem sido, principalmente, voltada para a produção da carne. Entretanto, a produção de leite começa a ser uma realidade em virtude da presença de fazendas leiteiras localizadas nos estados de Corrientes, Misiones, Formosa, Santa Fe, Buenos Aires e Tucumán. As principais raças leiteiras do país são a Mediterrânea, Murrah e as Mestiças destas duas.

A composição físico-química do leite de búfala da raça Murrah tem sido estudada em países como a Índia (Rao y Dastur, 1955, 1956; Rao y Nagarcenkar, 1977; Basu y Rao, 1979; Dubey et al., 1977, 1998; Sharma et al., 1980; Suman et al., 1998), Bulgária (Shalichev y Polihronov, 1969) e Brasil (Nader Filho, et al., 1986; Tonhati et al., 2000).

Na Argentina existem poucos trabalhos sobre a composição físico-química do leite de búfala (Patiño et al., 1999, 2000) e nenhum sobre o leite da raça Murrah em especial, sendo que principalmente os componentes de gordura, proteínas e sólidos totais tem uma grande importância comercial, pois influenciam os rendimentos dos produtos derivados do leite (Huhn et al. 1986; Veruma et al., 1993).

O objetivo do presente trabalho foi determinar a composição físico-química do leite de búfala

(*Bubalus bubalis*) da raça Murrah objetivando criar parâmetros para a região do nordeste Argentino e compará-la com a obtida por outros autores.

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado entre os meses de julho de 2001 e junho de 2002, na fazenda leiteira "Santa María del Rosario", situada no departamento de San Cosme, estado de Corrientes, distante 30 km da capital Argentina. A região é de clima subtropical úmido, com precipitações anuais entre 1200 e 1400 mm e médias de temperatura de 21,5°C e umidade relativa do ar de 75%.

O experimento foi conduzido com vinte búfalas da raça Murrah de primeira até a quarta lactação, todas ordenhadas uma vez ao dia, no período da manhã, recebendo a mesma alimentação, que consiste em pastagens naturais de gramíneas de baixa qualidade.

Obtiveram-se quinzenalmente, amostras de 200 ml de leite da ordenha total de cada búfala, que foram conservadas para transporte em temperaturas entre 5 e 8°C em caixas isotérmicas e gelo até sua chegada ao laboratório.

No laboratório as amostras foram mantidas a 4°C até seu processamento para efetuar as seguintes determinações: densidade por lactodensímetro (Association of Official Analytical Chemists, 1975); acidez por acidímetro de Dornic (Association of Official Analytical Chemists, 1975); gordura por método butírométrico de Gerber (British Standards Institution, 1955); proteína por método de Micro-Kjeldahl (British Standards Institution, 1966); extrato seco total por método direto (Association of Official Agriculture Chemists, 1965); lactose por método polarimétrico (Association of Official Analytical

Chemists, 1980); pH por potenciômetro e cinzas por incineração em mufla (Association of Official Analytical Chemists, 1980).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 mostramos os resultados obtidos no presente trabalho.

A densidade encontrada no presente trabalho foi igual a encontrada por Nader Filho et al. (1986) e superior a descrita por Shalichev y Polihronov (1969), que registrou 1,032 g/ml.

A acidez foi inferior a relatada por Nader Filho et al. (1986) que determinou um valor de 22,3°D em seu estudo, sendo que os valores normais de acidez titulável do leite de búfala não devem ser interpretados sob os padrões empregados para o leite bovino (13-18°D), pois o leite bubalino possui maior quantidade de caseína que o leite bovino (Furtado, 1979; Nader Filho et al, 1986).

O pH medido nas amostras estudadas foi um valor intermediário entre os valores publicados por Dubey et al. (1998), $6,64 \pm 0,02$ e os descritos por Rao y Dastur (1955, 1956) e Nader Filho et al. (1986), que encontraram 6,74 em ambos os estudos.

Na análise dos valores dos componentes do leite abordados neste trabalho e descritos por outros autores (Tabela 2), comprova-se uma importante variação dos mesmos, inclusive dentro do mesmo país, devido a fatores intervenientes no momento de realizar os estudos, que foram comprovados e que podem afetar a composição do leite, tais como o número de partos (Furtado, 1979; Dubey et al., 1997, 1998; Suman et al., 1998), as condições climáticas (Furtado, 1979) e a alimentação (Ganguli, 1979; Furtado, 1979; Tripaldi et al., 1997).

Tabela 1: Composição físico-química média do leite de búfalas Murrah obtido em Corrientes

Densidade (g/ml)	Acidez (° Dornic)	pH	Sólidos Totais (%)	Gordura (%)	Proteína (%)	Lactose (%)	Cinzas (%)
1,035 ± 0,00	20,04 ± 3,19	6,70 ± 0,17	16,91 ± 2,44	7,61 ± 2,07	3,66 ± 0,90	4,52 ± 0,26	0,84 ± 0,08

Tabela 2: Composição química (%) do leite de búfala da raça Murrah, segundo distintos autores

País	Sólidos Totais	Gordura	Proteína	Lactose	Cinzas	Autores
Índia	17,24	7,38	3,60	5,48	0,78	Rao y Nagarcenkar, 1977
Índia	17,02	6,96	—	—	—	Basu y Rao, 1979
Índia	16,79	7,40	3,94	—	0,74	Sharma et al. 1980
Índia	17,01	7,65	3,81	4,83	—	Dubey et al. 1997
Índia	23,76	10,56	5,34	4,33	—	Suman et al. 1998
Bulgária	18,31	8,03	4,51	4,75	0,91	Shalichev y Polihronov, 1969
Brasil	15,64	5,60	—	—	—	Nader Filho et al. 1986
Brasil	—	7,1	4,42	—	—	Tonhati et al. 2000

* PI-615. Subsidiado por S.G.C.y T. - UNNE

Artigo traduzido e corrigido para o português pelo Prof. Adauro de Matos Lemos. CT/ILCT/EPAMIG
1. Profesor Investigador Médico Veterinario. Cátedra Tecnología de la Leche y Derivados. Facultad Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Nordeste. Sargento Cabral 2139 (3400) Corrientes, Argentina. exepa@vet.unne.edu.ar
2. Profesor Titular. Cátedra Tecnología de la Leche y Derivados FCV-UNNE, Corrientes.
3. Docente Médico Veterinario. Cátedra Tecnología de la Leche y Derivados FCV-UNNE, Corrientes.
4. Docente Médico Veterinario. Depto. Producción Animal. FCV-UNNE, Corrientes.
5. Médica Veterinaria. Establecimiento Santa María del Rosario, Corrientes
6. Profesor Titular. Cátedra Teriogenología. Depto. Producción Animal. FCV-UNNE, Corrientes

Tabela 3: Comparação da composição química (%) de leite de búfala da raça Murrah obtida neste estudo com a informação de outros autores.

Sólidos Totais	Gordura	Proteína	Lactose	Cinzas	
Outros autores	15,64 – 23,76	5,60 – 10,56	3,60 – 5,34	4,33 – 5,48	0,74 – 0,91
Presente trabalho	16,91 ± 2,44	7,61 ± 2,07	3,66 ± 0,90	4,52 ± 0,26	0,84 ± 0,08

(*) Rao y Nagarcenkar, 1977; Basu y Rao, 1979; Sharma et al., 1980; Dubey et al., 1997; Suman et al., 1998; Shalichev y Polihronov, 1969; Nader Filho et al., 1986; Tonhati et al., 2000.

Os valores médios estudados sobre a composição físico-química do leite de búfala neste experimento encontram-se dentro dos padrões encontrados por outros autores (Tabela 3).

CONCLUSÕES

Os valores da composição físico-química do leite de búfalas da raça Murrah obtidos no presente estudo, que foram similares aos obtidos por outros autores, permitirão aos pecuaristas, dispor de parâmetros no momento de selecionar raças bubalinas destinadas às fazendas leiteiras. Ainda assim, se faz necessário aprofundar os estudos sobre leite das diferentes raças bubalinas existentes na Argentina, visando estabelecer normas e padrões específicos para as mesmas, para que não se empregue as utilizadas para leite bovino, considerando-se que podem induzir a erros na interpretação, ao se trabalhar com leite bubalino misturado com leite bovino.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Association of Official Agriculture Chemists. Official Methods of Analysis. Washington. 1965
2. Association of Official Analytical Chemists. Analytical Chemist. 12 ed. 1094 p. Washington. 1975
3. Association of Official Analytical Chemists. Dairy Products Official Methods of Analysis. Horwitz W. Edit. 13ª.ed. Washington. 1980
4. BASU, S. B.; Rao, M. L. Growth Pattern in Murrah Búfalo Calves. *Indian Veterinary Journal* 56 (7): 570-574. 1979
5. British Standards Institution. Gerber Method for Determination of Fat in Milk and Milk Products. Londres. 1955
6. British Standards Institution. Determination of Total Nitrogen. Londres. 1966
7. CRUDELI, G.A.; Pellerano, G.S.; Maldonado,

P. Production and reproduction parameters in buffaloes in Argentina. IN: I Simposio de Búfalos das Américas, Belem, Pará, 1-8 setiembre 2002. p:323-333.

8. DUBEY, P.C.; Suman, C.L.; Sanyal, M.K.; Pandey, H.S.; Saxena, M.M.; Yadav, P.L. Factor Affecting Composition of Milk Buffaloes. *Indian Journal Animal Science* 67: 802-804. 1977

9. DUBEY, P.C.; Suman, C.L.; Sanyal, M.K.; Rajendra Singh, Pandey, H.S.; Saxena, M.M. Some Factors Affecting Milk Chloride, pH and Acidity in Murrah Buffalo. *Indian Veterinary Journal* 75: 234-235. 1998

10. FURTADO, M.M. Leite de Búfala: Características e Fabricação de Queijos. Monografia 60p-. Juiz de Fora DTA/EPAMIG. Brasil. 1979

11. GANGULI, N.C. Tecnología de la Leche de Búfala. *Revista Mundial de Zootecnia*. 30: 2-10. 1979

12. HUHNS, S.; Lourenço Junior, J.B.; Moura Carvalho, L.O.D. De; Barbosa Do Nascimento, C.N.; Vieira, L.C. Aproveitamento do Leite de Búfala em Produtos Derivados. Em: 1º Simpósio do Trópico Úmido, Belém, Pa. 1984. Anais. Brasília: EMBRAPA-DDT. 5: 265-269. 1986

13. NADER FILHO, A.; Schocken Iturrino, R.P.; Rossi, Jr. O.D.; Eca, F.A.D. Características Físico-Químicas do Leite Bovino, Bubalino e do Produto da Mistura do Leite de Ambas as Espécies. *ARS Veterinária*. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária. UNESP. 2 (1): 95-106. Jaboticabal. Brasil. 1986

14. PATIÑO, E.M.; Jacobo, R.A.; Mendez, F.I.; Giorgi, E.J.; Cipolini, F.M.; Stamatti, G.M.; Guanziroli Stefani, M.C. Fatty Acids, Minerals and Vitamins of Water Buffalo (*Bubalus bubalis*) Milk in Argentina. *Buffalo Newsletter*, Italia. 13: 8- 9. 1999.

15. PATIÑO, E.M.; Jacobo, R.A.; Mendez, F.I.; Giorgi, E.J.; Cipolini, F.M.; Stamatti, G.M.; Guanziroli Stefani, M.C. Composición de Leche Bubalina (*Bubalus bubalis*) Obtenida en un Tambo de Corrientes, Argentina. *Revista Argentina de Lactología* 19: 69-74. 2000

16. RAO, M.B.; Dastur, N.N. Hydrogenion Concentration of Milk I. pH of Milk of Animals of Different Breeds and Individual. *Indian Journal Dairy Science* 8: 158-172. 1955

17. RAO, M.B.; Dastur, N.N. Buffer Value of Milk and Colostrum. *Indian Journal Dairy Science* 9: 36-43. 1956

18. RAO, M.K.; Nagarcenkar, R. Potentialities of the Buffalo. *World Review of Animal Production* 13: 53-59. 1977

19. Shalichev, Ya.; Polihronov, D. Composition and Properties of Milk from Murrah Buffaloes Imported into Bulgaria from India. *Zhivotnovudni Naouki*. 6 (3): 57-62. 1969

20. Sharma, U.P.; Rao, S.K.; Zariwala, I.T. Composition of Milk of Different Breeds of Buffaloes. *Indian Journal Dairy Science*. 33: 7-12. 1980

21. SUMAN, C.L.; Saxena, M.M.; Pandey, H.S.; Dubey, P.C.; Rajendra Singh; Sanyal, M.K.; Yadav, P.L. Some Factors Affecting Milk Constituents Yield of Murrah Buffalo. *Indian Veterinary Journal* 75: 176-177. 1998

22. TONHATI, H.; Muñoz, M.F.C.; Oliveira, J.A.; Duarte, J.M.C.; Furtado, T.P.; Tseimazides, S.P. Parâmetros Genéticos para a Produção de Leite, Gordura e Proteína em Bubalino. *Revista Brasileira Zootecnia* 29 (6): 2051-2056. Suplemento 1. 2000

23. TRIPALDI, C.; Catillo, G.; Martilloti, F.; Angelucci, M. Influence of Some Characteristics of Diet on Milk Quality of Water Buffalo. *Buffalo Journal* 1: 1-13. 1997

24. VALE, W. G. Perspectivas da Bubalinocultura no Brasil e na América Latina. En: Bubalinos: Sanidade, Reprodução e Produção. eds. Barnabe, V.H.; Tonhati, H. Baruseli, P.S. Jaboticabal: Funep 202 p. 1999

25. VERUMA, M.R.; Oliveira, A.J.; Salgado, J.M. Avaliação Química e Nutricional do Queijo Mozzarella e Iogurte de Leite de Búfala. *Scientia Agrícola*. Piracicaba 50 (3): 438-443. 1993

VISITE O SITE DO

INSTITUTO DE LATICÍNIOS CÂNDIDO TOSTES / EPAMIG

Saiba mais sobre

- **O Instituto**
- **Revista do ILCT**
- **Cursos avulsos**
- **Publicações, Livros e Apostilas**
- **CONSILCT - Empresa Júnior**
- **COBES / COCESCO**
- **Curso de Formação Básica Profissional
e muito mais**



ACESSE

www.candidotostes.com.br