

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
CIÊNCIA E TECNOLOGIA DOS ALIMENTOS**

**EFEITO DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS  
E CONTAGEM BACTERIANA TOTAL SOBRE OS  
CONSTITUINTES DO LEITE**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Diego Prado de Vargas**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2012**

**EFEITO DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E  
CONTAGEM BACTERIANA TOTAL SOBRE OS  
CONSTITUINTES DO LEITE**

**Diego Prado de Vargas**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Área de Concentração em Qualidade de Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos.**

**Orientador: Prof. Dr. José Laerte Nörnberg**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2012**

**Universidade Federal de Santa Maria**  
**Centro de Ciências Rurais**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**EFEITO DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E CONTAGEM  
BACTERIANA TOTAL SOBRE OS CONSTITUINTES DO LEITE**

elaborada por  
**Diego Prado de Vargas**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

**Comissão Examinadora**

---

**José Laerte Nörnberg, Dr.**  
(Presidente/Orientador)

---

**Júlio Viegas, Dr. (UFSM)**

---

**Jorge Schafhäuser Junior, Dr. (CPACT/EMBRAPA)**

Santa Maria, 24 de julho de 2012.

## AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado.

À Universidade Federal de Santa Maria pela oportunidade.

À Indústria de laticínios pesquisada, por toda a receptividade encontrada na fábrica desde o início deste projeto, pelas informações cedidas, ao suporte técnico prestado, tornando possível a realização deste trabalho.

Aos meus pais Manoel e Jussara, os mais profundos agradecimentos, por suas sábias lições, pelo amor e alegria compartilhados, ensinando-me a importância da persistência na realização dos sonhos.

À minha querida irmã Luciane, pelo exemplo de determinação e disciplina. É sempre bom ter alguém em quem se espelhar.

À minha noiva Vanessa, por ser a minha maior incentivadora, pela compreensão, pelo conforto nos momentos mais difíceis e pelo amor e carinho de sempre.

Aos meus amigos caninos, Ícaro, Robinho, Douglas e Anestésica, meus sinceros agradecimentos podem-se resumir em uma frase: *"O próprio homem não pode expressar o amor e humildade por sinais externos, tão claramente como um cachorro, quando ele encontra seu amado mestre."* Charles Darwin.

Agradecimento especial ao meu orientador Prof. Dr. José Laerte Nörnberg, antes de qualquer coisa, pela paciência que teve comigo nestes anos de parceria na pesquisa, pela forma de orientar, pelos ensinamentos, pela disponibilidade em ajudar, por suas sugestões sempre pertinentes, pelos comentários de incentivo e, principalmente por ser uma referência profissional e de competência, um exemplo que vou seguir durante minha vida pessoal e profissional. Laerte, muito obrigado por ser um exemplo de que é possível ser um amigo orientador.

Ao Prof. Dr. Renius de Oliveira Mello, pela parceria na pesquisa e, apoio e inspiração no amadurecimento dos meus conhecimentos e conceitos que me levaram à execução e conclusão desta dissertação, além de ser um exemplo que quero seguir, de profissional dedicado e determinado. Renius, meus sinceros agradecimentos, você é um grande amigo.

Ao Prof. Dr. Roger Wagner, além de grande amigo, outro referencial importantíssimo para minha vida acadêmica e profissional, pela sua disposição e compromisso com os alunos e por sempre estar disponível em ajudar.

Aos professores e funcionários do PPGCTA e do curso de Medicina Veterinária, pela minha formação.

À família NIDAL, mestrandos, doutorandos, estagiários, funcionários e professores, é muito bom trabalhar com todos vocês, obrigado pelo aprendizado e pela agradável convivência durante tantos anos, o incentivo e ajuda de vocês foi imprescindível para a conclusão deste trabalho. Em especial, meus sinceros agradecimentos ao mestrando Rudolf Brandt Scheibler, pela amizade cultivada, grande parceria formada na pesquisa e pelos tantos anos que virão.

A todos meus amigos e amigas, em especial ao Álisson Minozzo da Silveira, Maurício Borges da Rosa e Carlos Pasqualin Cavalheiro, pela parceria formada desde o início da faculdade de Medicina Veterinária e também ao Weiler Giacomazza Cerutti pela amizade e ajuda prestada.

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos  
Universidade Federal de Santa Maria

### **EFEITO DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E CONTAGEM BACTERIANA TOTAL SOBRE OS CONSTITUINTES DO LEITE**

AUTOR: Diego Prado de Vargas

ORIENTADOR: Dr. José Laerte Nörnberg

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 24 de Julho de 2012.

Este estudo teve por objetivos avaliar o efeito da contagem de células somáticas (CCS) e da contagem bacteriana total (CBT) sobre os constituintes do leite, verificando a influência que as variáveis climáticas exercem sobre estes indicadores higiênico-sanitários. Os dados utilizados foram de 1.541 unidades produtoras de leite referentes a 15 municípios da bacia leiteira do Vale do Taquari, Rio Grande do Sul. Foram tabulados os dados de contagem de células somáticas (CCS), contagem bacteriana total (CBT) e composição centesimal do leite, referentes ao período de junho de 2008 a dezembro de 2011, totalizando 44.089 amostras analisadas. A temperatura ambiente apresentou correlação positiva e significativa com o escore de células somáticas, enquanto a precipitação pluviométrica e umidade relativa do ar ausência de correlação. Por outro lado, as variáveis climáticas não apresentaram correlação significativa com a CBT. Os teores de gordura, proteína, minerais e sólidos totais foram diretamente correlacionados com a CCS e a CBT, enquanto que os sólidos não gordurosos e a lactose apresentaram comportamento inverso. A análise de componentes principais (ACP) seguida pelo método hierárquico aglomerativo de agrupamento, permitiu constatar que leites com CCS maiores que 400.000 até 750.000 céls mL<sup>-1</sup> e CBT superiores a 100.000 até 1.000.000 UFC mL<sup>-1</sup>, apresentam a mesma qualidade, não justificando a estratificação de intervalos nesta amplitude de variação. Paralelamente, observou-se que somente limites de normas regulatórias não são suficientes para melhoraria da qualidade do leite, sugerindo-se, parâmetros para sistemas de pagamento baseado na bonificação e penalização em relação à CCS e CBT do leite.

**Palavras-chave:** Bovinos. Composição do leite. Contagem de células somáticas. Contagem bacteriana total. Qualidade higiênico-sanitária. Variáveis climáticas.

## **ABSTRACT**

Master Dissertation  
Pos-Graduate Course of Food Science and Technology  
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

### **EFFECT OF SOMATIC CELL COUNT AND TOTAL BACTERIAL COUNT ON CONSTITUENTS OF MILK**

AUTHOR: Diego Prado de Vargas  
ADVISER: Dr. José Laerte Nörnberg  
Defense Place and Date: Santa Maria, July 24th, 2012.

The study aims to evaluate the effect of somatic cell count (SCC) and total bacterial count (TBC) on the constituents of milk, checking the influence that the climatic variables have on these hygienic-sanitary indicators. Data were obtained from 1,541 dairy farms located in 15 municipalities in the dairy region of Vale do Taquari, Rio Grande do Sul. It was tabulated the data from somatic cell count (SCC), total bacterial count (TBC) and milk composition, from June 2008 to December 2011, totaling 44,089 samples. The ambient temperature showed positive and significant correlation to score of somatic cell, while rainfall and relative humidity air showed no correlation. Moreover, the climatic variables have no significant correlation to the TBC. The fat, protein, minerals and total solids were directly correlated with the SCC and TBC, while solids-not-fat and lactose showed an opposite behavior. The principal component analysis (PCA) followed by agglomerative hierarchical clustering method, have showed that milk from SCC 401,000 to 750,000 cell mL<sup>-1</sup> and TBC from 100,000 to 1,000,000 CFU mL<sup>-1</sup>, have the same quality, not justifying stratification in these intervals. In addition, it was observed that only limits regulatory standards are not sufficient to improve the quality of milk, suggesting parameters for payment system based on the bonus and penalty relative to the TBC and SCC milk.

**Key words:** Cattle. Milk composition. Somatic cell count. Total bacterial count. Hygienic-sanitary quality. Climatic variables.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Exportações, importações e saldo da balança comercial brasileira de lácteos (x1000 US\$), no período de 1996 até 2011 .....	17
Figura 2 – Preço do leite (milhões de US\$) do Brasil, Nova Zelândia, Estados Unidos e países membros da União Europeia, no período de janeiro de 2001 até janeiro de 2010.....	18
Figura 3 – Corte transversal de uma micela de caseína, mostrando as submicelas, os aglomerados de fosfato de cálcio e os peptídios de caseína $\kappa$ , recobrando a superfície da micela .....	23
<b>Manuscrito 1</b>	
Figura 1 - Dispersão gráfica das diferentes classes de CCS obtidas a partir de 44.089 amostras de leite analisadas de junho de 2008 a dezembro de 2011 (1: $CCS \leq 200.000$ ; 2: $200.000 < CCS \leq 400.000$ ; 3: $400.000 < CCS \leq 500.000$ ; 4: $500.000 < CCS \leq 600.000$ ; 5: $600.000 < CCS \leq 750.000$ ; 6: $750.000 < CCS \leq 1.000.000$ ; 7: $CCS > 1.000.000$ céls $mL^{-1}$ ) em função dos dois primeiros componentes principais.....	60
<b>Manuscrito 2</b>	
Figura 1 - Dispersão gráfica das diferentes classes da CBT obtidas a partir de 44.089 amostras de leite analisadas de junho de 2008 a dezembro de 2011 (1: $CBT \leq 100.000$ ; 2: $100.000 < CBT \leq 300.000$ ; 3: $300.000 < CBT \leq 600.000$ ; 4: $600.000 < CBT \leq 750.000$ ; 5: $750.000 < CBT \leq 1.000.000$ ; 6: $>1.000.000$ UFC $mL^{-1}$ ) em função dos dois primeiros componentes principais. ....	78



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Proporção dos componentes do leite (%) e suas formas físicas .....	21
Tabela 2 – Alterações na composição do leite associadas à elevação da contagem de células somáticas (CCS): quantidades médias (g/100g) encontradas no leite normal e no leite com altas CCS .....	31

### **Manuscrito 1**

Tabela 1 – Estatística descritiva, com o número de observações (n), mínimos (Mín), máximos (Máx), médias (Méd), desvios padrão (DvPad), erros padrão (ErrPad) e coeficientes de variação (CV) das variáveis gordura (Gord), proteína (Prot), lactose (Lact), minerais, sólidos não gordurosos (SNG), sólidos totais (ST), contagem de células somáticas (CCS), escore linear da contagem de células somáticas (ECS), contagem bacteriana total (CBT) e logaritmo natural da contagem bacteriana total ou CBT transformada (CBTt).....	56
Tabela 2 - Médias ajustadas dos teores de gordura (Gord), proteína (Prot), lactose (Lact), minerais (Min), sólidos não gordurosos (SNG), sólidos totais (ST) e do logaritmo natural da contagem bacteriana total (CBT) ou CBT transformada (CBTt) com seus respectivos erros padrão (entre parênteses) em função das distintas classes de contagem de células somáticas (CCS) de 44.089 amostras de leite analisadas de junho de 2008 a dezembro de 2011 .....	57

Tabela 3 - Correlação linear simples entre os teores de gordura, proteína, lactose, minerais, sólidos não gordurosos (SNG), sólidos totais (ST), logaritmo natural da contagem bacteriana total (CBT) ou CBT transformada (CBTt) e os valores de contagem de células somáticas (CCS) e do escore de células somáticas (ECS) de 44.089 amostras de leite analisadas de junho de 2008 a dezembro de 2011 .....	58
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Tabela 4 - Correlações lineares simples do escore de células somáticas (ECS) de 44.089 amostras de leite analisadas de junho de 2008 a dezembro de 2011 com as médias mensais das variáveis meteorológicas (temperatura média, umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica) durante o período experimental .....	59
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

### **Manuscrito 2**

Tabela 1 - Estatística descritiva, com o número de observações (n), mínimos (Mín), máximos (Máx), médias (Méd), desvios padrão (DvPad), erros padrão (ErrPad) e coeficientes de variação (CV) das variáveis gordura (Gord), proteína (Prot), lactose (Lact), minerais, sólidos não gordurosos (SNG), sólidos totais (ST), contagem de células somáticas (CCS), escore linear da contagem de células somáticas (ECS), contagem bacteriana total (CBT) e logaritmo natural da CBT ou CBT transformada (CBTt) .....	74
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Tabela 2 - Médias ajustadas dos teores de gordura (Gord), proteína (Prot), lactose (Lact), minerais (Min), sólidos não gordurosos (SNG), sólidos totais (ST) e do escore linear da contagem de células somáticas (ECS) com seus respectivos erros padrão da média (entre parênteses) em função das distintas classes de contagem bacteriana total (CBT) de 44.089 amostras de leite analisadas de junho de 2008 a dezembro de 2011.....	75
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Tabela 3 - Correlação linear simples da contagem bacteriana total transformada (CBTt) ou logaritmo natural da CBT e os teores de gordura, proteína, lactose, minerais, sólidos não gordurosos (SNG), sólidos totais (ST), escore linear de células somáticas (ECS) com as médias mensais das variáveis meteorológicas (temperatura média, umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica) durante o período experimental .....	76
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Tabela 4 - Correlações lineares simples do logaritmo natural da contagem bacteriana total (CBT) ou contagem bacteriana total transformada (CBTt) de 44.089 amostras de leite	
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--

analisadas de junho de 2008 a dezembro de 2011 com as médias mensais das variáveis meteorológicas (temperatura média, umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica) durante o período experimental ..... 77

## **LISTA DE ANEXOS**

Anexo A – .....	97
-----------------	----

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>16</b>
2.1 Mercado lácteo e a qualidade do leite .....	16
2.2 Definição e composição química do leite .....	21
2.3 Efeito da mastite e de indicadores higiênico-sanitários (CCS e CBT) nos constituintes do leite .....	25
2.3.1 Considerações gerais sobre mastite e contagem de células somáticas (CCS) .....	25
2.3.2 Efeito da mastite e contagem de células somáticas (CCS) sobre os constituintes do leite e derivados lácteos .....	30
2.3.3 Efeito da mastite e contagem bacteriana total (CBT) sobre os constituintes do leite e derivados lácteos .....	36
<b>3 MANUSCRITOS</b> .....	<b>42</b>
<b>3.1 MANUSCRITO 1: EFEITO DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS NOS CONSTITUINTES DO LEITE</b> .....	<b>43</b>
Resumo .....	43
Abstract .....	43
Introdução .....	44
Material e Métodos .....	45
Resultados e Discussão .....	47
Conclusões .....	52
Referências Bibliográficas .....	52
<b>3.2 MANUSCRITO 2: EFEITO DA CONTAGEM BACTERIANA TOTAL NOS CONSTITUINTES DO LEITE</b> .....	<b>61</b>
Resumo .....	61
Abstract .....	61
Introdução .....	62
Material e Métodos .....	63
Resultados e Discussão .....	65
Conclusões .....	70
Referências Bibliográficas .....	70
<b>4 DISCUSSÃO</b> .....	<b>79</b>
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>81</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>82</b>
<b>ANEXO A</b> .....	<b>97</b>

# 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é tradicionalmente um grande produtor de leite. A atividade que começou com características extrativistas, já ocupa posição de destaque no cenário econômico nacional, sendo, atualmente, um dos principais agronegócios do Brasil. Em 2008, o país produziu 27,5 bilhões de litros de leite, gerando renda de R\$ 17 bilhões, que corresponde a 10% do valor gerado pelo setor agropecuário brasileiro e 76% do valor gerado especificamente pela pecuária nacional (IBGE, 2011). Considerando o valor da produção, o leite ocupa o 4º lugar entre as *commodities* agropecuárias produzidas no Brasil, perdendo apenas para soja, cana-de-açúcar e milho (SIQUEIRA et al., 2010).

As estatísticas mundiais do setor demonstram que o Brasil detém posição de destaque em todos os segmentos dessa cadeia produtiva. O país possui o 3º maior rebanho de gado leiteiro do mundo, com 22,9 milhões de cabeças, ocupa a 5ª posição no âmbito da produção mundial, e é o 3º maior produtor de queijo, mercado sob domínio da União Europeia e Estados Unidos, responsáveis por mais de 75% da produção do mundo (LEITE, 2008; EMBRAPA, 2012). No ano de 2010, o país alcançou uma produção de aproximadamente 31,6 milhões de toneladas métricas, ficando atrás respectivamente dos Estados Unidos, Índia, China e Rússia. (EMBRAPA, 2012).

O setor de lácteos no Brasil vem passando por diversas alterações no decorrer dos anos, seja no âmbito do consumo ou no campo da produção, devido ao processo de abertura da economia brasileira iniciado em 1990 e intensificado pelo Plano Real, em conjunto com a redução da intervenção governamental neste segmento do agronegócio.

O mercado brasileiro de lácteos expandiu-se significativamente a partir do Plano Real, levando ao acirramento da concorrência, que se verifica pelo lançamento frequente de novos produtos e, pela busca incessante por consolidação de marcas. O domínio de novos processos tecnológicos, o uso de plantas industriais com capacidade de produção mais elevada e o investimento significativo em *marketing* têm sido exigências para a sobrevivência das firmas que atuam nessa área (MARTINS et al., 2001).

Em relação à participação do leite e derivados na balança comercial do país, pode-se dizer que durante muitos anos o Brasil foi considerado um tradicional importador de produtos lácteos, uma vez que não era auto-suficiente na produção de leite. Esta situação somente foi

modificada a partir de 2004, quando as importações de produtos lácteos passaram a ser substituídas pelas exportações, as quais se tornaram crescentes (NOGUEIRA, 2012).

Considerando o aumento da busca por leite no mercado mundial, que cresce entre 3,5 e 4,0% ao ano, segundo dados da Organização das Nações Unidas (ONU), o cenário é positivo, com boas oportunidades para o ingresso de novos parceiros no comércio de lácteos (PEREIRA, 2008).

O Brasil apresenta grande potencial para ser importante participante no mercado mundial de produtos lácteos. No entanto, a baixa produtividade do rebanho brasileiro dificulta um posicionamento ainda melhor do país neste setor. Além disso, segundo Milani (2011), para abandonar o rótulo de importador e se firmar como um exportador de lácteos, o país precisa superar restrições tarifárias, não tarifárias e, barreiras técnicas e sanitárias, que afetam diretamente a cadeia láctea. Nesse contexto, os cuidados com o cumprimento das exigências de padrões microbiológicos da matéria-prima devem ser rigorosos para que os produtos tenham qualidade suficiente para competir em igualdade no mercado internacional (SOUTO et al., 2009).

Em termos de qualidade do leite, item inexorável a um país exportador de lácteos, do ponto de vista legal e prático, considera-se dois aspectos principais, um deles, é a composição centesimal, incluindo os teores de proteína, gordura, lactose, minerais, sólidos totais e sólidos não gordurosos, e outro, é o aspecto higiênico-sanitário, incluindo requisitos essenciais adotados internacionalmente, como a contagem de células somáticas (CCS) e a contagem bacteriana total (CBT) (BRITO & BRITO, 2004).

Nesse contexto, o setor normativo, na figura do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), em 18 de setembro de 2002 estabeleceu regulamentações da produção leiteira através da Instrução Normativa nº51 (IN51), e mais recentemente, em 30 de dezembro de 2011, a Instrução Normativa Nº 62 (IN 62), que entrou em vigor em 1º de janeiro de 2012 (BRASIL, 2002; BRASIL, 2011).

A regulamentação dos padrões de identidade e qualidade do leite cru refrigerado está em processo de implantação gradativa desde 2002. Com a atualização, através da IN 62, os índices de CBT e CCS, que podiam chegar a 750.000 céls mL<sup>-1</sup> e 750.000 UFC mL<sup>-1</sup>, respectivamente, passaram a ter como limite máximo, 600.000 céls mL<sup>-1</sup> para CCS e 600.000 UFC mL<sup>-1</sup> para CBT. A norma brasileira prevê atualizações destes limites nos próximos anos, sendo que do dia 30 de junho de 2014 a 30 de junho de 2016 os limites serão de 500.000 céls mL<sup>-1</sup> e 500.000 UFC mL<sup>-1</sup>, para CCS e CBT, respectivamente, e posteriormente, a partir de 1º

de julho de 2016, atenderá os padrões internacionais de CCS, igualando-se ao limite de 400.000 céls mL<sup>-1</sup>, dos países membros da União Europeia (UE), Nova Zelândia e Austrália, e propondo limites inferiores aos designados pelo Canadá e Estados Unidos da América (EUA), que são de 500.000 céls mL<sup>-1</sup> e 750.000 céls mL<sup>-1</sup>, respectivamente, enquanto para CBT, igualará aos limites legais, de 100.000 UFC mL<sup>-1</sup>, da União Europeia, Estados Unidos, Austrália e Nova Zelândia e ficará ainda acima do limite proposto para o Canadá, que é de 50.000 UFC mL<sup>-1</sup> (PHILPOT & NICKERSON, 2002; SANTOS, 2006; BRASIL, 2011).

A respeito da qualidade do leite, além das normas regulatórias instauradas pela legislação nacional, o pagamento pela qualidade tem sido um instrumento empregado pelas indústrias para incentivar o produtor a investir em cuidados que resultem em melhorias na qualidade do produto. Além do pagamento de bonificações pelo leite de alta qualidade, podem ser incluídas penalizações para o leite de baixa qualidade (ÁLVARES, 2005). As indústrias de queijos, em geral, pagam as bonificações mais altas, com forte ênfase a CCS e a composição do leite (MADALENA, 2000).

Assim, o conhecimento da composição do leite e dos indicadores de qualidade higiênico-sanitários (CCS e CBT) é essencial para a determinação de sua qualidade, pois além de fazerem parte de normas regulatórias e de sistemas de valorização da matéria-prima com qualidade diferenciada, definem diversas propriedades organolépticas e industriais dos derivados lácteos.

Nesse contexto, vários trabalhos científicos têm procurado estimar o efeito que a mastite e a CCS exercem sobre os constituintes do leite, porém os resultados reportados são extremamente contraditórios. Sabe-se que a CBT também tem potencial em causar alterações na composição do leite, prejudicando o rendimento industrial e a segurança alimentar de seus derivados, entretanto, resultados sobre o efeito da elevação da CBT sobre a qualidade química do leite são escassos na literatura. Dessa maneira, objetivou-se com este estudo caracterizar o efeito da CCS e CBT sobre a composição química do leite e avaliar a influência que as variáveis climáticas exercem sobre estes indicadores higiênico-sanitários, empregando um tempo representativo de coleta de dados, minimizando possíveis efeitos aleatórios que levariam a erros de interpretação.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Mercado lácteo e a qualidade do leite

A produção mundial de leite bovino foi de 599,6 bilhões de litros em 2010, segundo dados da Food and Agriculture Organization (FAO). Os Estados Unidos da América (EUA) ocupam a primeira posição no *ranking* dos países produtores, com 87,4 bilhões de litros/ano, ou seja, 14,6% do volume produzido mundialmente. Em seguida, aparece a Índia com uma produção anual de 50,3 bilhões de litros, seguido da China e Rússia, que produziram 36,0 e 31,8 bilhões de litros/ano, respectivamente. Atualmente o Brasil encontra-se como o quinto maior produtor de leite do mundo, com 31,6 bilhões de litros produzidos no ano de 2010, ou seja, 5,3% da produção mundial, ocupando, desta forma, uma posição de destaque no setor lácteo mundial (EMBRAPA, 2012).

A atividade da cadeia láctea brasileira, que começou com características extrativistas, sofreu grandes mudanças estruturais no decorrer dos anos. Em 1991, ocorreu a desregulamentação do mercado, levando ao fim do tabelamento do preço do leite, que vigorava desde 1945, tanto em nível de produtor quanto de consumidor (SIQUEIRA et al., 2010; MARTINS, 2004). Além disso, a abertura econômica promovida pelo governo brasileiro e a formação do Mercado Comum do Sul (MERCOSUL), intensificado pela instauração do Plano Real, impactaram o setor lácteo nacional (SIQUEIRA et al., 2010; CARVALHO et al., 2007). O Plano Real implantado em 1994 influenciou positivamente o setor, pois proporcionou o aumento de renda da população, elevando o consumo de lácteos e impulsionando o incremento da produção nacional (SIQUEIRA et al., 2010), que segundo dados do IBGE/Pesquisa da Pecuária Nacional, cresceu 94,06% entre 1994 e 2010, passando de 15,8 bilhões para 30,7 bilhões de litros/ano, com uma taxa média anual de crescimento de 4,10%.

Em relação à participação do leite e derivados na balança comercial do país, pode-se dizer que durante muitos anos o Brasil foi considerado um tradicional importador, uma vez que não era auto-suficiente na produção de leite. Esta situação somente foi modificada a partir de 2004, quando as importações passaram a ser substituídas pelas exportações, as quais se tornaram crescente (NOGUEIRA, 2012). Assim, a balança comercial brasileira de lácteos



passou de um déficit de US\$ 359,8 milhões em 2000, para o primeiro superávit de US\$ 11,4 milhões em 2004 (Figura 1).

Em 2008, a balança comercial registrou um recorde histórico para o setor, gerando uma receita de US\$ 509,2 milhões (Figura 1). Deste modo, observa-se que o Brasil vem deixando cada vez mais de ser apenas um importador, passando a ocupar posição de exportador de produtos lácteos, porém é importante ressaltar que com a crise mundial, a balança comercial de lácteos do Brasil foi muito afetada, registrando um déficit de US\$ de 114 milhões em 2009, de US\$ 195 milhões em 2010, e de US\$ 507 milhões em 2011 (Figura 1).

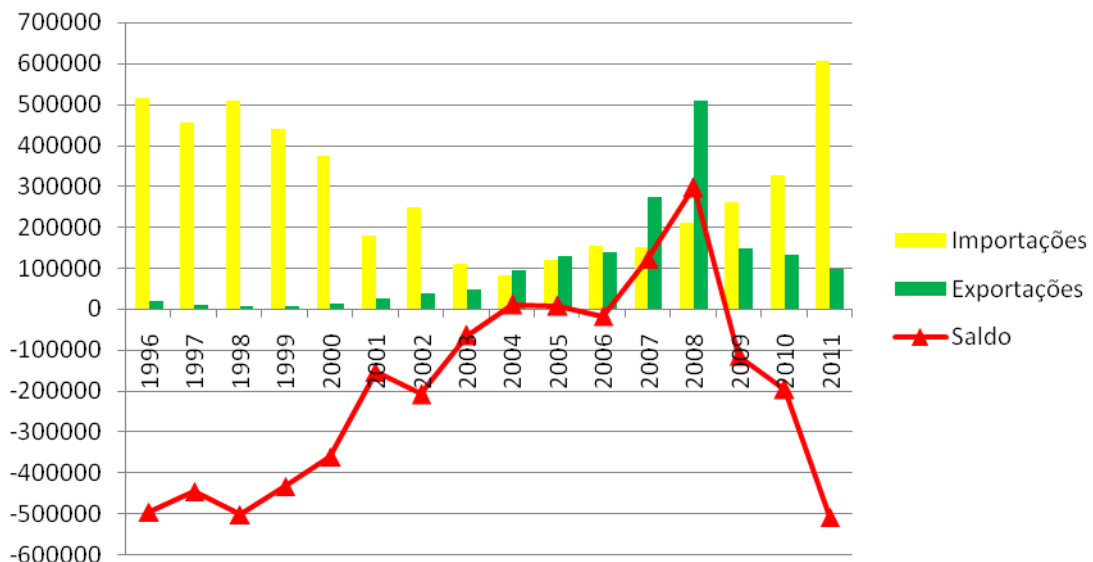


Figura 1 – Exportações, importações e saldo da balança comercial brasileira de lácteos (x1000 US\$), no período de 1996 até 2011

Fonte: Elaborado pelo autor segundo dados do SECEX apud DEPEC (2012)

A taxa de câmbio em vigor neste período tornou o preço do leite brasileiro em dólar um dos mais altos do mundo, como pode ser visualizado na Figura 2.

Comparando com os Estados Unidos, Nova Zelândia e União Europeia (UE), no início de 2001 o Brasil apresentou o menor preço do leite, no entanto, com as mudanças na taxa de câmbio, nos anos de 2009, 2010 e 2011, este ficou entre os mais caros do mundo. Com isso, as exportações ficaram dificultadas e o mercado se voltou para as importações, especialmente de países vizinhos, como a Argentina e o Uruguai (SIQUEIRA et al., 2010) (Figura 2).

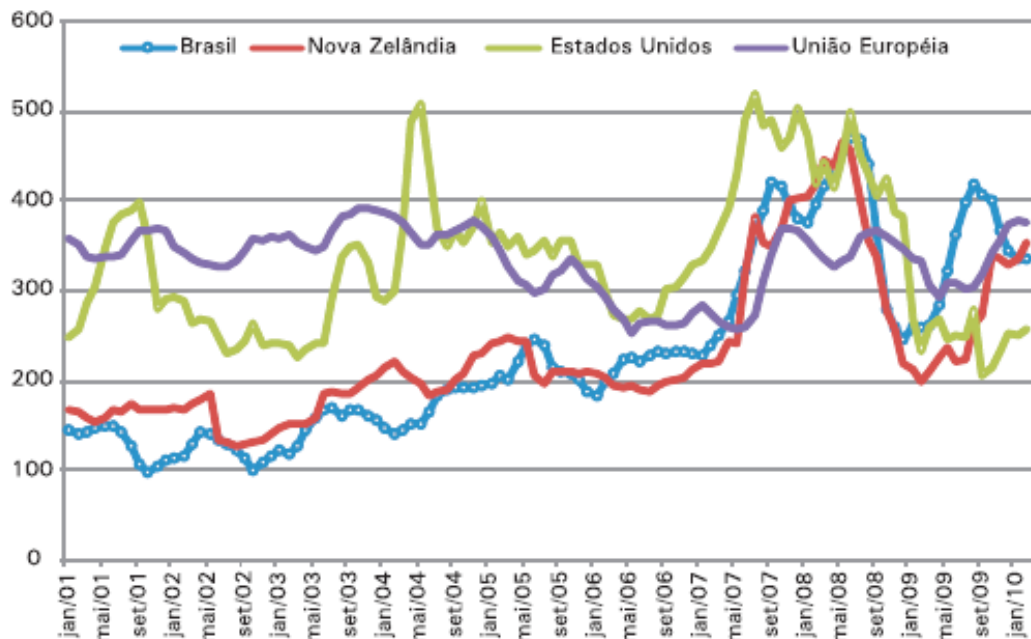


Figura 2 – Preço do leite (milhões de US\$) do Brasil, Nova Zelândia, Estados Unidos e países membros da União Europeia, no período de janeiro de 2001 até janeiro de 2010  
 Fonte: Cepea/USDA/Eurostat apud SIQUEIRA et al. (2010)

De acordo com as projeções do agronegócio brasileiro, de 2010/2011 a 2020/2021, elaborada pela assessoria de gestão estratégica do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2012), tanto a produção como o consumo *per capita* de leite por ano deverão crescer a uma taxa de 1,9%, dessa forma, em 2020 a produção do país deve chegar a 38,2 bilhões de litros. Mesmo com o consumo interno em expansão, tem-se segundo a estimativa, um excedente crescente, chegando, em 2020, a 4,5 bilhões de litros.

Considerando o aumento da busca por leite no mercado externo, que cresce entre 3,5 e 4,0% ao ano, segundo dados da Organização das Nações Unidas (ONU), o cenário mundial acena com boas oportunidades para o ingresso de novos parceiros neste setor do comércio (PEREIRA, 2008). Na Ásia, há de considerar que em países como a China e a Índia, o consumo de produtos lácteos vem crescendo em patamares acima da taxa de crescimento da produção, além do fato de serem países com pouca disponibilidade de terra para produções agropecuárias. No período de 2004 a 2008, somente o consumo de leite fluido na Índia sofreu um aumento de 23%, para um incremento na produção de 17%. Acrescido de outros produtos derivados, o consumo dos indianos nesse setor irá demandar importações cada vez maiores (SANTINI et al., 2009).

Países como a Nova Zelândia, Austrália, Estados Unidos e países membros da União Europeia (UE), segundo Siqueira et al. (2010), representam cerca de 56% das exportações do comércio internacional de lácteos, e naturalmente assumiriam o abastecimento da China e Índia em função da tradição como exportadores, porém enfrentam limitações de espaço físico para expansão da produção, além do fato de trabalharem com custos mais altos e, estarem no limite de produtividade. Nesse contexto, o Brasil tem imenso potencial para atender grande parte desta demanda e vem demonstrando isso, haja vista o contínuo crescimento das exportações.

Fatores como a baixa produtividade, que poderia ser visto como uma ameaça transforma-se em uma grande oportunidade, quando se considera que com um pouco de investimento em seleção e nutrição animal, pode-se elevar a produção consideravelmente, sem a necessidade de inclusão de área ou aumento do rebanho (FAEP, 2008).

Em termos de qualidade do leite, item inexorável a um país exportador de lácteos, do ponto de vista legal e prático, considera-se dois aspectos principais, um deles, é a composição centesimal, incluindo os teores de proteína, gordura, lactose, minerais, sólidos totais e desengordurados, e outro, é o aspecto higiênico-sanitário, incluindo requisitos essenciais adotados internacionalmente, como a contagem de células somáticas (CCS) e a contagem bacteriana total (CBT) (BRITO & BRITO, 2004).

A percepção dessa nova dinâmica de inserção do Brasil no mercado lácteo internacional, e evidências de que o leite produzido e consumido não atendem as exigências de qualidade ditadas pelo mercado externo, resultou no desenvolvimento de novas políticas de incentivo à produção leiteira, envolvendo os setores científicos e econômicos da área, em busca de alternativas para modificar este panorama. Desta forma, como resultado das novas políticas de desenvolvimento, iniciou-se, em 1996, a elaboração do Programa Nacional de Melhoria de Qualidade do Leite (PNQL) e, em 1998, estabeleceu-se um grupo de trabalho para analisar e propor um programa de medidas visando o aumento da competitividade e modernização do setor lácteo brasileiro (BRASIL, 1998; NERO et al., 2005). A versão definitiva das regulamentações da produção leiteira foi publicada em 18 de setembro de 2002, pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), através da Instrução Normativa nº51 (IN51), e mais recentemente, em 30 de dezembro de 2011, a Instrução Normativa Nº 62 (IN 62), que entrou em vigor em 1º de janeiro de 2012 (BRASIL, 2002; BRASIL, 2011).

Como podemos observar, a regulamentação dos padrões de identidade e qualidade do leite cru refrigerado está em processo de implantação gradativa desde 2002. Com a atualização, através da IN 62, os índices de Contagem Bacteriana Total (CBT) e Contagem de Células Somáticas (CCS), que podiam chegar a 750.000 céls mL<sup>-1</sup> e 750.000 UFC mL<sup>-1</sup>, respectivamente, passaram a ter como limite máximo, 600.000 céls mL<sup>-1</sup> para CCS e 600.000 UFC mL<sup>-1</sup> para CBT. A norma brasileira prevê atualizações destes limites nos próximos anos, sendo que do dia 30 de junho de 2014 a 30 de junho de 2016 os limites serão de 500.000 céls mL<sup>-1</sup> e 500.000 UFC mL<sup>-1</sup>, para CCS e CBT, respectivamente, e posteriormente, a partir de 1º de julho de 2016 atenderá os padrões internacionais de CCS, igualando-se ao limite de 400.000 céls mL<sup>-1</sup>, dos países membros da União Europeia (UE), Nova Zelândia e Austrália, e propondo limites inferiores aos designados pelo Canadá e Estados Unidos da América (EUA), que são de 500.000 céls mL<sup>-1</sup> e 750.000 céls mL<sup>-1</sup>, respectivamente, enquanto que, para CBT, igualará aos limites legais, de 100.000 UFC mL<sup>-1</sup>, dos países membros da União Europeia (EU), Estados Unidos da América (EUA), Austrália e Nova Zelândia e ficará acima do limite proposto para o Canadá, que é de 50.000 UFC mL<sup>-1</sup> (SANTOS, 2006; PHILPOT & NICKERSON, 2002).

A respeito da qualidade do leite, além das normas regulatórias instauradas pela legislação nacional, o pagamento pela qualidade tem sido um instrumento empregado pelas indústrias para incentivar o produtor a investir em cuidados que resultem em melhorias na qualidade do produto. Além do pagamento de bonificações pelo leite de alta qualidade, podem ser incluídas penalizações para o leite de baixa qualidade (ÁLVARES, 2005). As indústrias de queijos, em geral, pagam as bonificações mais altas, com forte ênfase a CCS e a composição do leite (MADALENA, 2000).

O conhecimento da composição do leite e dos indicadores de qualidade higiênico-sanitários é essencial para a determinação de sua qualidade, pois define diversas propriedades organolépticas e industriais (NORO et al., 2006). Além disso, segundo Glantz et al. (2009), a composição do leite determina as propriedades tecnológicas de processamento de seus derivados como, queijo, manteiga, iogurte, entre outros.

## 2.2 Definição e composição química do leite

Entende-se por leite natural, o produto íntegro, não adulterado, e sem colostro, resultante da ordenha completa e ininterrupta das fêmeas mamíferas, sadias e bem alimentadas (SANTANA et al., 2001; BRASIL, 2002). Do ponto de vista biológico, o leite é o produto da secreção das glândulas mamárias de fêmeas mamíferas, cuja função natural é a alimentação dos recém-nascidos (PEREDA et al., 2005). Em geral, o leite é entendido exclusivamente como leite de vaca, e quando há referências ao leite de outros animais costuma-se usar o nome da espécie correspondente (SANTANA et al., 2001).

Segundo Bauman et al. (2006) o leite é definido como uma vasta gama de nutrientes, incluindo proteínas, carboidratos, partículas de gordura, água e íons, sintetizados e secretados pela glândula mamária.

A água é o componente mais abundante, no qual se encontram em soluções os demais compostos (Tabela 1). Alguns minerais apresentam-se na forma de solução coloidal e outros em solução verdadeira, a lactose e as proteínas do soro aparecem como solução verdadeira, a caseína, no estado de dispersão coloidal e a gordura, na forma de pequenos glóbulos dispersos, constituindo uma emulsão (TRONCO, 2008). Através destes constituintes obtemos as frações dos sólidos totais (ST), que englobam todos os componentes, exceto a água, e dos sólidos não gordurosos (SNG), que compreendem todos os elementos do leite, menos a água e a gordura.

Tabela 1 – Proporção dos componentes do leite (%) e suas formas físicas

Componentes	Proporção	Estado físico
Água	87,50	solvente, forma livre e ligada
Gordura	3,60	emulsão
Caseína	2,70	solução coloidal
Proteínas do soro	0,60	solução verdadeira
Lactose	4,90	solução verdadeira
Sais minerais	0,70	solução coloidal e Verdadeira

Fonte: Elaborado pelo autor segundo dados de Tronco (2008)

Nessa mistura bastante complexa de componentes, os lipídios encontram-se em estado de emulsão (WALSTRA et al., 2006). Segundo Jensen (2002), cerca de 3-5% dos lipídios ocorrem como glóbulos emulsificados na fase aquosa do leite. Os glóbulos são constituídos por um núcleo composto principalmente de triglicerídeos, protegido por uma membrana lipoproteica, sendo que a maioria dos ácidos graxos encontrados, saturados e insaturados, contém de 2 a 20 átomos de carbono em suas cadeias (COSTA et al., 2009). Mais de 80% dos glóbulos de gordura são menores do que 1  $\mu\text{m}$  de diâmetro, porém, apesar disso, em média têm em torno de 4 $\mu\text{m}$  (BECART et al., 1990). O processo de homogeneização destrói parcialmente a membrana protetora destes glóbulos, aumentando a sensibilidade da gordura aos processos de hidrólise e oxidação (TRONCO, 2008).

Os ácidos graxos que compõem os glóbulos de gordura podem ter duas origens: a síntese pelas células epiteliais mamárias ou a circulação sanguínea. Ácidos graxos de cadeia curta (4-8 carbonos) e média (10-16 carbonos) são sintetizados quase exclusivamente pela glândula mamária, predominantemente, a partir do acetato produzido no rúmen. Em contrapartida, os ácidos graxos de cadeia longa (18 ou mais carbonos) são oriundos exclusivamente da circulação sanguínea. Essa sua composição tão variada é responsável pelo sabor e propriedades físicas únicas que o leite possui. Quantitativamente, o ácido palmítico é o componente saturado mais abundante, enquanto o ácido oleico é o componente insaturado presente em maior proporção na gordura do leite (BALCÃO et al., 1998; GERMAN & DILLARD, 1998).

As proteínas representam entre 3 e 4% dos sólidos encontrados no leite, e são subdivididas basicamente entre proteínas do soro e caseína. A caseína é sintetizada pelas células secretoras da glândula mamária e encontra-se na forma de agrupamentos com átomos de cálcio, fósforo e outros sais, denominados micelas (WALSTRA et al., 2001). Dessa maneira, a caseína pode ser definida como uma proteína micelar precipitada por acidificação do leite desnatado a pH 4,6 (temperatura de referência 20°C), sendo classificada como uma fosfoproteína, devido à presença do fósforo (OLIVEIRA & TIMM, 2007). A caseína possui atividade anfipática por apresentar regiões hidrofóbicas e hidrofílicas (DE KRUIF & GRINBERG, 2002). Na Figura 3 observa-se uma micela em corte transversal, mostrando sua estrutura. Assim como os glóbulos de gordura, a caseína é responsável por grande parte das propriedades relativas à consistência e à cor dos produtos lácteos (FOX et al., 2000).

A caseína bovina pode ser classificada em quatro tipos de proteínas com diferentes propriedades:  $\alpha_{s1}$ -,  $\alpha_{s2}$ -,  $\beta$ - e  $\kappa$ -caseína, perfazendo respectivamente, 38%, 10%, 34% e 15% da

caseína total. Da mesma forma, a fração de proteína sérica do leite de bovinos, também contém quatro principais proteínas:  $\beta$ -lactoglobulina (50%),  $\alpha$ -lactalbumina (20%), soroalbumina (10%) e imunoglobulinas (10%), como a IgG<sub>1</sub> (principalmente), IgG<sub>2</sub>, IgA e IgM (FOX et al., 2000).

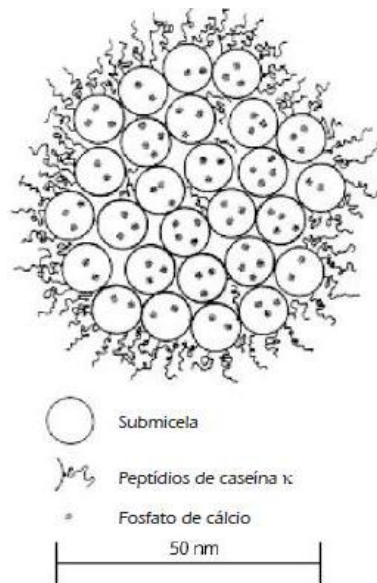


Figura 3 - Corte transversal de uma micela de caseína, mostrando as submicelas, os aglomerados de fosfato de cálcio e os peptídios de caseína  $\kappa$ , recobrando a superfície da micela

Fonte: SGARBIERI, 2005

A lactose é o único glicídio livre que existe em quantidades importantes no leite de todas as espécies; e também o componente mais abundante, o mais simples e o mais constante em proporção. Sua principal origem está na glicose do sangue, ou seja, o tecido mamário isomeriza-a em galactose e liga-a a um resto de glicose para formar uma molécula de lactose. O processo é acompanhado da condensação da UDP-galactose com a D-glicose para tornar-se lactose mais UDP, em uma reação catalisada pela lactose-sintetase (PEREDA et al., 2005). O principal precursor da glicose em ruminantes é o propionato, que é um ácido graxo volátil originado pela fermentação ruminal (SANTOS & FONSECA, 2007; SILVA, 1997). Ela pode ser um fator limitante na produção, visto que as quantidades de leite produzidas na glândula mamária dependem da síntese de lactose. Além disso, é considerada como o componente mais lábil diante da ação microbiana, pois é um bom substrato para as bactérias, que a transformam em ácido láctico. (SILVA, 1997; PEREDA et al., 2005).

Existem três formas no estado sólido:  $\alpha$  e  $\beta$  (anidras) e  $\alpha$ -lactose mono-hidratada. É um dos açúcares comuns mais insolúveis, assim sua solubilidade a 25°C é baixa (17,8 gramas/100 gramas de solução), o que pode causar problemas durante determinados processamentos de derivados, ao qual o leite é submetido (TRONCO, 2008).

A lactose tem a mesma fórmula molecular da sacarose e difere-se desta pela configuração molecular, no poder edulcorante, na solubilidade e na reatividade química (VALSECHI, 2001). Conforme Pereda et al. (2005), a lactose tem sabor fracamente doce, mascarado pela presença das caseínas do leite, possuindo, de acordo com Tronco (2008) poder adoçante, seis vezes menor que o da sacarose.

As substâncias minerais representam cerca de 0,6-0,8% do peso do leite, e em análises bromatológicas são designadas como cinzas, representando o resíduo que fica depois de submetido ao processo de incineração. A grande variedade de minerais que compõem o leite apresentam-se integrados às micelas proteicas, isolados ou interligados, dependendo da sua capacidade de ligação. Deste modo os minerais distribuem-se em dois compartimentos biológicos ou fases, a fase solúvel ou livre e a fase coloidal ou aquela que está ligada à micela caseínica (PEREDA et al., 2005).

Os sais do leite se mantêm em constante equilíbrio, passando de uma fase a outra, dependendo das condições encontradas (WALSTRA & JENNES, 1984). Dessa maneira, a sua concentração e mobilidade, podem interferir consideravelmente nas características nutricionais do leite, pois pode haver substituição de elementos minerais mais nobres, como o cálcio e potássio em detrimento de minerais de menor importância nutricional, como o sódio e o cloro, além de alterações na estabilidade da proteína. Dos minerais reconhecidamente necessários à nutrição, todos estão presentes no leite. Ele apresenta-se como ótima fonte de cálcio e fósforo, sendo a assimilação do cálcio extremamente favorecida pela excelente relação cálcio: fósforo (1:0,7) (KLAJN, 2005; TRONCO, 2008).

As enzimas do leite podem ser encontradas, quer na fase aquosa, em estado solúvel, ligada às proteínas (em particular às caseínas), ou na fase lipídica, em especial na membrana do glóbulo de gordura (VALSECHI, 2001). Com relação à atividade enzimática, foram detectadas cerca de 60 enzimas no leite de vaca, cuja origem está nas células do tecido mamário, do plasma sanguíneo e outras, dos leucócitos do sangue, possuindo funções catalíticas como, por exemplo, lipases, proteases e fosfatases alcalinas que hidrolisam triglicerídeos, proteínas e ésteres de fosfato, respectivamente. Outras enzimas do leite incluem a fosfatase ácida, xantina-oxidase, peroxidase (lactoperoxidase), amilase,  $\beta$ -galactosidase



(lactase), entre outras (PRATA, 2001; PEREDA et al., 2005; VACLAVIK & CHRISTIAN, 2007).

Existem vários fatores que afetam a produção e a composição do leite, alguns ligados ao indivíduo, como espécie, raça, estágio de lactação, número de lactações, idade; fatores ambientais, como temperatura, umidade, radiação solar; fatores fisiológicos e patológicos, como porção da ordenha, presença de mastite; fatores nutricionais e relacionados ao manejo, como intervalo entre ordenhas, persistência de lactação, relação volumoso:concentrado da dieta, entre outros (MILANI, 2011). Dentre estes, merece atenção especial o efeito da mastite e de indicadores higiênico-sanitários (CCS e CBT) nos constituintes do leite, pois é de grande importância para todos os segmentos do setor lácteo.

## **2.3 Efeito da mastite e de indicadores higiênico-sanitários (CCS e CBT) nos constituintes do leite**

### **2.3.1 Considerações gerais sobre a mastite e contagem de células somáticas (CCS)**

Conceitualmente, a mastite é uma reação inflamatória da glândula mamária às agressões de origem infecciosa, químicas, térmicas ou mecânicas (SANTOS & FONSECA, 2007), porém segundo Vianni & Lázaro (2003) as bactérias são os principais microrganismos etiológicos desta enfermidade. Mais de 80 diferentes espécies já foram identificadas, sendo que as mais frequentemente isoladas são: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, *Corynebacterium* sp., *Prototheca* sp. (HARMON, 1994).

Os patógenos envolvidos na mastite possuem muitos fatores de virulência que facilitam a colonização e infecção da glândula mamária, como: fatores de aderência às células epiteliais, produção de cápsulas que dificultam a captura e destruição pelos neutrófilos; produção de endotoxinas e exotoxinas que destroem ou inativam os leucócitos; ou capacidade de se manter no interior das células para escapar à resposta imune (CARNEIRO et al., 2009).

Para prevenir o estabelecimento da doença, o hospedeiro deve responder apropriadamente ao impacto dos diferentes fatores de virulência (SORDILLO &

STREICHER, 2002), mediante a elaboração de respostas imunológicas. A imunidade na glândula mamária pode ser classificada em duas categorias: resposta imune inata (inespecífica) e resposta imune adquirida (específica). A barreira física (esfíncter e camada de queratina dos tetos), a população de macrófagos, neutrófilos e células *natural killer* constituem a imunidade inata, que é predominante no primeiro estágio da doença, enquanto que a população de linfócitos (T e B) é responsável pela imunidade específica, mediada por anticorpos (SORDILLO, 2005).

Em decorrência do agente etiológico, fonte de infecção e via de transmissão, a mastite é classificada como contagiosa e ambiental e, quanto à forma de manifestação da doença é dividida em clínica e subclínica (SANTOS & FONSECA, 2007).

A mastite ambiental caracteriza-se pelo fato do reservatório do patógeno estar localizado no ambiente (MARGATHO et al., 1998). Os agentes ambientais são oportunistas e sua transmissão ocorre por contato direto da glândula mamária com as bactérias, principalmente, no período de ordenha ou entre as mesmas, quando as vacas se deitam nos ambientes contaminados (FONSECA & SANTOS, 2000; SILVA, 2003; SHARIF & MUHAMMAD, 2009). Os principais microrganismos de origem ambiental são as bactérias gram-negativas, como: *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp., *Pseudomonas* sp. e *Proteus* sp. (MARGATHO et al., 1998). Dentre outros microrganismos de origem ambiental que tem cada vez mais registros como causadores de mastite, destacam-se algas como a *Prototheca* sp. e leveduras como a *Candida* sp. (JÁNOSI et al., 2001; COSTA et al., 2008).

A mastite ambiental apresenta alta incidência de casos clínicos, geralmente agudos podendo ocorrer antes, mas principalmente após o parto (SILVA, 2003). A mastite clínica caracteriza-se por alterações macroscópicas no leite e/ou no úbere (CHAFER, 2006), sendo diagnosticada a partir de um exame criterioso da glândula mamária e da observação de alterações macroscópicas nos primeiros jatos de leite, utilizando-se a caneca de fundo preto ou prova de Tamis (LANGONI, 2007).

A mastite contagiosa é definida pela forma de transmissão, de animal para animal, ou seja, o reservatório é o próprio animal e sua localização é intramamária. As bactérias contagiosas são transmitidas de uma vaca a outra no momento da retirada do leite, pelas mãos do ordenhador ou teteiras contaminadas, durante a ordenha mecânica (SHARIF & MUHAMMAD, 2009; SILVA, 2003). Os patógenos predominantes na ocorrência de mastite contagiosa são *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, seguidos pelo

*Corynebacterium bovis*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Mycoplasma* sp. (MARGATHO et al., 1998).

A mastite contagiosa apresenta baixa incidência de casos clínicos e alta incidência de casos subclínicos, geralmente de longa duração ou crônicos e apresentando alta contagem de CCS (FONSECA & SANTOS, 2000). A mastite subclínica não apresenta sintomatologia evidente, caracterizando-se pela diminuição da produção leiteira, sem que sejam observados sinais visíveis de processo inflamatório na glândula mamária ou no leite (COSTA, 2006), sendo assim, exige o emprego de outros métodos para realizar o diagnóstico desta enfermidade, como o *California Mastitis Test* (CMT) e a contagem de células somáticas (CCS).

O termo células somáticas abrange diferentes elementos celulares, normalmente presentes no leite, compreendendo leucócitos, sobretudo neutrófilos, e células de descamação do epitélio secretor da glândula mamária (PHILPOT & NICKERSON, 2002). A distribuição das células em uma glândula sadia é de 60% de macrófagos, 25% de linfócitos e 15% de neutrófilos (PHILPOT & NICKERSON, 2002). Quando ocorre uma infecção no úbere por patógenos a contagem de células somáticas aumenta, principalmente pela grande quantidade de células de defesa, como macrófagos, linfócitos e leucócitos polimorfonucleares, que migram do sangue para o úbere para combater os invasores e, nessa situação, elas passam a representar a maioria das células somáticas do leite (GIGANTE, 2008).

Na glândula mamária de animais considerados sadios, a CCS é geralmente menor que 200.000 céls mL<sup>-1</sup> (PHILPOT & NICKERSON, 2002). Esta contagem aumenta rapidamente com a presença de bactérias dentro da glândula mamária, podendo chegar a 1.000.000 céls mL<sup>-1</sup> em poucas horas (PAAPE et al., 1981). Segundo Sordillo et al., (1997) é a duração do processo inflamatório que gera grande impacto sobre a quantidade e qualidade do leite.

A CCS é um fenômeno dinâmico, sujeito a variações significativas, devido a uma diversidade de fatores, como: idade, estágio de lactação, ordem de parto, sazonalidade, estresse, variação diurna e, principalmente à infecção bacteriana do quarto mamário.

Entre os fatores responsáveis por alterações nos níveis de CCS, os ambientais e climáticos têm sido alvo de estudo por diversos pesquisadores (EL-TAHAWY & EL-FAR, 2010; ROMA JÚNIOR et al., 2009; NORO et al., 2006; PHILPOT & NICKERSON, 2002), pois frequentemente os níveis de incidência de mastite apresentam um padrão sazonal.

Roma Júnior et al. (2009) e Philpot & Nickerson (2002), verificaram os maiores valores de CCS nos períodos mais quentes do ano, corroborando com a correlação positiva e o

nível de significância entre o escore linear de células somáticas (ECS) e temperatura ambiente reportados por Bueno et al. (2005) ( $r= 0,80$ ;  $P<0,01$ ), que podem ser explicados pelo fato de que animais sob condições adversas, como altas temperaturas, apresentam menor capacidade de respostas à doenças, ficando mais susceptíveis a invasão do úbere por microrganismos, e pela menor produção de leite e consequente concentração das células somáticas. Em relação à concentração das células somáticas por mililitros de leite, isto ocorre em consequência da diminuição do volume produzido, que segundo Noro et al. (2006), na região sul do país, pode ser atribuída às temperaturas mais elevadas nos meses de dezembro a abril, quando há disponibilidade de forrageiras de menor qualidade, como gramíneas tropicais dos gêneros *Cynodon*, *Sorghum* e *Pennisetum*, e pela menor capacidade de ingestão de alimentos por parte dos animais.

Bueno et al. (2005) não observaram correlação significativa entre o escore de células somáticas (ECS) e a umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica. Constatação semelhante foi feita por Vasconcelos et al. (1997), o que pode ser explicado pelo fato da umidade relativa do ar e a precipitação pluviométrica, geralmente, estarem relacionadas com maior pressão de infecção por microrganismos ambientais, os quais estão diretamente ligados com casos de mastite clínica, e, como, normalmente, o leite de vacas com mastite clínica é descartado, não influenciariam a CCS no tanque de expansão (BUENO et al., 2005).

Outro fator que afeta significativamente a CCS do leite, é o tipo de patógeno responsável pela infecção da glândula mamária. As bactérias responsáveis pela mastite podem ser classificadas como patógenos primários e secundários. Os patógenos primários mais comuns incluem o *S. aureus*, *S. agalactiae*, coliformes, estreptococos e enterococos de origem ambiental, enquanto que *Staphylococcus spp.* coagulase negativo e *Corinebacterium bovis* são considerados patógenos secundários (HARMON, 1994). Não é comum a mastite contribuir para a contagem bacteriana total (CBT) no leite, mas vacas acometidas por mastite podem, ocasionalmente, liberar grandes quantidades de microrganismos e, geralmente, isso está associado a infecções subclínicas causadas por estreptococos, principalmente, o *S. agalactiae*.

Em estudo para determinar o efeito dos patógenos causadores de mastite em vacas leiteiras sobre a CCS do leite, Souza et al. (2009) encontraram que os classificados como primários apresentavam a CCS acima de 500.000 céls mL<sup>-1</sup> em no mínimo 50% das amostras, enquanto em relação ao *S. agalactiae* a média de CCS foi de 1.520.000 céls mL<sup>-1</sup>; e entre aqueles classificados como secundários apresentavam valores de CCS menores ou iguais a 166.000 e 205.000 céls mL<sup>-1</sup> em mais de 50% das amostras.

Por inúmeros fatores que afetam a CCS no leite, existe a necessidade de se atentar na interpretação dos resultados desta variável como indicadora de mastite, pois esta enfermidade determina mudanças tanto na produção (volume) quanto nos principais componentes do leite (proteína, gordura, lactose e minerais) (SOMMERHAUSER et al., 2003; OLDE RIEKERINK et al., 2007). Os principais mecanismos pelos quais ocorre alteração nos níveis dos componentes do leite são as lesões às células epiteliais produtoras de leite, que pode resultar em decréscimo de produção e alteração da concentração de lactose, proteína e gordura; e o aumento da permeabilidade das células epiteliais, que determina a elevação da passagem de substâncias do sangue para o leite, tais como sódio, cloro, imunoglobulinas e outras proteínas séricas (STEFFERT, 1993; SOMMERHAUSER et al., 2003).

Evidentemente, as alterações qualitativas e quantitativas da produção irão depender da severidade da infecção e do estágio da doença, entretanto há uma relação direta entre CCS e diminuição do volume de leite produzido e alterações na concentração de seus constituintes (SCHÄLLIBAUM, 2001).

A maior perda associada à alta CCS é a redução da produção de leite, onde contagens acima de  $1.000.000$  céls  $\text{mL}^{-1}$  podem causar 18% a menos de produção (SHARIF & MUHAMMAD, 2008). Um estudo com 504 rebanhos da região de Michigan (EUA) mostra uma perda média de 1,17 kg de leite/dia/vaca em rebanhos com médias de CCS maiores que  $100.000$  céls  $\text{mL}^{-1}$  (BARTLETT et al., 1990). Barkema et al. (1998) também encontraram redução da produção de leite de 8.589 kg para 8.072 kg quando a CCS aumenta de 114.000 céls  $\text{mL}^{-1}$  para 310.000 céls  $\text{mL}^{-1}$ . Os mesmos autores encontraram ainda um aumento de 272 kg de leite quando ocorria um decréscimo para valores de  $100.000$  céls  $\text{mL}^{-1}$  na CCS. Reksen et al. (2007) também encontraram correlação negativa entre CCS e produção de leite.

Além da redução do volume produzido com a elevação da CCS, diversos estudos realizados no decorrer dos anos evidenciaram também, alterações na composição do leite em relação às mudanças da CCS, como, no conteúdo de gordura, lactose, minerais, bem como na qualidade da proteína (CARVALHO et al., 2002; RAJČEVIČ et al., 2003; BUENO et al., 2005; NORO et al., 2006; BERGLUND et al., 2007; NAJAFI et al., 2009; EL-TAHAWY & EL-FAR, 2010).

Nesse contexto, a contagem de células somáticas no tanque (CCST) tem sido considerada internacionalmente como medida padrão para determinar a qualidade do leite, pois além de indicar, em nível de produtor, a saúde da glândula mamária, qualidade da matéria-prima e perda de produção, em nível industrial, esse parâmetro se torna importante,

porque elevações em suas contagens estão associadas a quedas no rendimento, alterações organolépticas, redução na vida de prateleira e comprometimento da segurança alimentar de derivados lácteos (BUENO et al., 2005; SANTOS & FONSECA, 2007; SANTOS, 2012).

### 2.3.2 Efeito da mastite e contagem de células somáticas (CCS) sobre os constituintes do leite e derivados lácteos

Além da redução na produção (volume), elevadas CCS acarretam em mudanças nos principais constituintes do leite. Existe uma correlação negativa significativa entre a CCS e o conteúdo de matéria seca, podendo resultar em uma redução de até 10% (BRITO & BRITO, 2012). Segundo dados do National Mastitis Council (NMC, 1996), a concentração das proteínas totais permanece relativamente estável, mas o teor de caseína decresce, enquanto os de albumina e imunoglobulina aumentam e, além disso, ocorre uma elevação de cloretos e sódio em leites com altas CCS (Tabela 2).

Entretanto, elevadas CCS têm efeitos conflitantes sobre a concentração total de proteína do leite (SANTOS & FONSECA, 2007). Diversos autores relataram aumento dos teores de proteína com a elevação dos valores de CCS (CARVALHO et al., 2002; RAJČEVIČ et al., 2003; NORO et al., 2006; NAJAFI et al., 2009). Entretanto este aumento, não deve ser considerado favorável à qualidade do leite, pois pode ser decorrente não só da proteína celular, mas também da alteração da permeabilidade dos capilares sanguíneos que permitem influxo de proteínas séricas (albumina sérica e imunoglobulinas) para o interior da glândula mamária, a fim de combater a infecção (BRITO & BRITO, 2012; PEREIRA et al., 1999). Por outro lado, ao mesmo tempo, ocorre expressiva redução da caseína, o que segundo HARMON (1994), poderia resultar em apenas 1% de redução no teor total de proteína em leites com elevadas CCS em relação ao teor encontrado no leite de vacas sem mastite.

Nesse contexto, no ponto de vista prático, vale ressaltar que durante o processamento industrial de produtos lácteos de base protéica, como o queijo e o iogurte, as proteínas do soro, resultante do influxo de proteínas séricas para o interior da glândula mamária, são perdidas, enquanto a concentração de caseína, a qual realmente interessa ao processo, é diminuída pela sua degradação por proteases bacterianas e leucocitárias e pela diminuição de

sua síntese devido à inflamação da glândula mamária (mastite) (MA et al., 2000; RECIO et al., 2000; MATIOLI, 2005).

Tabela 2. Alterações na composição do leite associadas à elevação da contagem de células somáticas (CCS): quantidades médias (g/100g) encontradas no leite normal e no leite com altas CCS

Constituintes	Leite normal	Leite com elevadas CCS
Sólidos não gordurosos	8,90	8,80
Sólidos totais	12,40	12,00
Gordura	3,50	3,20
Lactose	4,90	4,40
Proteína total	3,61	3,56
Caseína total	2,80	2,30
Proteínas do soro do leite	0,80	1,30
Soro-albumina	0,02	0,07
Lactoferrina	0,02	0,10
Imunoglobulinas	0,10	0,60
Sódio	0,06	0,11
Cloreto	0,09	0,15
Potássio	0,17	0,16
Cálcio	0,12	0,04

Fonte: Adaptado de National Mastitis Council (1996).

No leite com elevada CCS, ocorre um aumento da atividade enzimática, promovendo maior ativação do plasminogênio em plasmina, a qual promove proteólise, principalmente na caseína e, mais especificamente, na  $\beta$ -caseína e  $\alpha_{S2}$ -caseína, alterando a composição protéica do leite e diminuindo o rendimento na fabricação do queijo, além de resultar no acúmulo de pequenos peptídeos, os quais são responsáveis pelo desenvolvimento de sabor amargo e adstringente (MA et al., 2000; RECIO et al., 2000; MATIOLI, 2005). Além da plasmina, outras enzimas originadas das células somáticas e dos leucócitos contribuem para a atividade proteolítica no leite.

Considine et al. (2002) estudaram a catepsina-G que é uma das principais proteases liberadas pelos polimorfonucleares. Os autores demonstraram a capacidade da enzima em hidrolisar as  $\alpha_{S1}$ -caseína e  $\beta$ -caseínas com produção de peptídeos similares aos liberados pela plasmina, concluindo que a catepsina-G pode contribuir de maneira significativa para a proteólise que ocorre no leite com elevada CCS.

Desta forma, sistemas de pagamento baseados em porcentagem de proteína total, sem considerar a CCS, apresentam limitações, uma vez que o rendimento industrial do leite está associado principalmente à fração de caseína (MA et al., 2000; SANTOS & FONSECA, 2011). Por outro lado, alguns estudos não mostraram redução significativa nos teores de caseína com o incremento da CCS (NUDDA et al., 2003; ALBENZIO et al., 2004 e PIRISI et al., 2012), enquanto Bianchi et al. (2004) observaram aumento desta fração proteica com a elevação da CCS.

Em virtude da ação de lipases leucocitárias e lipoproteicas, a concentração de gordura no leite com elevada CCS tende a diminuir (HARMON, 1994; AULDIST et al., 1995; BRITO & DIAS, 1998), como evidenciado na Tabela 2. Resultados semelhantes foram reportados por Najafi et al. (2009) e El-Tahawy & El-Far (2010), os quais se refletem nos coeficientes de correlação e nos níveis de significância obtidos por estes autores, que foram de ( $r=-0,27$ ;  $P<0,05$ ) e ( $r=-0,13$ ;  $P<0,01$ ), respectivamente. Por outro lado, Pereira et al. (1999), Machado et al. (2000), Marques et al. (2002), Picinin (2003), e Noro et al. (2006) encontraram aumento nas concentrações de gordura com a elevação dos valores de CCS, corroborando com os resultados reportados por Bueno et al. (2005), Pereira et al. (1999), Paura et al. (2002) e Rajčević et al. (2003), aos quais obtiveram, os respectivos coeficientes de correlação e níveis de significância, entre o escore de células somáticas (ECS) e a gordura, de ( $r=0,04$ ;  $P<0,05$ ), ( $r=0,06$ ;  $P<0,05$ ), ( $r=0,06$ ;  $P<0,01$ ) e ( $r=0,13$ ;  $P<0,01$ ). Entretanto, este aumento também não deve ser considerado favorável à qualidade do leite, pois, segundo Machado et al. (2000) a provável redução na produção de leite devido a infecção da glândula mamária é mais acentuada que a redução na síntese de gordura, ocorrendo concentração desse constituinte.

Além de alterações na concentração da gordura, elevada CCS pode estar relacionada com a composição da gordura do leite, através da ação das lipases de origem de células somáticas, que hidrolisam os triglicerídeos, com o rompimento da membrana dos glóbulos de gordura, expondo estes à ação de outras lipases, originando ácidos graxos livres (AGL), que quando presentes acima de limites de tolerância contribuem para o efeito negativo sobre o sabor conhecido como rancidez ou rancidez hidrolítica (COLLINS et al., 2003; KOCA et al.,



2007; HANUŠ et al., 2008). Nesse contexto, segundo Santos et al.(2003a) e Santos et al. (2003b) a elevada CCS pode resultar em diminuição da vida de prateleira do leite pasteurizado, afetando negativamente a sua qualidade sensorial.

Segundo Santos et al. (2003a), para o leite com baixa CCS (20.250 céls mL<sup>-1</sup>) aos 61 dias de armazenamento, a média de concentração de AGL para as temperaturas de 6°C foi de 0,196 meq kg<sup>-1</sup>, o que representou aumento de 70,0% em relação ao dia 1 (0,132 meq kg<sup>-1</sup>). De forma semelhante, o leite do tratamento de alta CCS (741.250 céls mL<sup>-1</sup>) apresentou, após 61 dias de armazenamento, média de concentração de AGL de 0,355 meq kg<sup>-1</sup> para as temperaturas de 6,0°C, o que representa aumento de 176,89% em relação ao dia 1 (0,1284 meq kg<sup>-1</sup>). Dessa forma, a taxa de lipólise do leite com alta CCS foi maior que a observada no tratamento com baixa CCS, sendo que esse nível elevado de AGL pode estar associado ao desenvolvimento de rancidez (MA et al., 2000).

O efeito da CCS sobre a ocorrência de alterações organolépticas no leite foi estudado por meio da técnica de degustação em painel realizada por Ma et al., (2000). Estes autores relataram que o leite pasteurizado com alta CCS (849.000 céls mL<sup>-1</sup>) apresentou, aos 21 dias de armazenamento, maior ocorrência de rancidez e de sabor amargo quando comparado com leite pasteurizado com baixa CCS (45.000 céls mL<sup>-1</sup>). Esses defeitos foram relacionados com maior taxa de lipólise e proteólise do leite com alta CCS, respectivamente. Entretanto, em um estudo mais recente, Santos et al. (2007) ao adicionarem células somáticas ao leite de baixa CCS, verificaram que não elevou a taxa de lipólise durante o armazenamento refrigerado do leite pasteurizado, sugerindo-se que a degradação da gordura do leite pasteurizado refrigerado não ocorre pela ação de enzimas associadas às células somáticas.

Segundo dados do National Mastitis Council (NMC, 1996) a concentração de lactose tende a diminuir com a elevação da CCS (Tabela 2). Corroborando com estes resultados, Harmon (1994) encontrou redução da concentração de lactose no leite com alta CCS, equivalente a 10% do valor normal. Brito & Dias (1998) mencionaram que a intensidade da redução varia de 5 a 20%. Da mesma forma Bueno et al. (2005) encontraram redução de 5,22% nos teores de lactose em leites com CCS de 200.000 céls mL<sup>-1</sup> para valores acima de 1.000.000 céls mL<sup>-1</sup>. Rajčević et al. (2003), constataram que CCS a partir de 100.000 céls mL<sup>-1</sup> ocasiona redução significativa no teor de lactose, de 0,07 pontos percentuais, quando estes valores alcançam 250.000 céls mL<sup>-1</sup>, chegando a 0,30 pontos percentuais até a última classe de CCS (>1000.000 céls mL<sup>-1</sup>), enquanto que Bueno et al. (2005) encontraram diferença de 0,06 pontos percentuais do limite mínimo de CCS (200.000 céls mL<sup>-1</sup>) para valores entre

201.000 e 400.000 céls mL<sup>-1</sup> e 0,16 pontos percentuais até valores superiores a 1.000.000 céls mL<sup>-1</sup>. Isto evidencia que a redução da CCS, mesmo dentro de limites considerados fisiológicos (200.000 céls mL<sup>-1</sup>) por Philpot & Nickerson (2002), provavelmente seja capaz de mitigar o efeito desta variável sobre a lactose, concordando com Lopes Júnior (2010), que afirma que a concentração de lactose no leite com CCS acima de 100.000 céls mL<sup>-1</sup> sofre uma redução contínua.

Da mesma maneira, a diminuição dos teores de lactose à medida que se eleva a CCS está corroborando com os valores de correlações negativas e os seus respectivos níveis de significância entre os teores de lactose e o escore linear de células somáticas (ECS) encontrados na literatura: Paura et al. (2002) ( $r=-0,398$ ;  $P<0,01$ ); Silva et al. (2000) ( $r=-0,340$ ;  $P<0,001$ ); Bueno et al. (2005) ( $r=-0,420$ ;  $P<0,001$ ); Rajčević et al. (2003) ( $r=-0,423$ ;  $P<0,001$ ) e El-Tahawi & El-Far (2010) ( $r=-0,344$ ;  $P<0,01$ ).

A redução no teor de lactose do leite à medida que se elevou os valores de CCS pode ser resultante de distúrbios da glândula mamária, ocorrendo menor biossíntese desse constituinte, ou pelo aumento da permeabilidade da membrana que separa o leite do sangue, ocasionando perda de lactose para corrente sanguínea, ou ainda por ação direta de patógenos mamários que utilizam como principal substrato, este carboidrato (MEPHAN, 1993; HARMON, 1994; AULDIST et al., 1995).

O teor de minerais do leite tende a aumentar à medida que se eleva os valores de CCS, pois segundo Shamay et al. (2003), embora o potássio e o cálcio diminuam em leite com altas CCS, o teor total de minerais eleva-se, em consequência do aumento no teor de sódio e cloro através do epitélio lesado, uma vez que as concentrações de sódio e cloro no sangue são normalmente maiores que as do leite, concordando com os resultados reportados pelo National Mastitis Council (NMC, 1996) (Tabela 2). Em relação à diminuição das concentrações de cálcio no leite com a elevação da CCS, isto estaria associado, a concomitante redução na síntese de caseína, considerando que a maioria do cálcio do leite estaria incorporado às micelas caseínicas (SANTOS, 2012). Contudo, este aumento na concentração de minerais não deve ser considerado favorável à qualidade do leite, pois, haveria substituição de elementos minerais mais nobres (Ca, K) em detrimento de minerais de menor importância nutricional (Na, Cl), além de proporcionar um desequilíbrio salino do leite, o que poderia contribuir para a diminuição da estabilidade das proteínas.

Segundo resultados do National Mastitis Council (1996), os sólidos totais (ST) diminuem com a elevação da CCS, a uma taxa de 3,22% (Tabela 2). Brito & Dias (1998)

afirmaram que a presença de mastite acarreta redução na concentração de sólidos totais em intensidade variável, entre 3 e 12%. Bueno et al. (2005) encontraram uma redução de 3,25%, de resultados de CCS menores que 200.000 céls mL<sup>-1</sup> para valores superiores a 1.000.000 céls mL<sup>-1</sup>, enquanto El-Tahawy & El-Far (2010) de 8,02% à medida que os resultados de CCS elevavam-se do primeiro intervalo (1.000 céls mL<sup>-1</sup> à 99.000 céls mL<sup>-1</sup>) para valores maiores que 400.000 céls mL<sup>-1</sup>. A diminuição do teor de sólidos totais reportados por estes autores estão refletidas nos coeficientes de correlação negativos e no nível de significâncias entre o escore linear de células somáticas (ECS) e sólidos totais (ST), de (r=-0,433; p<0,01) e (r=0,16; p<0,0001) para El-Tahawy & El-Far (2010) e Bueno et al. (2005), respectivamente. Por outro lado, Machado et al. (2000) e Silva et al. (2000) não verificaram diferença significativa na concentração de sólidos totais a medida que ocorria elevação da CCS.

Segundo o National Mastitis Council (1996) os valores de sólidos não gordurosos (SNG) tendem a diminuir com a elevação da CCS (Tabela 2), corroborando com El-Tahawy & El-Far (2010), que observaram uma diminuição significativa (P<0,05) nos teores de SNG a partir de CCS de 200.000 céls mL<sup>-1</sup>, com uma redução de 0,65 pontos percentuais até valores superiores a 1000.000 céls mL<sup>-1</sup>.

Como o teor de ST é resultado do somatório dos teores de gordura, proteína, lactose e minerais e o teor de SNG, do somatório destas variáveis exceto a gordura, as variações dos ST e SNG tem relação direta com os seus constituintes. Dessa maneira, as contradições reportadas anteriormente, sobre o efeito de elevadas CCS sobre as variáveis proteína e gordura, estão sendo refletidas nas alterações que a CCS exerce sobre os ST, enquanto que, como o teor de lactose teve correlação negativa com o escore linear de células somáticas (ECS) em todos os estudos reportados anteriormente, podemos inferir que o comportamento dos SNG frente à elevação da CCS é resultado da prevalência da diminuição da lactose sobre o comportamento da proteína, ou seja, de diminuição, havendo poucas contradições encontradas na literatura em relação a esta variável.

Todas as alterações que a inflamação da glândula mamária e o consequente incremento nos níveis de CCS causam nos componentes do leite terminam por afetar os produtos lácteos. Na indústria, mesmo quando se mistura o leite de várias origens em grandes tanques de armazenamento, para o processamento, o leite final poderá apresentar uma composição que não é inteiramente satisfatória para a manufatura de determinados produtos, causando sérios danos à indústria de derivados lácteos, como: a coagulação e floculação ocorrida durante o processamento térmico do leite pasteurizado e do leite em pó, devido a sua

menor estabilidade calórica (LE ROUX et al., 2003); mudanças significativas na viscosidade e sabor do iogurte (FERNANDES et al., 2007), geleificação e coagulação das proteínas do leite UHT durante a estocagem, devido a atividade residual de proteases bacterianas resistentes ao tratamento térmico (DATTA & DEETH, 2003); alterações na fabricação de queijos, como a redução no rendimento industrial, que pode variar de 4 a 11% (OLIVEIRA et al., 2012; SANTOS, 2012), aumento no conteúdo de água no coágulo (MITCHELL et al., 1986), alterações negativas nas propriedades sensoriais (MUNRO et al., 1984; AULDIST et al., 1996), aumento do tempo para formação do coágulo (KLEI et al., 1998; ROGERS & MITCHELL, 1994), baixa taxa de enrijecimento do coágulo e defeitos de textura (KLEI et al., 1998; POLITIS & NG-KWAI-HANG, 1988) e elevada perda de sólidos no soro do queijo (BARBANO et al., 1991).

### 2.3.3 Efeito da mastite e contagem bacteriana total (CBT) sobre os constituintes do leite e derivados lácteos

Características como elevada disponibilidade de nutrientes, alta atividade de água e pH próximo à neutralidade tornam o leite um ótimo meio de cultura para muitos microrganismos (LANGE & BRITO, 2003).

O leite cru pode ser contaminado a partir de grande variedade de microrganismos proveniente das mais diversas fontes. Entre os diversos microrganismos patogênicos e/ou deteriorantes que podem ser encontrados, destacam-se as bactérias ácido lácticas (*Lactococcus*, *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc*, *Enterococcus* ou *Streptococcus* spp.), *Pseudomonas* spp., bactérias pertencentes à família Micrococcaceae (*Micrococcus* e *Staphylococcus* spp.) e leveduras. Outros grupos microbianos presentes no leite cru incluem *Bacillus*, *Clostridium*, *Listeria* spp. e enterobactérias (TEBALDI et al., 2008). Nero et al. (2005) relataram uma alta frequência de amostras de leite *in natura* com elevados níveis de contaminação por aeróbios mesófilos, que por sua vez, são os principais microrganismos responsáveis pelo catabolismo da lactose, levando a produção de ácido lático, o qual em quantidades elevadas pode desestabilizar a caseína (FONSECA, 2005; FONSECA & SANTOS, 2000). O armazenamento do leite cru sob refrigeração possibilita a redução das perdas dessa matéria-prima pela atividade acidificante de bactérias mesofílicas, entretanto,

quando realizado por períodos prolongados, pode resultar em queda de qualidade dos produtos lácteos, devido ao crescimento e à atividade enzimática de bactérias psicotróficas (COUSIN, 1982; VIDAL-MARTINS et al., 2005). As alterações causadas por estas bactérias são responsáveis por limitações na utilização da matéria-prima e comprometem as propriedades organolépticas e a vida de prateleira dos produtos lácteos (BUENO et al., 2008).

Desde início dos anos 1990, pesquisadores, produtores de leite, veterinários e a indústria do setor lácteo, ficaram interessados na CBT como uma ferramenta auxiliar tanto para determinar qualidade do leite como para solucionar problemas de mastite nos rebanhos leiteiros (JAYARAO et al., 2004).

Nos últimos anos, foram realizados muitos estudos com o intuito de avaliar a qualidade microbiológica do leite cru refrigerado. Considerando o limite que entrará em vigor a partir do dia 1º de julho de 2016 ( $100.000 \text{ UFC mL}^{-1}$ ), Martins et al. (2008), Bueno et al. (2004) e Fonseca et al. (2004) observaram frequências de 23,34%, 43,53% e 33,4%, em conformidade com a norma brasileira, respectivamente. No entanto, estes mesmos autores encontraram frequências consideráveis de amostras com CBT acima de  $1.000.000 \text{ UFC mL}^{-1}$ , sendo que Bueno et al. (2004) reportaram 22,47%, Fonseca et al. (2004), 24,6% e Martins et al. (2008), 30,0%.

Os valores médios de CBT encontrados por Aaku et al. (2004) em Botswana ( $5.500.000 \text{ céls mL}^{-1}$ ), por Torkar & Teger (2008) na Eslovênia ( $32.000 \text{ UFC mL}^{-1}$ ), e ainda valores reportados no território nacional, como os relatados por Arcuri et al. (2006) em Minas Gerais e Rio de Janeiro ( $492.142 \text{ UFC mL}^{-1}$ ), Citadin et al. (2009) no Paraná ( $513.075 \text{ céls mL}^{-1}$ ), por Luz et al. (2011) em Mato Grosso do Sul ( $490.000 \text{ UFC mL}^{-1}$ ) e Borges et al. (2009) no Rio Grande do Sul ( $1.070.000 \text{ UFC mL}^{-1}$ ), evidenciam a existência de falhas generalizadas nos procedimentos de ordenha e refrigeração do leite na propriedade (SORIANO et al. 2001), que pode estar relacionada com a higiene pessoal e treinamento do ordenhador (ANDRADE, 1997; DIAS FILHO, 1997), ou com a água, por sua intensa utilização nas atividades de ordenha, podendo assim constituir também em expressiva fonte de bactérias contaminantes do leite (FONSECA et al., 1999). Segundo Winch & Thaler Neto (2009), a preparação do úbere antes da ordenha afeta os resultados da CBT. Estes autores observaram melhores resultados para os produtores que afirmavam fazer pré-imersão das tetas em desinfetantes ( $P < 0,01$ ), técnica que, de acordo com Hemlling (2002) e Santos & Fonseca (2007), auxilia consideravelmente no controle da contaminação do leite. A mastite também influencia na elevação da contagem bacteriana total, principalmente quando causada por

*Streptococcus agalactiae* ou em casos clínicos provocados por *Escherichia coli* ou *Streptococcus uberis* (FONSECA & SANTOS, 2000).

A determinação da contagem bacteriana total do leite (CBT) é importante para avaliação da higiene de ordenha, da saúde dos animais e das condições de estocagem e transporte do leite cru, sendo uma importante ferramenta no controle da qualidade do mesmo e, conseqüentemente, permite inferir os prováveis efeitos adversos sobre o rendimento industrial e inocuidade do leite (FONSECA & SANTOS, 2000).

O incremento da CBT pode ser resultante da mastite e, este alto efetivo microbiano em conjunto com as possíveis alterações que estes microrganismos podem causar na glândula mamária, pode afetar significativamente a composição centesimal do leite.

Vale ressaltar que são escassos resultados reportados na literatura que caracterizem o efeito da CBT sobre os teores de gordura, proteína, lactose, minerais, sólidos totais (ST), sólidos não gordurosos (SNG) e a contagem de células somáticas (CCS) do leite. No entanto, conforme a elevação da contaminação bacteriana existe a possibilidade de ocorrer elevação dos teores de gordura. Entretanto, este aumento na gordura não deve ser considerado favorável à qualidade do leite, pois uma vaca com infecção da glândula mamária pode contribuir de forma significativa para elevação da CBT do leite, e assim, o incremento nos valores de gordura, possivelmente pode estar relacionado à redução na produção de leite, que é mais acentuada que a redução na síntese de gordura, ocorrendo concentração deste constituinte (MACHADO et al., 2000).

Bueno et al. (2008) observaram diminuição na concentração de gordura com a elevação da CBT, que por sua vez reflete-se no coeficiente de correlação linear negativo e no nível de significância que estes autores obtiveram ( $r=-0,03$ ;  $P<0,0001$ ). Da mesma maneira, Andrade et al. (2009) reportaram diminuição na concentração de gordura com a elevação da CBT, o que poderia ser decorrente da ação de fosfolipases de origem bacteriana, principalmente a fosfolipase C e a lecitinase, das bactérias psicotróficas, que são microrganismos capazes de se desenvolver em temperaturas abaixo de 7°C, sendo os principais agentes de deterioração do leite cru refrigerado (MARTINS et al., 2005). Essas enzimas podem contribuir com a hidrólise dos triacilglicerídeos (CHEN et al., 2003), através do rompimento da membrana fosfolipídica dos glóbulos de gordura, originando ácidos graxos livres (AGL), que quando presentes acima de limites de tolerância contribuem para o efeito negativo sobre o sabor conhecido como rancidez ou rancidez hidrolítica (COLLINS et al., 2003; KOCA et al., 2007, HANUŠ et al., 2008).

Bueno et al. (2008) encontraram aumento no teor de proteína ( $P < 0,05$ ) a partir de valores de CBT inferiores a  $10.000 \text{ UFC mL}^{-1}$  e superiores a  $1.000.000 \text{ UFC mL}^{-1}$ . Estes resultados refletem-se no nível de significância e no coeficiente de correlação positivo encontrados por estes autores ( $r=0,04$ ;  $P < 0,0001$ ). No entanto, este aumento na concentração de proteína com o incremento da CBT também não deve ser considerado favorável à qualidade do leite, pois a elevação da contaminação bacteriana pode ser decorrente da mastite, o que poderia contribuir para a alteração da permeabilidade dos capilares sanguíneos que permitem influxo de proteínas séricas (albumina sérica e imunoglobulinas) para o interior da glândula mamária, a fim de combater a infecção (BRITO & BRITO, 2012; PEREIRA et al., 1999).

Andrade et al. (2009), encontraram decréscimo no teor de proteína com a elevação da CBT, o que segundo Harmon (1994), pode ser decorrente da expressiva redução da fração de caseína, pela sua degradação por proteases bacterianas e leucocitárias (devido à resposta inflamatória) e pela diminuição de sua síntese devido à inflamação da glândula mamária (mastite). Nesse sentido, quando a contagem bacteriana do leite é elevada, os microrganismos psicrotróficos podem produzir proteases extracelulares que são liberadas no leite e contribuem de maneira significativa para a degradação de proteínas (COUSIN, 1982). Essas proteases afetam predominantemente a  $\kappa$ -caseína, de forma semelhante à quimosina, liberando o caseinomacropéptido (CMP), porém apresentam menor especificidade que a quimosina (DATTA & DEETH, 2003). Isto ocorre, pois essa fração protéica está situada na porção externa da camada de caseína enquanto a  $\beta$ -caseína e a  $\alpha$ -caseína situam-se nas camadas mais internas, sendo menos susceptíveis à ação das proteases (COUSIN, 1982). Essa fração da proteína, ao ser hidrolisada, provoca desestabilização da micela caseínica, levando a coagulação do leite (MUIR, 1996) e, possivelmente altera a sua composição proteica, resultando no acúmulo de pequenos peptídeos, os quais são responsáveis pelo desenvolvimento de sabor amargo e adstringente (MA et al., 2000; RECIO et al., 2000; MATIOLI et al., 2000).

Segundo Bueno et al. (2005), os teores de lactose diminuem ( $P < 0,05$ ) com o incremento da CBT, à taxa de 0,44% da primeira ( $\leq 10.000 \text{ UFC mL}^{-1}$ ) para a última classe ( $> 1.000.000 \text{ UFC mL}^{-1}$ ). Concordando com estes autores, Milani (2011) também encontrou menores teores de lactose com o aumento da CBT.

A elevação dos valores de CBT pode ser resultante de distúrbios da glândula mamária, e a redução da lactose, possivelmente ocorre pela menor biossíntese desse constituinte, ou

pelo aumento da permeabilidade da membrana que separa o leite do sangue, ocasionando perda de lactose para corrente sanguínea, ou ainda por ação direta destes patógenos mamários que utilizam como principal substrato, este carboidrato (MEPHAN, 1993; HARMON, 1994; AULDIST et al., 1995). Basicamente, podemos dizer que os microrganismos mesófilos predominam em situações em que há falta de condições básicas de higiene bem como falta de refrigeração do leite. Em tais circunstâncias, bactérias como *Lactobacillus*, *Streptococos*, *Lactococos* e algumas enterobactérias, atuam intensamente através da fermentação da lactose, produzindo ácido láctico e gerando, conseqüentemente, acidez do leite, que é um dos problemas mais frequentemente detectados ao nível de plataforma. A acidez do leite pode ocasionar a coagulação da caseína e, assim, limitar o seu uso para o processamento em seus derivados.

Apesar de não haver relatos na literatura, sobre o efeito da CBT sobre os teores de minerais do leite, à medida que se elevam os valores de CBT, pode ocorrer um incremento deste constituinte, que pode ser decorrente da inflamação da glândula mamária, pois nestas situações, segundo Shamay et al. (2003), embora o potássio e o cálcio diminuam, o teor de minerais eleva-se em conseqüência do aumento no teor de sódio e cloro através do epitélio lesado, uma vez que as concentrações de sódio e cloro no sangue são normalmente maiores que as do leite. Em relação à diminuição das concentrações de cálcio no leite com a elevação da CBT, isto estaria associado à concomitante redução na síntese de caseína devido a possível inflamação da glândula mamária, considerando que a maioria do cálcio do leite estaria incorporado nas micelas de caseína (SANTOS, 2012). Contudo, este aumento na concentração de minerais não deve ser considerado favorável à qualidade do leite, pois, haveria substituição de elementos minerais mais nobres (Ca, K) em detrimento de minerais de menor importância nutricional (Na, Cl), além de proporcionar um desequilíbrio salino do leite, o que poderia contribuir para a diminuição da estabilidade das caseínas.

Bueno et al. (2008) relataram aumento do teor de sólidos totais ( $r=0,02$ ;  $P<0,05$ ) à medida que se elevou a CBT do leite. Como o teor de ST é resultante do somatório dos teores de gordura, proteína, lactose e minerais, provavelmente o aumento desta variável deve-se ao comportamento, que estes autores observaram, da proteína frente ao incremento da CBT ( $r=0,04$ ;  $P<0,0001$ ). Nesse sentido, o teor de sólidos não gordurosos tem tendência de diminuir, frente ao incremento dos valores de CBT, pois esta variável provavelmente reflete a diminuição da lactose em condições de elevada contaminação microbiana, principalmente às bactérias mesófilas, que utilizam este carboidrato como principal substrato.



Diante do exposto, o incremento da CBT pode ser resultante da inflamação da glândula mamária, e este alto efetivo microbiano em conjunto com as possíveis alterações que estes microrganismos podem causar, geram prejuízos industriais impactantes, como: acidificação e coagulação, produção de gás, geleificação, sabor amargo, coagulação sem acidificação, aumento da viscosidade, alteração de cor, produção de sabores, odores variados, dentre outros (VARNAM & SUTHERLAND, 1994; PRATA, 2001; GIGANTE, 2004), os quais diminuem a vida de prateleira e o rendimento industrial dos derivados lácteos (GIGANTE, 2004).

**3 MANUSCRITOS**

### 3.1 Manuscrito 1

Manuscrito em fase final de revisão pelos autores para ser submetido à Revista Semina: Ciências Agrárias

(Configuração conforme as normas da Revista – Anexo A)

#### 1 Efeito da contagem de células somáticas sobre os constituintes do leite

#### 2 Effect of somatic cell count on milk constituents

3

4 **Resumo:** Este estudo teve por objetivos avaliar o efeito da contagem de células somáticas (CCS) sobre os  
 5 constituintes do leite, verificando a influência que as variáveis climáticas exercem sobre esta variável. Os  
 6 dados utilizados foram de unidades produtoras de leite referentes a 15 municípios da bacia leiteira do Vale  
 7 do Taquari, Rio Grande do Sul. Foram tabulados os dados de CCS, contagem bacteriana total (CBT) e  
 8 composição centesimal do leite, referentes ao período de junho de 2008 a dezembro de 2011, totalizando  
 9 44.089 amostras analisadas. A temperatura ambiente apresentou correlação positiva e significativa com o  
 10 escore de células somáticas, enquanto a precipitação pluviométrica e a umidade relativa do ar, ausência de  
 11 correlação. Os teores de gordura, proteína, minerais e sólidos totais foram diretamente correlacionados com a  
 12 CCS, enquanto que os sólidos não gordurosos e a lactose apresentaram comportamento inverso. Através da  
 13 análise de componentes principais (ACP), auxiliada pelo método hierárquico aglomerativo de agrupamento,  
 14 os 7 tratamentos presentes no estudo foram reduzidos a 5 grupos de acordo com a similaridade, permitindo  
 15 constatar que leites com CCS superiores a 400.000 até 750.000 céls mL<sup>-1</sup>, apresentam a mesma qualidade,  
 16 não justificando a estratificação de intervalos nesta amplitude de variação. Paralelamente, observou-se que  
 17 somente limites de normas regulatórias não são suficientes para melhorias da qualidade do leite, sugerindo-se  
 18 parâmetros para sistemas de pagamento baseado na bonificação e penalização em relação à CCS.

19

20 **Palavras-chave:** composição centesimal do leite, mastite, qualidade química do leite, qualidade higiênico-  
 21 sanitária do leite, variáveis climáticas

22

23 **Abstract:** The study aims to evaluate the effect of somatic cell count (SCC) on the constituents of milk,  
 24 checking the influence that the climatic variables have on these variable. Data were obtained from 1,541  
 25 dairy farms located in 15 municipalities in the dairy region of Vale do Taquari, Rio Grande do Sul. It was  
 26 tabulated the data from SCC, total bacterial count (TBC) and milk composition, from June 2008 to  
 27 December 2011, totaling 44,089 samples. The ambient temperature showed positive and correlation to score  
 28 of somatic cell, while rainfall and relative humidity air showed no correlation. The fat, protein, minerals and  
 29 total solids were directly correlated with the CCS, while solids-not-fat and lactose showed an opposite  
 30 behavior. Through of the principal component analysis (PCA), aided by the agglomerative hierarchical  
 31 clustering method, the seven treatments in the present study were reduced to five groups according to the  
 32 similarity, note that allowing milk with SCC above 400,000 to 750,000 cels mL<sup>-1</sup>, have the same quality, not  
 33 justifying the stratification intervals in this range of variation. In addition, it was observed that only limits

34 regulatory standards are not sufficient for improvement of milk quality, suggesting parameters for the  
35 payment system based on the bonus and penalty relative to the SCC.

36

37 **Key words:** composition of milk, mastitis, milk chemical quality, hygienic-sanitary quality of milk, climatic  
38 variables

39

40

## Introdução

41

42 A contagem de células somáticas (CCS) no leite, além de ser um método de diagnóstico da mastite  
43 subclínica, é uma ferramenta significativa na estimativa das perdas quantitativas e qualitativas de produção  
44 do leite e derivados (MACHADO et al., 2000). Dessa maneira, vários trabalhos científicos têm procurado  
45 estimar o efeito que a CCS exerce sobre os constituintes do leite.

46 Segundo Santos & Fonseca (2007), o teor de proteína do leite não varia significativamente. Entretanto,  
47 Machado et al. (2000) e El-Tahawy & El-Far (2010) verificaram aumento no teor proteico com a redução da  
48 CCS, enquanto Noro et al. (2006) e Najafi et al. (2009) evidenciaram comportamento inverso.

49 A concentração da gordura no leite com elevada CCS tende a diminuir (AULDIST et al., 1995; EL-  
50 TAHAWY & EL-FAR, 2010). No entanto, Noro et al. (2006) encontraram maior concentração de gordura  
51 com o incremento da CCS.

52 O teor de lactose reduz à medida que se elevam os valores de CCS, porém, há divergências em relação  
53 ao limite mínimo para que a alteração seja significativa. El-Tahawy & El-Far (2010), Bueno et al. (2005) e  
54 Rajčević et al. (2003) observaram redução no teor de lactose com CCS a partir de 300.000 céls mL<sup>-1</sup>,  
55 200.000 céls mL<sup>-1</sup> e 100.000 céls mL<sup>-1</sup>, respectivamente.

56 Em relação ao teor médio de sólidos totais (ST), El-Tahawy & El-Far (2010) observaram diminuição  
57 significativa com o incremento da CCS, em contrapartida, Bueno et al. (2005) verificaram um aumento. Por  
58 outro lado, Machado et al. (2000) e Silva et al. (2000) não verificaram diferença significativa nos teores de  
59 ST a medida que eleva-se a CCS do leite.

60 Diante do exposto, observa-se que o efeito da CCS sobre os teores de gordura, proteína, lactose e ST é  
61 amplamente discutido na literatura, porém, os resultados reportados são extremamente contraditórios.  
62 Paralelamente, nota-se a escassez de estudos que caracterizem o efeito da CCS sobre variáveis importantes  
63 para a qualidade química e microbiológica do leite, como os teores de sólidos não gordurosos (SND) e  
64 minerais, e a contagem bacteriana total (CBT), respectivamente.

65 Nesse contexto, objetivou-se caracterizar o efeito da CCS sobre a composição química e  
66 microbiológica do leite e avaliar a influência que as variáveis climáticas exercem sobre a CCS, empregando  
67 um tempo representativo de coleta de dados, minimizando possíveis efeitos aleatórios que levariam a erros  
68 de interpretação.

69

70

71

## Material e Métodos

72  
73  
74  
75  
76  
77  
78  
79  
80  
81  
82  
83  
84  
85  
86  
87  
88  
89  
90  
91  
92  
93  
94  
95  
96  
97  
98  
99  
100  
101  
102  
103  
104

Os dados utilizados foram obtidos a partir dos laudos oficiais emitidos pelo Laboratório de Serviço de Análises de Rebanhos Leiteiros (SARLE), órgão credenciado junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), os quais continham 54.696 registros de gordura (GORD), proteína (PROT), lactose (LACT), sólidos não gordurosos (SND), sólidos totais (ST), contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT), obtidos de amostras de leite coletados em tanque de expansão de 1.706 propriedades, durante o período de junho de 2008 a dezembro 2011.

Para obtenção da consistência do banco de dados, os registros foram considerados em classes mensais. Foram excluídos do arquivo, propriedades com menos de quatro controles e com três desvios-padrão acima ou abaixo da média da característica no mês. Após as restrições, foram utilizados nas análises estatísticas 44.089 registros de 1.541 rebanhos, referentes a 15 municípios, localizados na região sul do Brasil.

Com o intuito de linearizar os dados, a CCS foi transformada em escore linear de células somáticas ECS=  $[\log_2(\text{CCS}/100)]+3$  (SHOOK, 1993) e a CBT transformada pelo logaritmo natural da CBT normal e denominada CBT transformada (CBTt).

Após edição e linearização, os dados apresentaram a estatística descritiva demonstrada na Tabela 1.

A GORD, PROT, LACT, ST e SNG foram determinados por espectrofotometria com radiação infravermelha utilizando equipamento Bentley® 2000 (Bentley Instruments, EUA), enquanto a CCS e a CBT foram analisadas por citometria de fluxo utilizando equipamento Somacount® 300 (Bentley Instruments, EUA).

Os dados meteorológicos das médias mensais da temperatura média, umidade relativa do ar (URA) e precipitação pluviométrica referentes ao período experimental foram obtidos no Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), situado em Brasília, Distrito Federal, a partir da estação climática em Teutônia/RS.

Os dados de CCS foram divididos em sete (7) classes estabelecidas de acordo com seus valores fisiológicos e regulatórios (BRASIL, 2002; BRASIL, 2011; PHILPOT & NICKERSON, 2002). As classes avaliadas foram: (1)  $\text{CCS} \leq 200.000$  céls  $\text{mL}^{-1}$ ; (2)  $200.000 < \text{CCS} \leq 400.000$  céls  $\text{mL}^{-1}$ ; (3)  $400.000 < \text{CCS} \leq 500.000$  céls  $\text{mL}^{-1}$ ; (4)  $500.000 < \text{CCS} \leq 600.000$  céls  $\text{mL}^{-1}$ ; (5)  $600.000 < \text{CCS} \leq 750.000$  céls  $\text{mL}^{-1}$ ; (6)  $750.000 < \text{CCS} \leq 1.000.000$  céls  $\text{mL}^{-1}$ ; e (7)  $\text{CCS} > 1.000.000$  céls  $\text{mL}^{-1}$ .

As variáveis dependentes (GORD, PROT, LACT, minerais, SNG, ST e CBT) foram testadas quanto à normalidade residual pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e quanto à homocedasticidade pelo teste de Levene. Posteriormente, foram submetidas à análise de variância univariada pelo procedimento de modelos lineares gerais (PROC GLM) em delineamento inteiramente casualizado conforme o modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

105 em que  $Y_{ij}$  = valor observado na  $i$ -ésima classe de CCS e  $j$ -ésima repetição;  $\mu$  = média geral da  
 106 variável resposta;  $\alpha_i$  = efeito fixo da  $i$ -ésima classe de CCS; e  $\varepsilon_{ij}$  = efeito aleatório associado à observação  
 107  $Y_{ij}$ ; pressuposto  $\varepsilon_{ij} \stackrel{iid}{\sim} N(0, \sigma^2)$ .

108 Em seguida, suas médias foram ajustadas pelo método dos quadrados mínimos ordinários com o  
 109 comando LSMEANS (*Least Squares Means*) e comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de  
 110 significância. Além disso, foi realizada análise de correlação simples entre ECS e CCS, com as variáveis  
 111 GORD, PROT, LACT, minerais, SNG, ST e CBT. Adicionalmente, também foi efetuada análise de  
 112 correlação simples da ECS com as variáveis meteorológicas (médias mensais da temperatura média, umidade  
 113 relativa do ar e precipitação pluviométrica).

114 Objetivando reduzir a dimensionalidade do conjunto original de variáveis com menor perda de  
 115 informação possível, procedeu-se análise de variância multivariada pelo procedimento GLM e o comando  
 116 MANOVA, conforme o modelo estatístico:

$$117 \quad Y_{ijk} = \mu_k + H_{ik} + e_{ijk}$$

118 em que  $Y_{ijk}$  = valor observado da  $k$ -ésima variável, sob a  $i$ -ésima classe de CCS e  $j$ -ésima  
 119 repetição;  $\mu_k$  = média geral da  $k$ -ésima variável;  $H_{ik}$  = efeito fixo da  $i$ -ésima classe de CCS na  $k$ -ésima  
 120 variável; e  $e_{ijk}$  = efeito aleatório associado à observação  $Y_{ijk}$ .

121 As variáveis empregadas na análise multivariada foram GORD, PROT, LACT, minerais e CBTt. As  
 122 demais variáveis foram eliminadas do modelo devido às altas correlações existentes entre as mesmas,  
 123 formando matrizes de dispersão singulares e causando problemas de multicolinearidade ou dependência  
 124 linear entre as variáveis.

125 Na análise multivariada para testar a hipótese de que os vetores de médias dos tratamentos (classes de  
 126 CCS) fossem nulos, ou seja,  $H_0: \mu_{CCS \leq 200000} = \dots = \mu_{CCS > 1.000000}$ , foi realizado o teste de Wilks como segue:

$$127 \quad \Lambda = \frac{|E|}{|A|}$$

128 em que:  $|E|$  é o determinante da matriz **E** referente a soma de quadrados e produtos residuais;  $|A|$  é  
 129 determinante da matriz **A** referente a soma de quadrados e produtos totais.

130 Após, foi efetuada a análise de componentes principais – ACP (*Principal Component Analysis - PCA*)  
 131 para ordenação das classes de CCS, sendo uma técnica de análise multivariada que permite o agrupamento  
 132 das classes de CCS similares mediante o exame visual das dispersões gráficas. Salienta-se que a unidade de  
 133 medida dos componentes principais é uma combinação linear das unidades de medida de cada variável  
 134 observada, sendo, na maioria das vezes, sem sentido. Por isso, para melhor interpretação dos resultados, foi  
 135 feita a padronização dos dados de forma que estes tivessem média zero e variância igual a um, ou seja, com  
 136 base na matriz de correlação. A análise de componentes principais foi executada com o procedimento  
 137 PRINCOMP.

138 As análises estatísticas foram executadas no aplicativo SAS<sup>®</sup> *System for Windows*<sup>™</sup> versão 9.0 (SAS  
139 Institute Inc., Cary - NC, USA).

140

141

## Resultados e Discussão

142

143 Os teores de gordura aumentaram ( $P < 0,05$ ) com a elevação da CCS (Tabela 2). Da mesma maneira,  
144 Pereira et al. (1999), Machado et al. (2000) e Noro et al. (2006) também encontraram aumento nas  
145 concentrações de gordura com a elevação dos valores de CCS. Entretanto, este aumento não deve ser  
146 considerado favorável à qualidade do leite, pois, segundo Machado et al. (2000) a provável redução na  
147 produção de leite devido à infecção da glândula mamária é mais acentuada que a redução na síntese de  
148 gordura, ocorrendo concentração desse constituinte. Vale destacar também, que o efeito sobre a composição  
149 da gordura não foi avaliado neste estudo, e provavelmente, além de alterações na concentração da gordura, a  
150 elevação nos valores de CCS, através da ação das lipases de origem de células somáticas, pode contribuir  
151 com a hidrólise dos triacilglicerídeos, com o rompimento da membrana dos glóbulos de gordura, originando  
152 ácidos graxos livres (AGL), que quando presentes acima de limites de tolerância contribuem para o efeito  
153 negativo sobre o sabor conhecido como rancidez ou rancidez hidrolítica (KOCA et al., 2007; HANUŠ et al.,  
154 2008).

155 Os teores de proteína também aumentaram ( $P < 0,05$ ) com a elevação dos valores de CCS (Tabela 2).  
156 Dados da literatura (RAJČEVIČ et al., 2003; NORO et al., 2006; NAJAFI et al., 2009) também  
157 evidenciaram este mesmo comportamento. No entanto, este aumento na concentração de proteína com o  
158 incremento da CCS também não deve ser considerado favorável à qualidade do leite, pois pode ser  
159 decorrente não só da proteína celular, mas também da alteração da permeabilidade dos capilares sanguíneos  
160 que permitem influxo de proteínas séricas (albumina sérica e imunoglobulinas) para o interior da glândula  
161 mamária, a fim de combater a infecção (PEREIRA et al., 1999).

162 Paralelamente, segundo Harmon (1994), pode ocorrer expressiva redução da fração de caseína, pela  
163 sua degradação por proteases bacterianas e leucocitárias e pela diminuição de sua síntese devido à  
164 inflamação da glândula mamária (mastite). Neste sentido, no leite com elevada CCS, ocorre um aumento da  
165 atividade enzimática, promovendo maior ativação do plasminogênio em plasmina, a qual promove  
166 proteólise, principalmente na caseína e, mais especificamente, na  $\beta$ -caseína e  $\alpha_{s2}$ -caseína, alterando a  
167 composição proteica do leite e diminuindo o rendimento na fabricação do queijo, além de resultar no  
168 acúmulo de pequenos peptídeos, os quais são responsáveis pelo desenvolvimento de sabor amargo e  
169 adstringente (MA et al., 2000).

170 Segundo Considine et al. (2002), além da plasmina, a catepsina-G, uma das principais proteases  
171 liberadas pelos polimorfonucleares, contribui para proteólise do leite, resultando em peptídeos similares aos  
172 liberados pela plasmina. Desta forma, sistemas de pagamento baseados em porcentagem de proteína total,  
173 sem considerar a CCS, apresentam limitações, uma vez que o rendimento industrial do leite está associado  
174 principalmente à fração de caseína (MA et al., 2000).

175 Os teores de lactose diminuíram ( $P < 0,05$ ) com o incremento da CCS (Tabela 2), observando-se  
176 diferença de 0,04 pontos percentuais do limite mínimo de CCS ( $< 200.000 \text{ céls mL}^{-1}$ ) para a classe  
177 subsequente ( $200.000 < \text{CCS} \leq 400.000 \text{ céls mL}^{-1}$ ), corroborando com os resultados reportados por Bueno et al.  
178 (2005), que relataram diminuição de 0,06 pontos percentuais, considerando os mesmos intervalos de CCS.  
179 Por outro lado, Rajčević et al. (2003), constataram que CCS a partir de  $100.000 \text{ céls mL}^{-1}$  ocasiona redução  
180 significativa no teor de lactose, de 0,07 pontos percentuais, quando estes valores alcançam  $250.000 \text{ céls mL}^{-1}$ . Isto evidencia que a redução da CCS, mesmo dentro de limites considerados fisiológicos ( $200.000 \text{ céls mL}^{-1}$ ) por Philpot & Nickerson (2002), provavelmente seja capaz de mitigar o efeito desta variável sobre a lactose.

184 A redução no teor de lactose do leite à medida que se elevou os valores de CCS pode ser resultante de  
185 distúrbios da glândula mamária, ocorrendo menor biossíntese desse constituinte, ou pelo aumento da  
186 permeabilidade da membrana que separa o leite do sangue, ocasionando perda de lactose para corrente  
187 sanguínea, ou ainda por ação direta de patógenos mamários que utilizam como principal substrato, este  
188 carboidrato (HARMON, 1994; AULDIST et al., 1995).

189 Os teores de minerais do leite aumentaram ( $P < 0,05$ ) à medida que se elevaram os valores de CCS  
190 (Tabela 2), pois segundo Shamay et al. (2003), embora o potássio e o cálcio diminuam em leite com alta  
191 CCS, o teor de minerais eleva-se em consequência do aumento no teor de sódio e cloro através do epitélio  
192 lesado, uma vez que as concentrações de sódio e cloro no sangue são normalmente maiores que as do leite.  
193 Em relação à diminuição das concentrações de cálcio no leite com a elevação da CCS, isto estaria associado  
194 a concomitante redução na síntese de caseína, considerando que a maioria do cálcio do leite estaria  
195 incorporado às micelas caseínicas (NEVILLE & WATERS, 1983). Contudo, este aumento na concentração  
196 de minerais não deve ser considerado favorável à qualidade do leite, pois, haveria substituição de elementos  
197 minerais mais nobres (Ca, K) em detrimento de minerais de menor importância nutricional (Na, Cl), além de  
198 proporcionar um desequilíbrio salino do leite, o que poderia contribuir para a diminuição da estabilidade das  
199 caseínas.

200 O teor de sólidos totais elevou ( $P < 0,05$ ) com o incremento da CCS, a uma taxa de 6,68% (Tabela 2).  
201 Por outro lado, Brito & Dias (1998) afirmaram que a presença de mastite acarreta redução na concentração  
202 de sólidos totais em intensidade variável, entre 3 e 12%, concordando com resultados reportados por Bueno  
203 et al. (2005), que encontraram uma redução de 3,25%, do primeiro ( $< 200.000 \text{ céls mL}^{-1}$ ) para o último  
204 intervalo de CCS ( $> 1.000.000 \text{ céls mL}^{-1}$ ), enquanto El-Tahawy & El-Far (2010), de 8,02% à medida que os  
205 resultados de CCS elevavam-se do intervalo que compreendia os menores valores de CCS ( $1.000 \text{ céls mL}^{-1}$  à  
206  $99.000 \text{ céls mL}^{-1}$ ) para os valores mais elevados ( $> 400.000 \text{ céls mL}^{-1}$ ).

207 O teor de sólidos não gordurosos (SNG) diminuiu ( $P < 0,05$ ) com a elevação da CCS (Tabela 2),  
208 concordando com El-Tahawy & El-Far (2010), que observaram uma diminuição significativa nos teores de  
209 SNG a partir de CCS de  $200.000 \text{ céls mL}^{-1}$ , com uma redução de 0,65 pontos percentuais até valores  
210 superiores a  $1.000.000 \text{ céls mL}^{-1}$ .

211 A diminuição ( $P < 0,05$ ) nos sólidos não gordurosos e o aumento ( $P < 0,05$ ) nos sólidos totais  
212 encontrados neste estudo, à medida que se elevou a CCS, provavelmente deve-se ao primeiro estar associado



213 com o comportamento obtido para a lactose e o segundo com o comportamento encontrado para a gordura do  
214 leite (Tabela 2).

215 Os teores de gordura, proteína, minerais e sólidos totais apresentaram correlação positiva, ao passo  
216 que a lactose e os sólidos não gordurosos apresentaram correlação negativa com a CCS e a ECS (Tabela 3).  
217 Todavia, as correlações foram de baixa magnitude e sem significado prático. Resultados semelhantes da  
218 correlação entre gordura e ECS foram reportados por Bueno et al. (2005) ( $r=0,04$ ;  $P<0,05$ ), Pereira et al.  
219 (1999) ( $r=0,06$ ;  $P<0,05$ ), Paura et al. (2002) ( $r=0,06$ ;  $P<0,01$ ) e Rajčević et al. (2003) ( $r=0,13$ ;  $P<0,01$ ), em  
220 contrapartida, correlações negativas e significativas também foram relatados, como de  $r=-0,27$  e  $P<0,05$   
221 (NAJAFI et al., 2009) e  $r=-0,13$  e  $P<0,01$  (EL-TAHAWY & EL-FAR, 2010), ou seja, a concentração de  
222 gordura no leite com elevada CCS também pode diminuir, provavelmente em virtude da ação de lípases  
223 leucocitárias e lipoprotéicas (HARMON, 1994; AULDIST et al., 1995).

224 Da mesma maneira, valores de correlações negativas e significativas entre os teores de lactose e o ECS  
225 são encontrados na literatura, como:  $r=-0,398$  e  $P<0,01$  (PAURA et al., 2002);  $r=-0,340$  e  $P<0,001$  (SILVA  
226 et al., 2000);  $r=-0,420$ ;  $P<0,001$  (BUENO et al., 2005);  $r=-0,423$  e  $P<0,001$  (RAJČEVIČ et al., 2003); e  $r=-$   
227  $0,344$  e  $P<0,01$  (EL-TAHAWY & EL-FAR, 2010), confirmando os resultados obtidos neste estudo (Tabela  
228 3).

229 Através do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) encontrado (Tabela 3), pode-se constatar que apenas  
230 9,73% da variação da lactose pode ser explicada pelo ECS. Dessa maneira, apesar do baixo coeficiente de  
231 determinação encontrado, pode-se inferir que a lactose é o componente do leite que sofre maior variação  
232 devido à elevação da CCS. Resultados semelhantes foram encontrados por El-Tahawy & El-Far (2010), que  
233 verificaram que 11,83% da volubilidade da lactose é responsabilidade da CCS. Entretanto, Bueno et al.  
234 (2005) e Rajčević et al. (2003) observaram que, respectivamente, 17,64 e 17,89% da redução da lactose  
235 deve-se a elevação da CCS, reforçando os resultados de Klinkon et al. (2002), que mostraram que o conteúdo  
236 de lactose no leite juntamente com a CCS poderia ser de grande ajuda no controle da saúde da glândula  
237 mamária.

238 O teor de ST apresentou correlação positiva com a ECS, enquanto o de SNG, correlação negativa  
239 (Tabela 3). Entretanto, El-Tahawy & El-Far (2010) e Abascal et al. (2005) relataram correlação negativa  
240 entre ECS e ST e ECS e SNG, enquanto Silva et al. (2000) verificaram ausência de correlação significativa  
241 entre ECS e ST.

242 Esses resultados contraditórios talvez possam ser explicados, pela relação direta que o teor de ST e  
243 SNG tem com as variáveis que os constituem. Assim, neste estudo, o aumento dos teores de gordura,  
244 proteína e minerais, à medida que se elevou a CCS, prevaleceu sobre a diminuição da lactose, o que resultou  
245 na correlação positiva encontrada entre ECS e ST, por outro lado, o aumento de proteína e minerais não se  
246 sobressaiu ao decréscimo da lactose, o que por sua vez resultou na correlação negativa entre ECS e SNG  
247 (Tabela 3).

248 Pode-se observar que houve correlação positiva entre ECS e temperatura ambiente (Tabela 4),  
249 corroborando com resultados reportados por Bueno et al. (2005) ( $r=0,80$ ;  $P<0,01$ ). Da mesma maneira,

250 Roma Júnior et al. (2009) e Philpot & Nickerson (2002), verificaram os maiores valores de CCS nos  
251 períodos mais quentes do ano.

252 A correlação positiva obtida entre ECS e temperatura média (Tabela 4), pode ser explicada pelo fato  
253 que animais sob condições adversas, como altas temperaturas, apresentam menor capacidade de respostas à  
254 doenças, ficando mais susceptíveis a invasão do úbere por microrganismos. Paralelamente, pode-se inferir  
255 que nos meses de temperaturas mais elevadas, dezembro a abril, correspondente ao verão na Região Sul do  
256 país, devido à disponibilidade de forrageiras de menor qualidade, como gramíneas tropicais dos gêneros  
257 *Cynodon*, *Sorghum* e *Pennisetum*, e pela menor capacidade de ingestão de alimentos por parte dos animais,  
258 poderia resultar em uma concentração das células somáticas por mililitro de leite, levando a um aumento  
259 relativo de seus valores (NORO et al., 2006 e PHILPOT & NICKERSON, 2002).

260 Não houve correlação ( $P > 0,05$ ) do ECS com a umidade relativa do ar e com a precipitação  
261 pluviométrica (Tabela 4), o que pode ser explicado pelo fato que a umidade relativa do ar e a precipitação  
262 pluviométrica, geralmente, estão relacionadas com maior pressão de infecção por microrganismos ambientais  
263 (BUENO et al., 2005), os quais estão diretamente ligados com casos de mastite clínica, e, como,  
264 normalmente, o leite de vacas com mastite clínica é descartado, nestes casos não influenciariam a CCS no  
265 tanque de expansão.

266 Na análise de variância multivariada houve diferença ( $P < 0,05$ ) entre os vetores de médias para as  
267 classes de CCS, tanto pelo teste Wilks quanto pelos testes Pillai, Hotelling-Lawley e Roy. Os três primeiros  
268 autovalores foram significativos pelo teste da razão de verossimilhança, sendo que primeiro autovalor  
269 explicou 70,65% e o segundo 25,88%, ou seja, os dois primeiros autovalores explicaram 96,53% da variação  
270 total dos dados.

271 A análise de componentes principais permite visualizar a proximidade/similaridade ou a  
272 distância/dissimilaridade entre as diferentes classes de CCS (Figura 1). As variáveis que explicaram a  
273 variabilidade no eixo x (componente principal 1) foram gordura ( $r = 0,8819$ ;  $P < 0,01$ ), proteína ( $r = 0,8752$ ;  
274  $P < 0,01$ ), minerais ( $r = 0,9816$ ;  $P < 0,001$ ) e lactose ( $r = -0,9980$ ;  $P < 0,001$ ) ao passo que a variável que explicou  
275 a variabilidade no eixo y (componente principal 2) foi a contagem bacteriana total ( $r = 0,9670$ ;  $P < 0,001$ ).  
276 Logo, a partir das correlações dos componentes principais com as variáveis, pode-se inferir que o primeiro  
277 componente principal (eixo x) está associado à qualidade química do leite, enquanto o segundo componente  
278 principal (eixo y) está associado à qualidade microbiológica do leite.

279 Todavia, conforme inspeção gráfica visual não se pode concluir sobre o número ideal de grupos entre  
280 tratamentos. Dessa forma, procedeu-se a análise de agrupamento utilizando o algoritmo hierárquico  
281 aglomerativo de Ward como método de agrupamento e a distância euclidiana quadrática como medida de  
282 dissimilaridade, e, juntamente com o auxílio estatístico do coeficiente de correlação cofenética (CCC),  
283 pseudo-F e pseudo-t<sup>2</sup>, permitiu constatar-se que o número ideal de grupos formados entre tratamentos foi  
284 cinco, dos quais um grupo englobando as classes de CCS 3, 4 e 5 (tratamentos).

285 Portanto, o leite com CCS superior a 400.000 até 750.000 céls mL<sup>-1</sup> apresenta a mesma qualidade  
286 química e microbiológica, ou seja, não se justifica a criação de extratos intermediários nesta amplitude para  
287 avaliação da qualidade do leite. Contudo, é importante salientar que, como discutido anteriormente, o

288 aumento da gordura, proteína e minerais não deve ser considerado favorável à qualidade do leite, e sim  
289 resultado de possíveis efeitos creditados a CCS, logo, isto significa que o leite só apresentaria melhoria na  
290 qualidade com valores de CCS menores ou iguais a 400.000 céls mL<sup>-1</sup> ou piora na qualidade com valores de  
291 CCS acima de 750.000 céls mL<sup>-1</sup>.

292 Os padrões legais mínimos de CCS de 600.000 céls mL<sup>-1</sup> (atual limite brasileiro) e de 500.000 céls mL<sup>-1</sup>  
293 <sup>1</sup> (limite brasileiro proposto para o dia 30 de junho de 2014 a 30 de junho de 2016, e atual limite do Canadá)  
294 não resultariam em melhorias na qualidade do leite, enquanto que o limite proposto pelos países membros da  
295 União Europeia, Nova Zelândia, Austrália e ainda pela norma brasileira a partir do dia 1º de julho de 2016  
296 (400.000 céls mL<sup>-1</sup>), se considerados como obrigação de quem produz, acarretariam melhorias significativas  
297 de qualidade.

298 Isto evidencia que somente normas regulatórias não são suficientes para promover a melhoria na  
299 qualidade do leite, portanto baseados nos resultados da Figura 1, sugere-se um sistema de bonificação e  
300 penalização de qualidade do leite baseado na CCS, onde: produtores que entreguem leite com valores de  
301 CCS menores que 400.000 céls mL<sup>-1</sup>, recebam bonificação; entre 400.000 e 750.000 céls mL<sup>-1</sup>, não recebam  
302 bonificação ou punição; e maiores que 750.000 céls mL<sup>-1</sup> recebam penalização. Entretanto, para os  
303 segmentos do setor lácteo de produtos de base proteica, como o queijo e o iogurte, sugerem-se altas  
304 bonificações para o leite que apresente CCS inferior a 200.000 céls mL<sup>-1</sup>, pois neste intervalo foram  
305 encontrados os menores efeitos da CCS sobre a composição química do leite, o que possivelmente reduziria  
306 as perdas das proteínas sintetizadas pela glândula mamária, como as caseínas, que são as mais importantes  
307 para o rendimento industrial do processamento destes produtos.

308 Sistemas de bonificações e penalizações baseados nos resultados deste estudo, além de possivelmente  
309 acarretar em resultados significativos a curto e médio prazo, pois incentivariam o produtor a investir em  
310 cuidados, principalmente no que se refere à CCS, como a limpeza e higienização dos equipamentos de  
311 ordenha e o controle da mastite, possibilitaria que o leite brasileiro alcançasse padrões internacionais de  
312 qualidade, e ainda possivelmente reduzir-se-iam sérios danos a indústria de derivados lácteos, como:  
313 coagulação e floculação ocorrida durante o processamento térmico do leite pasteurizado e do leite em pó,  
314 devido a sua menor estabilidade calórica (LE ROUX et al., 2003); mudanças significativas na viscosidade e  
315 sabor do iogurte (FERNANDES et al., 2007), geleificação e coagulação das proteínas do leite UHT durante a  
316 estocagem, devido a atividade residual de proteases bacterianas resistentes ao tratamento térmico (DATTA  
317 & DEETH, 2003); alterações na fabricação de queijos, como a redução no rendimento industrial, que pode  
318 variar de 4 a 11% (OLIVEIRA et al. 2012), aumento no conteúdo de água no coágulo (MITCHELL et al.,  
319 1986), alterações negativas nas propriedades sensoriais (AULDIST et al., 1996), aumento do tempo para  
320 formação do coágulo (KLEI et al., 1998), baixa taxa de enrijecimento do coágulo e defeitos de textura (KLEI  
321 et al., 1998) e elevada perda de sólidos no soro do queijo (Barbano et al., 1991).

322

323

324

325

## Conclusões

Os teores de gordura, proteína, minerais e sólidos totais estão diretamente correlacionados com o aumento da CCS, o que não deve ser considerado favorável à qualidade do leite, e sim resultado de possíveis efeitos da CCS sobre a composição do leite. Por outro lado, a lactose e os sólidos não gordurosos apresentaram correlação inversa. A temperatura ambiente apresenta correlação significativa e positiva com o escore de células somáticas, enquanto a umidade relativa do ar e a precipitação pluviométrica, ausência de correlação. A análise de componentes principais seguida da análise de agrupamento permite constatar que leites com CCS superiores a 400.000 até 750.000 céls mL<sup>-1</sup>, apresentam a mesma qualidade, não justificando a estratificação de intervalos nesta amplitude de variação. Paralelamente, observa-se que somente limites de normas regulatórias não são suficientes para melhorar a qualidade do leite, sugerindo-se parâmetros para sistemas de pagamento baseado na bonificação e penalização em relação à CCS.

## Referências Bibliográficas

ABASCAL, G.; CARRIEDO, J.A.; BLANCO, M.A. et al. Factors of variation influencing bulk tank somatic cell count in dairy sheep. **Journal of Dairy Science**, v.88, n.3, p. 969-974, 2005.

AULDIST, M. J. et al. Changes in the composition of milk from healthy and mastitis dairy cows during the lactation cycle. **Australian Journal of Experimental Agriculture, Melbourne**, v.35, n.4, p.427-436, 1995.

AULDIST, M.J.; COATS, S.J.; SUTHERLAND, B.J. et al. Effect of somatic cell count and stage of lactation on the quality and storage life of ultra high temperature milk. **Journal of Dairy Research**, v.63, n.3, p.377-386, 1996.

BARBANO, D.M.; RASMUSSEN, R.R.; LYNCH, J.M. Influence of milk somatic cell count and milk age on cheese yield. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.2, p.369-388, 1991.

BRASIL. **Instrução Normativa n. 51 de 18 de setembro de 2002**. Dispões sobre regulamentos técnicos aplicados ao leite cru refrigerado e pasteurizado. Diário Oficial da União, Brasília, 20 set. 2002. Seção 1, n. 183, p.13-22.

BRASIL. **Instrução Normativa n. 62 de 29 de dezembro de 2011**. Dispõe sobre regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, leite Cru refrigerado, leite pasteurizado e do regulamento técnico de coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. Disponível em: <[http://www.sindilat.com.br/gomanager/arquivos/IN62\\_2011\(2\).pdf](http://www.sindilat.com.br/gomanager/arquivos/IN62_2011(2).pdf)>Acessoem:05/05/2012.

BRITO, J.R.F.; DIAS, J.C. **A qualidade do leite. Juiz de Fora** : Embrapa/Tortuga, 1998. 98p.

- 364 BUENO, V.F.F.; MESQUITA, A.J.; NICOLAU, E.S. et al. Contagem celular somática: relação com a  
365 composição centesimal do leite e período do ano no Estado de Goiás. **Ciência Rural**, v.35, n.4, p.848-854,  
366 2005.
- 367
- 368 CONSIDINE, T.; GEARY, S.; KELLY, A.L. et al. Proteolytic specificity of cathepsin G on bovine alphas 1-  
369 and beta caseins. **Food Chemistry.**, v. 76, n.1, p. 59-67, 2002.
- 370
- 371 DATTA, N.; DEETH, H. C. Diagnosing the cause of proteolysis in UHT milk. **LWT- Food Science and**  
372 **Technology**, v. 36, p.173–182, 2003.
- 373
- 374 EL-TAHAWY, A. S.; EL-FAR, A. H. Influences of somatic cell count on milk composition and dairy farm  
375 profitability. **International Journal of Dairy Technology**. v. 63, n.3, p.463-469, 2010.
- 376
- 377 FERNANDES, A. M.; OLIVEIRA, C. A. F.; LIMA, C. G. Effects of somatic cell counts in milk on physical  
378 and chemical characteristics of yogurt. **International Dairy Journal**, v.17, n.2, p. 111-115, 2007.
- 379
- 380 HANUŠ, O.; VEGRICHT, J.; FRELICH, J. et al. Analysis of raw milk quality according to free fatty acid  
381 contents in the Czech Republic. **Czech Journal Animal Science**, v.53, n.1, p.17-30, 2008.
- 382
- 383 HARMON, R.J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**.  
384 v.77, n.7, p.2103-2112, 1994.
- 385
- 386 KLEI, L.; YUN, J.; SAPRV, A. et al. Effects of milk somatic cell count on cottage cheese yield and quality.  
387 **Journal of Dairy Science**, v.81, n.5, p.1204-1213, 1998.
- 388
- 389 KLINKON, M.; KLOPČIČ, M.; OSTERC, J. Potential use of milk analyses for udder health control in  
390 highly productive dairy herd. **Acta Agraria Kaposváriensis**. v.6, n.2, p177-185, 2002.
- 391
- 392 KOCA, N.; RODRIGUEZ-SAONA, L.E.; HARPER, W.J. et al. Application of Fourier transform infrared  
393 spectroscopy for monitoring short chain free fatty acids in swiss cheese. **Jornal of Dairy Science**, v.90, n.8,  
394 p.3596-3603, 2007.
- 395
- 396 LE ROUX, Y.; LAURENT, F.; MOUSSAQUI, F. Polymorphonuclear proteolytic activity and milk  
397 composition change. **Veterinary Research**, v.34, n.5, p.629-645, 2003.
- 398
- 399 MA, Y.; RYAN, C.; BARBANO, D.M. et al. Effects of somatic cell count on quality and shelf-life of  
400 pasteurized fluid milk. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.2, p.264-274, 2000.
- 401

- 402 MACHADO, P.F.; PEREIRA, A.R.; SARRÍEZ, G.A. Composição do leite de tanques de rebanhos  
403 brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29,  
404 n.6, p.1883-1886, 2000.
- 405
- 406 MITCHELL, G.E.; FEDRICK, I.A.; ROGERS, S.A. The relationship between somatic cell count,  
407 composition and manufacturing properties of bulk milk.2. Cheddar cheese from farm bulk milk. **Journal of**  
408 **Dairy Technology**, v.41, n.1, p.12-14, 1986.
- 409
- 410 NAJAFI, N.M.; MORTAZAVI, S.A.; KOOCHEKI, A. et al. Fat and protein contents, acidity and somatic  
411 cell counts in bulk milk of Holstein cows in the Khorosan Razavi Province, Iran. **International Journal of**  
412 **Dairy Technology**, v.62, n.1, p.19-26, 2009.
- 413
- 414 NEVILLE, M.C.; WATERS, C.D. Secretion of calcium in to milk: review. **Journal of Dairy Science**, v.66,  
415 n.3, p.371-380, 1983.
- 416
- 417 NORO, G.; GONZÁLEZ, F.H.D.; CAMPOS, R. et al. Fatores ambientais que afetam a produção e a  
418 composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de**  
419 **Zootecnia**, v.35, n.3, p.1129-1135, 2006.
- 420
- 421 OLIVEIRA, W. P. S.; OLIVEIRA, A. N.; SOARES E. N. et al. **Impacto da contagem de células somáticas**  
422 **elevada no rendimento de queijo mussarela.** Disponível em:  
423 <<http://www.terraviva.com.br/IICBQL/p010.pdf>> Acesso em 23 de janeiro 2012.
- 424
- 425 PAURA, L.; KAIRISHA, D.; JONKUS, D. Repeatability of milk productivity traits. **Veterinarija ir**  
426 **zootehnika**, v.19, n.41, p.90-93, 2002.
- 427
- 428 PEREIRA, A.R.; SILVA, L.F.P.; MOLON, L.K. et al. Efeito do nível de células somáticas sobre os  
429 constituintes do leite I – Gordura e Proteína. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**,  
430 v.36, n.3, p.121-124, 1999.
- 431
- 432 PHILPOT, N.W.; NICKERSON, S.C. **Vencendo a luta contra a mastite.** Piracicaba: Westfalia  
433 Surge/Westfalia Landtechnik do Brasil, 2002. 192p.
- 434
- 435 RAJEČEVIČ, M.; POTOČNIK, K.; LEVSTEK, J. Correlations between somatic cells count and milk  
436 composition with regard to the season. **Agriculturae Conspectus Scientificus**, v.68, n.3, p.221-226, 2003.
- 437

- 438 ROMA Jr., L.C.; MONTOYA, J.F.G.; MARTINS, T.T. et al. Sazonalidade do teor de proteína e outros  
439 componentes do leite e sua relação com programa de pagamento por qualidade. **Arquivo Brasileiro de**  
440 **Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, n. 6, p. 1411-1418, dez. 2009.
- 441
- 442 SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. **Estratégia para controle de mastite e melhoria da qualidade do**  
443 **leite**. 2.ed. Barueri, SP: Manole, 2007. 314p.
- 444
- 445 SHAMAY, A.; SHAPIRO, F.; LEITNER, G. et al. Infusions of casein hydrolyzates into the mammary gland  
446 disrupt tight junction integrity and induce involution in cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.4, p.1250-  
447 1258, 2003.
- 448
- 449 SHOOK, G.E. Genetic improvement of mastitis through selection on somatic cell count. **The Veterinary**  
450 **Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.9, n.3, p.563-581, 1993.
- 451
- 452 SILVA, L.F.P.; PEREIRA, A.R.; MACHADO, P.F. et al. Efeito do nível de células somáticas sobre os  
453 constituintes do leite II – lactose e sólidos totais. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal**  
454 **Science**, São Paulo, v.37, n.4, p.330-333, 2000.
- 455
- 456 SOUZA, G.N.; BRITO, J.R.F.; MOREIRA, E.C. et al. Variação da contagem de células somáticas em vacas  
457 leiteiras de acordo com patógenos da mastite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**,  
458 v.61, n.5, p.1015-1020, 2009.
- 459
- 460
- 461
- 462
- 463
- 464
- 465
- 466
- 467
- 468
- 469
- 470
- 471
- 472
- 473
- 474
- 475

476 Tabela 1 – Estatística descritiva, com o número de observações (n), mínimos (Mín), máximos (Máx), médias  
 477 (Méd), desvios padrão (DvPad), erros padrão (ErrPad) e coeficientes de variação (CV) das variáveis gordura  
 478 (Gord), proteína (Prot), lactose (Lact), minerais, sólidos não gordurosos (SNG), sólidos totais (ST),  
 479 contagem de células somáticas (CCS), escore linear da contagem de células somáticas (ECS), contagem  
 480 bacteriana total (CBT) e logaritmo natural da contagem bacteriana total ou CBT transformada (CBTt)

Variável	n	Mín	Máx	Méd	DvPad	ErrPad	CV
Gord	44.089	2,20	5,10	3,58	0,38	0,00	10,47
Prot	44.089	2,29	3,91	3,09	0,21	0,00	6,87
Lact	44.089	3,65	4,91	4,34	0,16	0,00	3,72
Minerais	44.089	0,39	1,51	0,97	0,10	0,00	10,13
SNG	44.089	7,16	9,71	8,39	0,33	0,00	3,97
ST	44.089	9,99	14,07	11,98	0,57	0,00	4,79
CCS	44.089	1000,00	3729000,00	711.883,87	491583,32	2341,16	69,05
ECS	44.089	6,32	18,19	15,43	1,14	0,01	7,37
CBT	44.089	1000,00	16700000,00	2963667,54	3208299,66	15279,52	108,25
CBTt	44.089	6,91	16,63	14,14	1,45	0,01	10,27

481

482

483

484

485

486

487

488

489

490

491

492

493

494

495

496

497

498



499 Tabela 2 – Médias ajustadas dos teores de gordura (Gord), proteína (Prot), lactose (Lact), minerais (Min),  
 500 sólidos não gordurosos (SNG), sólidos totais (ST) e do logaritmo natural da contagem bacteriana total (CBT)  
 501 ou CBT transformada (CBTt) com seus respectivos erros padrão da média (entre parênteses) em função das  
 502 distintas classes de contagem de células somáticas (CCS) de 44.089 amostras de leite analisadas de junho de  
 503 2008 a dezembro de 2011

CCS (x1000 céls mL <sup>-1</sup> )	Gord (%)	Prot (%)	Lact (%)	Min (%)	SNG (%)	ST (%)	CBTt (UFC mL <sup>-1</sup> )
CCS≤200	3,42 <sup>d</sup> (0,005)	3,075 <sup>bc</sup> (0,003)	4,43 <sup>a</sup> (0,002)	0,958 <sup>b</sup> (0,001)	8,47 <sup>a</sup> (0,005)	11,89 <sup>b</sup> (0,009)	14,41 <sup>a</sup> (0,022)
200<CCS≤400	3,57 <sup>c</sup> (0,003)	3,072 <sup>c</sup> (0,002)	4,39 <sup>b</sup> (0,002)	0,962 <sup>b</sup> (0,001)	8,42 <sup>b</sup> (0,003)	11,99 <sup>a</sup> (0,006)	14,18 <sup>b</sup> (0,015)
400<CCS≤500	3,59 <sup>bc</sup> (0,005)	3,077 <sup>bc</sup> (0,003)	4,36 <sup>c</sup> (0,002)	0,963 <sup>b</sup> (0,001)	8,40 <sup>bc</sup> (0,005)	12,00 <sup>a</sup> (0,008)	13,98 <sup>c</sup> (0,021)
500<CCS≤600	3,60 <sup>bc</sup> (0,005)	3,083 <sup>bc</sup> (0,003)	4,35 <sup>cd</sup> (0,002)	0,964 <sup>b</sup> (0,001)	8,40 <sup>bc</sup> (0,005)	12,00 <sup>a</sup> (0,008)	13,96 <sup>c</sup> (0,022)
600<CCS≤750	3,60 <sup>bc</sup> (0,005)	3,082 <sup>bc</sup> (0,003)	4,34 <sup>d</sup> (0,002)	0,966 <sup>ab</sup> (0,001)	8,38 <sup>c</sup> (0,004)	11,98 <sup>a</sup> (0,007)	13,93 <sup>c</sup> (0,019)
750<CCS≤1000	3,60 <sup>b</sup> (0,004)	3,091 <sup>ab</sup> (0,002)	4,32 <sup>e</sup> (0,002)	0,966 <sup>b</sup> (0,001)	8,38 <sup>c</sup> (0,004)	11,97 <sup>a</sup> (0,007)	13,98 <sup>c</sup> (0,018)
CCS>1000	3,63 <sup>a</sup> (0,003)	3,105 <sup>a</sup> (0,002)	4,27 <sup>f</sup> (0,001)	0,973 <sup>a</sup> (0,001)	8,35 <sup>d</sup> (0,003)	11,97 <sup>a</sup> (0,006)	14,39 <sup>a</sup> (0,014)
Média	3,58	3,08	4,34	0,97	8,39	11,98	14,14
P-value <sup>1</sup>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
CV <sup>2</sup>	10,36	6,86	3,54	10,12	3,95	4,78	10,19

504 Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna diferem (P<0,05) entre si pelo teste de Tukey

505 <sup>1</sup>Valor probabilístico

506 <sup>2</sup>Coefficiente de variação

507

508

509

510

511

512

513

514

515

516

517

518

519

520 Tabela 3 - Correlação linear simples entre os teores de gordura, proteína, lactose, minerais, sólidos não  
 521 gordurosos (SNG), sólidos totais (ST), logaritmo natural da contagem bacteriana total (CBT) ou CBT  
 522 transformada (CBTt) e os valores de contagem de células somáticas (CCS) e escore de células somáticas  
 523 (ECS) de 44.089 amostras de leite analisadas de junho de 2008 a dezembro de 2011

Constituintes do leite	CCS (cél/s mL <sup>-1</sup> )		ECS <sup>(1)</sup> (adimensional)	
	r <sup>(2)</sup>	R <sup>2(3)</sup>	r <sup>(2)</sup>	R <sup>2(3)</sup>
Gordura (%)	0,111***	0,01232	0,148***	0,02190
Proteína (%)	0,055***	0,00302	0,046***	0,00212
Lactose (%)	-0,316***	0,09986	-0,312***	0,09734
Minerais (%)	0,048***	0,00230	0,046***	0,00211
SND (%)	-0,104***	0,01082	-0,109***	0,01188
ST (%)	0,012**	0,00014	0,034***	0,00116
CBTt (UFC mL <sup>-1</sup> )	0,007 <sup>ns</sup>	0,00005	0,006 <sup>ns</sup>	0,00004

524 <sup>ns</sup> Não significativo; \* P<0,05; \*\* P<0,01; \*\*\* P<0,001

525 <sup>1</sup>Escore linear da contagem de células somáticas(SHOOK, 1993)

526 <sup>2</sup>Coefficiente de correlação linear simples

527 <sup>3</sup>Coefficiente de determinação (EBERHART et al., 1982)

528

529

530

531

532

533

534

535

536

537

538

539

540

541

542

543

544

545 Tabela 4 - Correlações lineares simples do escore de células somáticas (ECS) de 44.089 amostras de leite  
 546 analisadas de junho de 2008 a dezembro de 2011 com as médias mensais das variáveis meteorológicas  
 547 (temperatura média, umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica) durante o período experimental

Variáveis Climáticas	ECS <sup>(1)</sup>	
	r <sup>(2)</sup>	R <sup>2(3)</sup>
Temperatura média (°C)	0,36*	0,1296
Umidade relativa do ar (%)	0,16 <sup>ns</sup>	0,0256
Precipitação (mm)	0,05 <sup>ns</sup>	0,0025

548 <sup>ns</sup> não significativo; \*P<0,05, \*\*P<0,01, \*\*\*P<0,001

549 <sup>(1)</sup> Escore linear da contagem de células somáticas(SHOOK, 1993)

550 <sup>(2)</sup> Coeficiente de correlação linear simples

551 <sup>(3)</sup> Coeficiente de determinação (EBERHART et al., 1982)

552

553

554

555

556

557

558

559

560

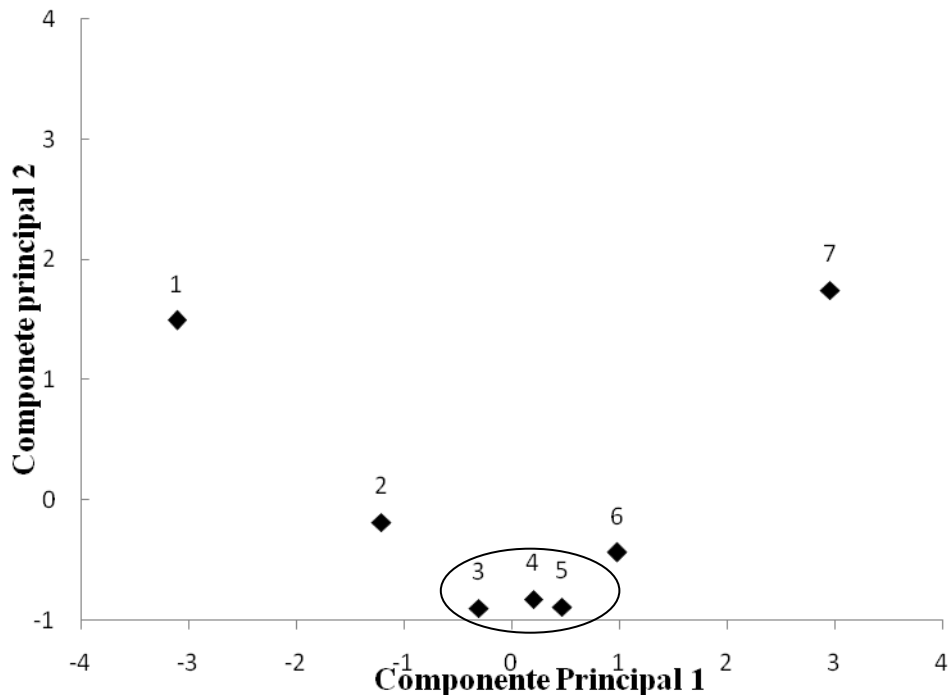
561

562

563

564

565



566

567 Figura 1 – Dispersão gráfica das diferentes classes de CCS obtidas a partir de 44.089 amostras de leite  
 568 analisadas de junho de 2008 a dezembro de 2011 (1:  $CCS \leq 200.000$ ; 2:  $200.000 < CCS \leq 400.000$ ; 3:  
 569  $400.000 < CCS \leq 500.000$ ; 4:  $500.000 < CCS \leq 600.000$ ; 5:  $600.000 < CCS \leq 750.000$ ; 6:  $750.000 < CCS \leq$   
 570  $1.000.000$ ; 7:  $CCS > 1.000.000$  céls  $mL^{-1}$ ) em função dos dois primeiros componentes principais

571

572

573

574

575

576

577

578

579

580

581

582

583

584

585

586

587

588

589

590

591

592

593

594

595

596

597

598

599

600

### 3.2 Manuscrito 2

Manuscrito em fase final de revisão pelos autores para ser submetido à Revista Semina: Ciências Agrárias

(Configuração conforme as normas da Revista – Anexo A)

#### 1 **Efeito da contagem bacteriana total sobre os constituintes do leite**

#### 2 **Effect of total bacterial count on milk constituents**

3

4 **Resumo:** Este estudo teve por objetivos avaliar o efeito da contagem bacteriana total (CBT) sobre os  
5 constituintes do leite, verificando a influência que as variáveis climáticas exercem sobre esta variável. Os  
6 dados utilizados foram de 1.541 unidades produtoras de leite, referentes a 15 municípios da bacia leiteira do  
7 Vale do Taquari, Rio Grande do Sul. Foram tabulados os dados de CBT, contagem de células somáticas  
8 (CCS) e composição centesimal do leite, referentes ao período de junho de 2008 a dezembro de 2011,  
9 totalizando 44.089 amostras analisadas. As variáveis climáticas não apresentaram correlação significativa  
10 com a contagem bacteriana total. Os teores de gordura, proteína, minerais e sólidos totais foram diretamente  
11 correlacionados com a CBT, enquanto que os sólidos não gordurosos e a lactose apresentaram  
12 comportamento inverso. Através da análise de componentes principais (ACP), auxiliada pelo método  
13 hierárquico aglomerativo de agrupamento, os 6 tratamentos presentes no estudo foram reduzidos a 3 grupos  
14 de acordo com a similaridade. Assim, os leites com CBT superiores a 100.000 até 1.000.000 UFC mL<sup>-1</sup>,  
15 apresentam a mesma qualidade química e CCS, não justificando a estratificação de intervalos nesta  
16 amplitude de variação para avaliação da qualidade do leite.

17

18 **Palavras-chave:** composição centesimal do leite, mastite, qualidade química do leite, qualidade higiênico-  
19 sanitária do leite, variáveis climáticas

20

21 **Abstract:** The study aims to evaluate the effect of total bacterial count (TBC) on the constituents of milk,  
22 checking the influence that the climatic variables have on these variable. Data were obtained from 1,541  
23 dairy farms located in 15 municipalities in the dairy region of Vale do Taquari, Rio Grande do Sul. It was  
24 tabulated the data from TBC, somatic cell count (SCC) and milk composition, from June 2008 to December  
25 2011, totaling 44,089 samples. The climatic variables have no significant correlation to TBC. The fat,  
26 protein, minerals and total solids were directly correlated with the TBC. While solids-not-fat and lactose  
27 showed an opposite behavior. Through of the principal component analysis (PCA), followed by  
28 agglomerative hierarchical clustering method, the six treatments in the present study were reduced to three  
29 groups according to similarity. Thus, milk with CBT over 100,000 to 1,000,000 CFU mL<sup>-1</sup>, have the same  
30 chemical quality and SCC, not justifying the stratification intervals in this range of variation for evaluating  
31 the quality of milk.

32

33 **Key words:** composition of milk, mastitis, milk chemical quality, hygienic-sanitary quality of milk, climatic  
34 variables

35

36

### Introdução

37

38 Características como elevada disponibilidade de nutrientes, alta atividade de água e pH próximo à  
39 neutralidade tornam o leite um ótimo meio de cultura para muitos microrganismos (LANGE & BRITO,  
40 2003). O leite cru pode ser contaminado a partir de grande variedade de microrganismos proveniente das  
41 mais diversas fontes. Entre os diversos microrganismos patogênicos e/ou deteriorantes que podem ser  
42 encontrados, destacam-se as bactérias ácido lácticas (*Lactococcus*, *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc*,  
43 *Enterococcus* ou *Streptococcus* spp.), *Pseudomonas* spp., bactérias pertencentes à família Micrococcaceae  
44 (*Micrococcus* e *Staphylococcus* spp.) e leveduras. Outros grupos microbianos presentes no leite cru incluem  
45 *Bacillus*, *Clostridium*, *Listeria* spp. e enterobactérias (TEBALDI et al., 2008). Nero et al. (2005) relataram  
46 uma alta frequência de amostras de leite *in natura* com elevados níveis de contaminação por aeróbios  
47 mesófilos, que por sua vez, são os principais microrganismos responsáveis pelo metabolismo da lactose,  
48 levando a produção de ácido láctico, o qual em quantidades elevadas pode desestabilizar a caseína.

49 No entanto, o armazenamento do leite cru sob refrigeração possibilita a redução de perdas referentes  
50 à qualidade da matéria-prima pela atividade acidificante de bactérias mesofílicas. Por outro lado, o  
51 armazenamento por períodos prolongados pode resultar em queda de qualidade dos produtos lácteos, devido  
52 ao crescimento e à atividade enzimática de bactérias psicotróficas (VIDAL-MARTINS et al., 2005). As  
53 alterações causadas por estas bactérias são responsáveis por limitações na utilização da matéria-prima e  
54 comprometem as propriedades organolépticas e a vida de prateleira dos produtos lácteos (BUENO et al.,  
55 2008).

56 Nesse contexto, a determinação da contagem bacteriana total do leite (CBT) é importante para  
57 avaliação da higiene de ordenha, da saúde dos animais e das condições de estocagem e transporte do leite  
58 cru, sendo uma importante ferramenta no controle da qualidade da matéria-prima e, ainda, permite inferir os  
59 prováveis efeitos adversos sobre o rendimento industrial de produtos lácteos. Além disso, o leite com elevada  
60 CBT representa risco para a saúde do consumidor pelo potencial de veicular microrganismos e toxinas  
61 microbianas.

62 Porém, vale ressaltar que a temperatura e umidade ambiente afetam o crescimento bacteriano e,  
63 portanto podem influenciar a contaminação do leite (HOGAN et al., 1988).

64 Diante do exposto, e a escassez de resultados reportados na literatura que caracterizem o efeito da  
65 CBT, sobre os teores de gordura, proteína, lactose, minerais, sólidos totais (ST), sólidos não gordurosos  
66 (SNG) e a contagem de células somáticas (CCS), objetivou-se caracterizar o efeito da CBT sobre a  
67 composição química e a CCS do leite, e avaliar a influência que as variáveis climáticas exercem sobre este  
68 indicador higiênico sanitário, empregando um tempo representativo de coleta de dados, minimizando  
69 possíveis efeitos aleatórios que levariam a erros de interpretação.

70

## Material e Métodos

Os dados utilizados foram obtidos a partir dos laudos oficiais emitidos pelo Laboratório de Serviço de Análises de Rebanhos Leiteiros (SARLE), órgão credenciado junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), os quais continham 54.696 registros de gordura (GORD), proteína (PROT), lactose (LACT), sólidos não gordurosos (SNG), sólidos totais (ST), contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT), obtidos de amostras de leite coletados em tanque de expansão de 1.706 propriedades, durante o período de junho de 2008 a dezembro 2011.

Para obtenção da consistência do banco de dados, os registros foram considerados em classes mensais. Foram excluídos do arquivo, propriedades com menos de quatro controles e com três desvios-padrão acima ou abaixo da média da característica no mês. Após as restrições, foram utilizados nas análises estatísticas 44.089 registros de 1.541 rebanhos, referentes a 15 municípios, localizados na região sul do Brasil.

Com o intuito de linearizar os dados, a CBT foi transformada pelo logaritmo natural e denominada contagem bacteriana total transformada (CBTt) e a CCS foi transformada em escore linear de células somáticas  $ECS = [\log_2(CCS/100)] + 3$  (SHOOK, 1993).

Após edição e linearização, os dados apresentaram a estatística descritiva demonstrada na Tabela 1.

A GORD, PROT, LACT, ST e SNG foram determinados por espectrofotometria com radiação infravermelha utilizando equipamento Bentley<sup>®</sup> 2000 (Bentley Instruments, EUA), a CCS e a CBT foram analisadas por citometria de fluxo utilizando equipamento Somacount<sup>®</sup> 300 (Bentley Instruments, EUA) e os valores de minerais foram calculados pela diferença entre os ST e o somatório das variáveis GORD, PROT e LACT.

Os dados meteorológicos das médias mensais das temperaturas médias, umidade relativa do ar (URA) e precipitação pluviométrica referentes ao período experimental foram obtidos no Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), situado em Brasília, Distrito Federal, a partir da estação climática em Teutônia/RS.

Os dados de CBT foram divididos em seis (6) classes estabelecidas de acordo com seus valores regulatórios (BRASIL, 2002; BRASIL, 2011). As classes avaliadas foram: (1)  $CBT \leq 100.000 \text{ UFC mL}^{-1}$ ; (2)  $100.000 < CBT \leq 300.000 \text{ UFC mL}^{-1}$ ; (3)  $300.000 < CBT \leq 600.000 \text{ UFC mL}^{-1}$ ; (4)  $600.000 < CBT \leq 750.000 \text{ UFC mL}^{-1}$ ; (5)  $750.000 < CBT \leq 1.000.000 \text{ UFC mL}^{-1}$ ; e (6)  $CBT > 1.000.000 \text{ UFC mL}^{-1}$ .

As variáveis dependentes (GORD, PROT, LACT, minerais, SNG, ST e CCS) foram testadas quanto à normalidade residual pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e quanto à homocedasticidade pelo teste de Levene. Posteriormente, foram submetidas à análise de variância univariada pelo procedimento de modelos lineares gerais (PROC GLM) em delineamento inteiramente casualizado conforme o modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

106 em que  $Y_{ij}$  = valor observado na  $i$ -ésima classe de CBT e  $j$ -ésima repetição;  $\mu$  = média geral da  
 107 variável resposta;  $\alpha_i$  = efeito fixo da  $i$ -ésima classe de CBT; e  $\varepsilon_{ij}$  = efeito aleatório associado à observação  
 108  $Y_{ij}$ ; pressuposto  $\varepsilon_{ij} \stackrel{iid}{\sim} N(0, \sigma^2)$ .

109 Em seguida, suas médias foram ajustadas pelo método dos quadrados mínimos ordinários com o  
 110 comando LSMEANS (*Least Squares Means*) e comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de  
 111 significância. Além disso, foi realizada análise de correlação simples entre a variável CBTt com as variáveis  
 112 GORD, PROT, LACT, minerais, SNG, ST e ECS. Adicionalmente, também foi efetuada análise de  
 113 correlação simples da CBTt com as variáveis meteorológicas.

114 Objetivando reduzir a dimensionalidade do conjunto original de variáveis com menor perda de  
 115 informação possível, procedeu-se análise de variância multivariada pelo procedimento GLM e o comando  
 116 MANOVA, conforme o modelo estatístico:

$$117 \quad Y_{ijk} = \mu_k + H_{ik} + e_{ijk}$$

118 em que  $Y_{ijk}$  = valor observado da  $k$ -ésima variável, sob a  $i$ -ésima classe de CBT e  $j$ -ésima  
 119 repetição;  $\mu_k$  = média geral da  $k$ -ésima variável;  $H_{ik}$  = efeito fixo da  $i$ -ésima classe de CBT na  $k$ -ésima  
 120 variável; e  $e_{ijk}$  = efeito aleatório associado à observação  $Y_{ijk}$ .

121 As variáveis empregadas na análise multivariada foram GORD, PROT, LACT, minerais e o escore  
 122 linear de células somáticas (ECS). As demais variáveis foram eliminadas do modelo devido às altas  
 123 correlações existentes entre as mesmas, formando matrizes de dispersão singulares e causando problemas de  
 124 multicolinearidade ou dependência linear entre as variáveis.

125 Na análise multivariada para testar a hipótese de que os vetores de médias dos tratamentos (classes  
 126 de CBT) fossem nulos, ou seja,  $H_0 : \mu_{CBT \leq 100000} = \dots = \mu_{CBT > 1.000000}$ , foi realizado o teste de Wilks, como  
 127 segue:

$$128 \quad \Lambda = \frac{|E|}{|A|}$$

129 em que:  $|E|$  é o determinante da matriz **E** referente a soma de quadrados e produtos residuais;  $|A|$  é  
 130 determinante da matriz **A** referente a soma de quadrados e produtos totais.

131 Após, foi efetuada a análise de componentes principais – ACP (*Principal Component Analysis* -  
 132 *PCA*) para ordenação das classes de CBT, sendo uma técnica de análise multivariada que permite o  
 133 agrupamento das classes de CBT similares mediante o exame visual das dispersões gráficas. Salienta-se que  
 134 a unidade de medida dos componentes principais é uma combinação linear das unidades de medida de cada  
 135 variável observada sendo, na maioria das vezes, sem sentido. Por isso, para melhor interpretação dos  
 136 resultados, foi feita a padronização dos dados de forma que estes tivessem média zero e variância igual a um,  
 137 ou seja, com base na matriz de correlação. A análise de componentes principais foi executada com o  
 138 procedimento PRINCOMP.



139 As análises estatísticas foram executadas no aplicativo SAS® *System for Windows*™ versão 9.0 (SAS  
140 Institute Inc., Cary - NC, USA).

141

## 142 **Resultados e Discussão**

143

144 A proporção de 73,6% das amostras analisadas apresentaram CBT acima de 600.000 UFC mL<sup>-1</sup>,  
145 estando em desacordo com a Instrução Normativa nº62, do Ministério da Agricultura, Pecuária e  
146 Abastecimento (BRASIL, 2011), ou seja, atualmente, 26,4% do leite produzido está em conformidade com a  
147 legislação brasileira, e somente 5,9% com países de pecuária leiteira desenvolvida, como os Estados Unidos,  
148 a União Europeia, Nova Zelândia e Austrália (100.000 UFC mL<sup>-1</sup>). Considerando este último limite, os  
149 resultados são inferiores às frequências encontradas por Martins et al. (2008) (23,34%) e Bueno et al. (2004)  
150 (43,53%).

151 No presente estudo foi encontrado a frequência de 63,30% de amostras com CBT acima de  
152 1.000.000 UFC mL<sup>-1</sup>, sendo superior as proporções reportadas por Bueno et al. (2004) (22,47%) e Martins et  
153 al. (2008) (30%).

154 O valor médio de CBT encontrado foi de 2.963.667,54 UFC mL<sup>-1</sup>, sendo bem superior as médias  
155 reportadas por Torkar & Teger (2008) na Eslovênia (32.000 UFC mL<sup>-1</sup>) e por Citadin et al. (2009) no Paraná  
156 (513.075 UFC mL<sup>-1</sup>).

157 A média de CBT deste estudo evidencia péssimas condições higiênico-sanitárias quando comparada  
158 às médias reportadas por outros autores. Segundo Fonseca et al. (1999), isto pode estar relacionado com a  
159 higiene pessoal e treinamento do ordenhador e, com a água que, por sua intensa utilização nas atividades de  
160 ordenha, pode também constituir expressiva fonte de bactérias contaminantes do leite. Segundo Winch &  
161 Thaler Neto (2009), a preparação do úbere antes da ordenha afeta os resultados da CBT. Estes autores  
162 observaram melhores resultados para os produtores que afirmavam fazer pré-imersão das tetas em  
163 desinfetantes (P<0,01), técnica que, de acordo com Santos & Fonseca (2007), auxilia consideravelmente no  
164 controle da contaminação do leite. A mastite também influencia na elevação da CBT, principalmente quando  
165 causada por *Streptococcus agalactiae* ou em casos clínicos provocados por *Escherichia coli* ou  
166 *Streptococcus uberis* (SANTOS & FONSECA, 2007).

167 Conforme a elevação da contaminação bacteriana, os teores de gordura aumentaram (P<0,05)  
168 (Tabela 2). Entretanto, este aumento na gordura não deve ser considerado favorável à qualidade do leite, pois  
169 uma vaca com infecção da glândula mamária pode contribuir de forma significativa para elevação da CBT  
170 do leite, e assim, o incremento nos valores de gordura, possivelmente seja resultante da redução na produção  
171 de leite, que é mais acentuada que a redução da síntese de gordura, ocorrendo concentração deste constituinte  
172 (MACHADO et al., 2000).

173 Bueno et al. (2008) e Andrade et al. (2009) observaram diminuição na concentração de gordura com  
174 a elevação da CBT, o que poderia ser decorrente da ação de fosfolipases de origem bacteriana,  
175 principalmente a fosfolipase C e a lecitinase, das bactérias psicotróficas, que são microrganismos capazes de  
176 se desenvolver em temperaturas abaixo de 7°C, sendo os principais agentes de deterioração do leite cru

177 refrigerado (MARTINS et al., 2005). Essas enzimas podem contribuir com a hidrólise dos triglicerídeos  
178 (CHEN et al., 2003), originando ácidos graxos livres (AGL), que quando presentes acima de limites de  
179 tolerância contribuem para o efeito negativo sobre o sabor conhecido como rancidez ou rancidez hidrolítica  
180 (HANUŠ et al., 2008).

181 Diante do exposto, apesar de ter sido encontrado um aumento na concentração total de gordura com  
182 a elevação da CBT, a determinação de AGL, paralelamente ao método utilizado, poderia esclarecer as  
183 possíveis alterações qualitativas na composição da gordura.

184 Os teores de proteína não apresentaram alterações ( $P>0,05$ ), à medida que se elevou a CBT do leite  
185 (Tabela 2), porém pode-se observar através do coeficiente de correlação positivo e do nível de significância  
186 que o teor de proteína está diretamente correlacionado com a CBTt (Tabela 3).

187 Resultados semelhantes foram reportados por Bueno et al. (2008), entretanto, estes autores  
188 observaram alterações ( $P<0,05$ ) a partir de valores inferiores a  $10.000 \text{ UFC mL}^{-1}$  e superiores a  $1.000.000$   
189  $\text{UFC mL}^{-1}$ . Isto evidencia, que valores inferiores a  $100.000 \text{ UFC mL}^{-1}$  (atual limite da União Europeia,  
190 Estados Unidos, Nova Zelândia, Austrália e ainda pela norma brasileira a partir do dia 1º de julho de 2016),  
191 podem mitigar os possíveis efeitos que a contaminação bacteriológica possa exercer sobre o teor de proteína  
192 do leite. No entanto, esta correlação positiva e o nível de significância encontrado entre a CBT e o teor de  
193 proteína, também não deve ser considerado favorável à qualidade do leite, pois a elevação da contaminação  
194 bacteriana pode ser decorrente da mastite, o que poderia contribuir para a alteração da permeabilidade dos  
195 capilares sanguíneos que permitem influxo de proteínas séricas (albumina sérica e imunoglobulinas) para o  
196 interior da glândula mamária, a fim de combater a infecção (HARMON, 1994).

197 Andrade et al. (2009), encontraram decréscimo no teor de proteína com a elevação da CBT, o que  
198 segundo Harmon (1994), pode ser decorrente da expressiva redução da fração de caseína. Nesse sentido,  
199 quando a contagem bacteriana do leite é elevada, os microrganismos psicrotróficos podem produzir proteases  
200 extracelulares que são liberadas no leite e contribuem de maneira significativa para a degradação de  
201 proteínas (VIDAL-MARTINS et al., 2005). Estas proteases afetam predominantemente a  $\kappa$ -caseína, de forma  
202 semelhante a quimosina, liberando o caseinomacropéptido (CMP), porém apresentam menor especificidade  
203 que a quimosina. Isto ocorre, pois esta fração proteica está situada na porção externa da camada de caseína  
204 enquanto a  $\beta$ -caseína e a  $\alpha$ -caseína situam-se nas camadas mais internas, sendo menos susceptível à ação das  
205 proteases (DATTA & DEETH, 2003). Essa fração da proteína, ao ser hidrolisada, provoca desestabilização  
206 da micela caseínica, levando a coagulação do leite e, alterando a sua composição proteica, resultando no  
207 acúmulo de pequenos peptídeos, os quais são responsáveis pelo desenvolvimento de sabor amargo e  
208 adstringente (MA et al., 2000).

209 Os teores de lactose diminuíram ( $P<0,05$ ) com o incremento da CBT (Tabela 2), à razão de 2,08% da  
210 primeira ( $\leq 100.000 \text{ UFC mL}^{-1}$ ) para a última classe ( $> 1.000.000 \text{ UFC mL}^{-1}$ ). De forma semelhante, Bueno et  
211 al. (2008) encontraram redução, porém de menor proporção, ou seja, à uma taxa de 0,44% nos teores de  
212 lactose, com a elevação dos valores de CBT do primeiro intervalo ( $\leq 10.000 \text{ UFC mL}^{-1}$ ) para o último  
213 ( $> 1.000.000 \text{ UFC mL}^{-1}$ ).

214 Apesar de não ser a principal causa, a elevação dos valores de CBT pode ser resultante de distúrbios  
215 da glândula mamária, e a redução da lactose, pode ser decorrente da menor biossíntese desse constituinte, ou  
216 pelo aumento da permeabilidade da membrana que separa o leite do sangue, ocasionando perda de lactose  
217 para corrente sanguínea. Porém, a diminuição dos valores da lactose com o aumento da contaminação  
218 bacteriana, provavelmente deve-se a ação direta de patógenos mamários que utilizam como principal  
219 substrato, este carboidrato (HARMON, 1994). Assim, de maneira geral, pode-se dizer que os  
220 microrganismos mesófilos predominam em situações que há falta de condições básicas de higiene e  
221 deficiências relacionadas à refrigeração do leite. Em tais circunstâncias, bactérias como *Lactobacillus*,  
222 *Streptococos*, *Lactococos* e algumas enterobactérias, atuam intensamente através da fermentação da lactose,  
223 produzindo ácido lático e gerando, conseqüentemente, acidez do leite, que é um dos problemas mais  
224 frequentemente detectados ao nível de plataforma. A acidez do leite pode ocasionar a coagulação da caseína  
225 e, assim, limitar o seu uso para o processamento em seus derivados.

226 Os teores de minerais do leite não apresentaram modificações ( $P>0,05$ ) à medida que se elevaram os  
227 valores da CBT (Tabela 2), porém pode-se observar que o teor de minerais está diretamente correlacionado  
228 com o aumento da CBT (Tabela 3). A elevação dos valores de CBT pode ser resultante de distúrbios da  
229 glândula mamária, e o incremento na concentração dos minerais com o aumento da contaminação bacteriana,  
230 segundo Shamay et al. (2003), embora o potássio e o cálcio diminuam, isto ocorre, em consequência do  
231 aumento no teor de sódio e cloro através do epitélio lesado, uma vez que as concentrações de sódio e cloro  
232 no sangue são normalmente maiores que as do leite. Em relação à diminuição das concentrações de cálcio no  
233 leite com a elevação da CBT, isto estaria associado a concomitante redução na síntese de caseína devido a  
234 possível inflamação da glândula mamária, considerando que a maioria do cálcio do leite estaria incorporado  
235 nas micelas caseínicas (SANTOS & FONSECA, 2007). Contudo, este aumento na concentração de minerais  
236 não deve ser considerado favorável à qualidade do leite, pois, haveria substituição de elementos minerais  
237 mais nobres (Ca, K) em detrimento de minerais de menor importância nutricional (Na, Cl), além de  
238 proporcionar um desequilíbrio salino do leite, o que poderia contribuir para a diminuição da estabilidade das  
239 caseínas.

240 O teor de sólidos não gordurosos aumentou a partir de 1.000.000 UFC mL<sup>-1</sup>, enquanto a  
241 concentração de sólidos totais não alterou ( $P>0,05$ ) à medida que se elevou a CBT (Tabela 2), isto se deve,  
242 provavelmente ao comportamento obtido pelas variáveis que os constituem frente a elevação da CBT.

243 A CCS sofreu um aumento ( $P<0,05$ ), somente da passagem da primeira ( $CBT\leq 100.000$  UFC mL<sup>-1</sup>)  
244 para a segunda classe de CBT ( $100.000$  UFC mL<sup>-1</sup> <  $CBT\leq 1.000.000$  UFC mL<sup>-1</sup>) (Tabela 2). Como dito  
245 anteriormente, segundo Santos & Fonseca (2007) a mastite também pode influenciar na elevação da CBT,  
246 principalmente quando causada por *Streptococcus agalactiae* ou em casos clínicos provocados por  
247 *Escherichia coli* ou *Streptococcus uberis*. Entretanto, o leite de vacas com mastite clínica é na maioria das  
248 vezes descartado, e então nestes casos não influenciariam a CBT no tanque de expansão.

249 Assim, o aumento da CBT deve-se provavelmente a elevação da incidência de mastite subclínica por  
250 *Streptococcus agalactiae*, que por sua vez pode estar relacionado com o aumento simultâneo dos valores de  
251 CCS e CBT do leite.

252 Os teores de gordura, proteína, minerais e sólidos totais apresentaram correlação positiva, ao passo  
253 que a lactose e os sólidos não gordurosos apresentaram correlação negativa com a CBTt (Tabela 3). Todavia,  
254 as correlações foram de baixa magnitude e sem significado prático. Analisando os resultados dos coeficientes  
255 de determinação ( $R^2$ ), pode-se constatar que a variação dos componentes em função da CBT atingiu no  
256 máximo 3,92% para a lactose, seguido de 1,23% para a gordura, 1,04% para SNG, 0,022 para proteínas,  
257 0,020 para ST. Resultados semelhantes da correlação entre proteína ( $r=0,04$ ;  $P<0,001$ ) e lactose ( $r=-0,04$ ;  $P<$   
258  $0,001$ ) com a CBTt foram reportados por Bueno et al. (2008), entretanto, estes autores relataram correlação  
259 negativa entre a gordura ( $r=0,03$ ;  $P<0,001$ ) e a CBTt, o que refletiu na ausência de significância na  
260 correlação desta variável com os sólidos totais. Por outro lado, neste estudo, observa-se correlação positiva  
261 da gordura com a CBTt, o que por sua vez, repercutiu na correlação positiva observada para os sólidos totais  
262 frente a esta variável (Tabela 3).

263 Pode-se observar que não houve correlação positiva entre a CBTt e as variáveis climáticas  
264 (temperatura ambiente, umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica) (Tabela 4), fato que pode ser  
265 justificado, pela relação existente entre estas variáveis com a maior pressão de infecção por microrganismos  
266 ambientais, os quais estão mais relacionados com casos de mastite clínica, como os causados por *Escherichia*  
267 *coli* ou *Streptococcus uberis* (SANTOS & FONSECA, 2007). Considerando que normalmente o leite de  
268 vacas com mastite clínica é descartado, esses casos não influenciariam a CBT do leite. Corroborando com  
269 nossos resultados, Bueno et al. (2008) reportaram ausência de correlação ( $P>0,05$ ) entre a CBTt e a  
270 temperatura ambiente. Por outro lado estes mesmos autores encontraram correlação significativa entre CBTt  
271 e umidade relativa do ar ( $r=0,76$ ;  $P<0,01$ ) e CBTt e precipitação pluviométrica ( $r=0,93$ ;  $P<0,001$ ).

272 Na análise de variância multivariada houve diferença ( $P<0,05$ ) entre os vetores de médias para as  
273 classes de CBT, tanto pelo teste Wilks quanto pelos testes Pillai, Hotelling-Lawley e Roy. Os três primeiros  
274 autovalores foram significativos pelo teste da razão de verossimilhança, sendo que primeiro autovalor  
275 explicou 71,29% e o segundo 24,51%, ou seja, os dois primeiros autovalores explicaram 95,80% da variação  
276 total dos dados.

277 A análise de componentes principais permite visualizar a proximidade/similaridade ou  
278 distância/dissimilaridade entre as diferentes classes de CBT (Figura 1). As variáveis que explicaram a  
279 variabilidade no eixo x (componente principal 1) foram gordura ( $r= 0,9120$ ;  $P<0,05$ ), minerais ( $r= 0,9663$ ;  
280  $P<0,01$ ), lactose ( $r= -0,9059$ ;  $P<0,05$ ) e ECS ( $r=0,9165$ ;  $P<0,05$ ) ao passo que a variável que explicou a  
281 variabilidade no eixo y (componente principal 2) foi a proteína ( $r= 0,9161$ ;  $P<0,05$ ).

282 Todavia, conforme inspeção gráfica visual não se pode concluir sobre o número ideal de grupos  
283 entre tratamentos. Dessa forma, procedeu-se a análise de agrupamento utilizando o algoritmo hierárquico  
284 aglomerativo de Ward como método de agrupamento e a distância euclidiana quadrática como medida de  
285 dissimilaridade, e, juntamente com o auxílio estatístico do coeficiente de correlação cofenética (CCC),  
286 pseudo-F e pseudo-t<sup>2</sup>, permitiu constatar-se que o número ideal de grupos formados entre tratamentos foi  
287 três, dos quais um grupo englobando as classes de CBT 2, 3, 4 e 5 (tratamentos) (Figura 1). Portanto, o leite  
288 com CBT superiores a 100.000 até 1000.000 UFC mL<sup>-1</sup> apresenta a mesma qualidade química e contagem de

289 células somáticas, ou seja, não se justifica a criação de extratos intermediários nesta amplitude para avaliação  
290 do efeito da CBT sobre estas variáveis.

291 Os padrões legais mínimos de CBT de 600.000 UFC mL<sup>-1</sup> (atual limite brasileiro) e de 500.000 UFC  
292 mL<sup>-1</sup> (limite brasileiro proposto para o dia 30 de junho de 2014 a 30 de junho de 2016) não resultariam em  
293 melhorias na qualidade química e da CCS do leite, enquanto que o limite proposto pelos países membros da  
294 União Europeia, Nova Zelândia, Austrália, Estados Unidos e ainda pela norma brasileira a partir do dia 1º de  
295 julho de 2016 (100.000 UFC mL<sup>-1</sup>), se considerados como obrigação de quem produz, acarretariam  
296 melhorias significativas destes indicadores de qualidade.

297 Na dispersão gráfica (Figura 1), além da formação de um grupo englobando as classes de CBT 2,3,4  
298 e 5, observa-se a formação de 2 grupos com elevada dissimilaridade. Estes grupos distintos são formados  
299 pelo tratamento 1 (CBT≤100.000 UFC mL<sup>-1</sup>) e o tratamento 6 (CBT>1.000.000 UFC mL<sup>-1</sup>), e diferem entre  
300 si, principalmente em relação ao eixo x (componente principal 1).

301 Dessa maneira, o grupo formado pelos maiores valores de CBT (CBT>1.000.000 UFC mL<sup>-1</sup>) possui  
302 concentrações superiores de gordura, minerais e ECS e menores valores de lactose, quando comparado com  
303 o grupo de menores valores de CBT (CBT≤100.000 UFC mL<sup>-1</sup>). Porém, como reportado anteriormente, o  
304 aumento nos teores de gordura e minerais à medida que se eleva a CBT, não pode ser considerado favorável  
305 a qualidade do leite, visto que ocorre possivelmente como resultado indireto da inflamação da glândula  
306 mamária e ação direta de patógenos sobre estes constituintes, que se reflete respectivamente, na maior CCS e  
307 menor lactose encontrada. Paralelamente, deve-se considerar a possível limitação do método analítico em  
308 relação à determinação de proteína e gordura, onde o princípio está baseado na determinação total destes  
309 constituintes, sem levar em consideração as frações protéicas e lipídicas, como valores de caseína e ácidos  
310 graxos livres. Desta maneira, a metodologia utilizada, apesar de detectar um aumento dos teores totais de  
311 gordura e proteína com a elevação da CBT, poderia estar mascarando possíveis alterações qualitativas,  
312 principalmente em relação à composição destas variáveis, evidenciando-se possíveis restrições a sistemas de  
313 pagamento com base na composição centesimal do leite sem considerar a CBT.

314 Assim, diante do exposto, CBT superior a 100.000 UFC mL<sup>-1</sup>, já poderia trazer sérios prejuízos para  
315 a qualidade do leite, indicando sérias falhas de higiene na produção. No mesmo sentido, valores mais  
316 elevados que 1.000.000 UFC mL<sup>-1</sup> possivelmente trariam prejuízos ainda mais sérios a matéria-prima e  
317 consequentemente à indústria de derivados lácteos.

318 Dessa forma, diante dos elevados resultados de CBT reportados por este e outros estudos realizados,  
319 aliado à evidência que a norma regulatória brasileira, até o dia 30 de junho de 2016 (período que compreende  
320 os limites de 600.000 e 500.000 UFC mL<sup>-1</sup>), não seja capaz de mitigar os efeitos da CBT sobre os  
321 constituintes do leite, torna-se necessário a implantação de programas de pagamento por qualidade, a fim de  
322 minimizar as possíveis perdas para a indústria láctea, referentes a este período. Essa suposição reforça-se,  
323 devido às experiências positivas obtidas em países de pecuária leiteira desenvolvida, como nos membros da  
324 União Europeia, que as indústrias adaptaram-se a sistemas de pagamento que penalizam o leite fora das  
325 especificações e bonificam aquele que tem melhores características que os critérios exigidos por lei, e nos

326 Estados Unidos e Canadá, que também adotaram essas ferramentas para melhoria da qualidade do leite cru  
327 (PAIVA et al., 2012).

328 Desse modo, sugere-se um sistema de bonificação e penalização de qualidade do leite baseado na  
329 CBT, onde: produtores que entreguem leite com valores de CBT menores que 100.000 UFC mL<sup>-1</sup>, recebam  
330 bonificações e maiores que 1.000.000 UFC mL<sup>-1</sup>, penalizações.

331 Sistemas de bonificação e penalização baseados nos achados deste estudo possibilitariam que o leite  
332 brasileiro alcançasse padrões internacionais de qualidade, e ainda possivelmente reduzir-se-iam prejuízos  
333 industriais impactantes ocasionados pelo alto efetivo microbiano, como: acidificação e coagulação, produção  
334 de gás, geleificação, sabor amargo, coagulação sem acidificação, aumento da viscosidade, alteração de cor,  
335 produção de sabores, odores variados, dentre outros, os quais diminuem a vida de prateleira e o rendimento  
336 industrial dos derivados lácteos (GIGANTE, 2004).

337

338

### Conclusões

339

340 Os teores de gordura, proteína, minerais e sólidos totais estão diretamente correlacionados com o  
341 aumento da CBT, o que não deve ser considerado favorável à qualidade do leite, e sim resultado de possíveis  
342 efeitos diretos desta variável, ou indiretos pela inflamação da glândula mamária, enquanto, a lactose e os  
343 sólidos desengordurados apresentaram correlação inversa. As variáveis climáticas (temperatura ambiente,  
344 umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica) não apresentaram correlação significativa ( $P>0,05$ ) com  
345 a CBT. Através da análise de componentes principais seguida da análise de agrupamento consta-se que leites  
346 com CBT superiores a 100.000 até 1.000.000 UFC mL<sup>-1</sup>, apresentam a mesma qualidade química e contagem  
347 de células somáticas, não justificando a estratificação de intervalos nesta amplitude de variação para estudar  
348 o efeito da CBT nestas variáveis. Paralelamente, observa-se que somente limites de normas regulatórias não  
349 são suficientes para melhorar a qualidade do leite, sugerindo-se parâmetros para sistemas de pagamento  
350 baseado na bonificação e penalização em relação à CBT.

351

352

### Referências Bibliográficas

353

354 ANDRADE, U.V.C.; HARTMAN, W.; MASSON, M.L. Isolamento microbiológico, contagem de células  
355 somáticas e contagem bacteriana total em amostras de leite. *Ars Veterinaria*, v.25, n.3, p.129-135, 2009.

356

357 BRASIL. **Instrução Normativa n. 51 de 18 de setembro de 2002.** Dispões sobre regulamentos técnicos  
358 aplicados ao leite cru refrigerado e pasteurizado. Diário Oficial da União, Brasília, 20 set. 2002. Seção 1, n.  
359 183, p.13-22.

360

361

362

- 363 BRASIL. **Instrução Normativa n. 62 de 29 de dezembro de 2011.** Dispõe sobre regulamentos técnicos de  
364 produção, identidade e qualidade do leite tipo A, leite Cru refrigerado, leite pasteurizado e do regulamento  
365 técnico de coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. Disponível em:  
366 <[http://www.sindilat.com.br/gomanager/arquivos/IN62\\_2011\(2\).pdf](http://www.sindilat.com.br/gomanager/arquivos/IN62_2011(2).pdf)>Acessoem:05/05/2012.  
367
- 368 BUENO, V.F.F.; MESQUITA, A.J.; NEVES, R.B.S.; MANSUR, J.R.G.; OLIVEIRA, J.P.; ROSA, A.F.L.  
369 Influência da temperatura de armazenamento e do sistema de utilização do tanque de expansão na qualidade  
370 microbiológica do leite cru. **Revista Higiene Alimentar**, v. 18, n. 124, p. 62-67, 2004.  
371
- 372 BUENO, V.F.F.; MESQUITA, A.J.; OLIVEIRA, A.N.; NOCOLAU, E.S.; NEVES, R.B.S. **Revista**  
373 **Brasileira de Ciência Veterinária**, v.15, n.1, p.40-44, 2008.
- 374 CHEN, L.; DANIEL, R.M.; COOLBEAR, T. Detection and impact of protease and lipase activities in milk  
375 powders. **International Dairy Journal**, v.13, n.4, p.255-275, 2003.  
376
- 377 CITADIN, A.S.; POZZA, M.S.S.; POZZA, P.C.; NUNES, R.V.; BORSATTI, L.; MANGONI, J. Qualidade  
378 microbiológica de leite cru refrigerado e fatores associados. **Revista Brasileira de Saúde e Produção**  
379 **Animal**, v.10, n.1, p.52-59, 2009.  
380
- 381 DATTA, N.; DEETH, H. C. Diagnosing the cause of proteolysis in UHT milk. **LWT- Food Science and**  
382 **Technology**, v. 36, p.173–182, 2003.  
383
- 384 EBERHART, R.J.; HUTCHINSON, L.J.; SPENCER, S.B. Relationships of bulk tank somatic cell counts to  
385 prevalence of intramammary infection and to indices of herd production. **Journal of Food Protection**, v. 45,  
386 n.12, p. 1125-1128, 1982.  
387
- 388 FONSECA, L.F.L.; PEREIRA, C.C.; CARVALHO, M.P. Qualidade microbiológica do leite. SIMPÓSIO  
389 INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE, 4., 1999, Caxambu. **Anais...**, 1999. p.  
390 36-43.  
391
- 392 GIGANTE, M.L. Importância da qualidade do leite no processamento de produtos lácteos. In: CONGRESSO  
393 BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 1., 2004, Passo Fundo. **Anais eletrônicos...**Passo Fundo:UPF,  
394 2004. CD-ROM.  
395
- 396 HANUŠ, O.; VEGRICHT, J.; FRELICH, J.; MACEK, A.; BJELKA, M.; LOUDA, F.; JANŮ, L. Analysis of  
397 raw milk quality according to free fatty acid contents in the Czech Republic. **Czech Journal Animal**  
398 **Science**, v.53, n.1, p.17-30, 2008.  
399

- 400 HARMON, R.J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**,  
401 v.77, n.7, p.2103-2112, 1994.
- 402
- 403 HOGAN, J. S. et al. Bacterial counts in bedding materials used on nine commercial dairies. **Journal Dairy**  
404 **Science**, v. 72, n.1, p. 250, 1989.
- 405
- 406 LANGE, C. C.; BRITO J. R. F. Influência da qualidade do leite na manufatura e vida de prateleira dos  
407 produtos lácteos: papel das altas contagens microbianas. In: BRITO J. R. F; PORTUGAL, J. A (Eds.)  
408 **Diagnóstico da Qualidade do Leite, Impacto para a Indústria e a Questão dos Resíduos de**  
409 **Antibióticos**, Embrapa, Juiz de Fora. p. 117-138. 2003.
- 410
- 411 MA, Y.; RYAN, C.; BARBANO, D.M.; GALTON, D.M.; RUDAN, M.A.; BOOR, K.J. Effects of somatic  
412 cell count on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 264-274,  
413 2000.
- 414
- 415 MACHADO, P.F.; PEREIRA, A.R.; SARRÍEZ, G.A. Composição do leite de tanques de rebanhos  
416 brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29,  
417 n.6, p.1883-1886, 2000.
- 418
- 419 MARTINS, M.E.P.; NICOLAU, E.S.; MESQUITA, A.J.; NEVES, R.B.S.; ARRUDA, M.T. Qualidade de  
420 leite cru produzido e armazenado em tanques de expansão no estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**,  
421 v.9, n.4, p.1152-1158, 2008.
- 422
- 423 MARTINS, M.L.; ARAÚJO, E.F.; MANTOVANI, H.C.; MORAES, C.A. Detection of the *apr* gene in  
424 proteolytic psychrotrophic bacteria isolated from refrigerated raw milk. **International Journal of Food**  
425 **Microbiology**, v.102, n.2, p.203-211, 2005.
- 426
- 427 NERO, L.A.; MATTOS, M.R.; BELOTI, V.; BARROS, M.A.F.; PINTO, J.P.A.N.; ANDRADE, N.J.;  
428 SILVA, W.P.; FRANCO, B.D.G.M. Leite cru de quatro regiões leiteiras brasileiras: perspectivas de  
429 atendimento dos requisitos microbiológicos estabelecidos pela Instrução Normativa 51. **Ciência e**  
430 **Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 191-195, 2005.
- 431
- 432 PAIVA, C.A.V.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; SOUZA, M.R.S.; LANA, A.M.Q. Evolução anual da qualidade  
433 do leite cru refrigerado processado em uma indústria de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina**  
434 **Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.2, p.471-478, 2012.
- 435
- 436 SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. **Estratégia para controle de mastite e melhoria da qualidade do**  
437 **leite**. 2.ed. Barueri, SP: Manole, 2007. 314p.



- 438 SHAMAY, A.; SHAPIRO, F.; LEITNER, G.; SILANIKOVE, N. Infusions of casein hydrolyzates into the  
439 mammary gland disrupt tight junction integrity and induce involution in cows. **Journal of Dairy Science**,  
440 v.86, n.4, p.1250-1258, 2003.
- 441
- 442 SHOOK, G.E. Genetic improvement of mastitis through selection on somatic cell count. **The Veterinary**  
443 **Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.9, n.3, p.563-581, 1993.
- 444
- 445 SOUZA, G.N.; BRITO, J.R.F.; MOREIRA, E.C.; BRITO, M.A.V.P.; SILVA, M.V.G.B. Variação da  
446 contagem de células somáticas em vacas leiteiras de acordo com patógenos da mastite. **Arquivo Brasileiro**  
447 **de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.5, p.1015-1020, 2009.
- 448
- 449 TEBALDI, V.M.R.T.; OLIVEIRA, T.L.C.; BOARI, C.A.; PICCOLI, R.H. Isolamento de coliformes,  
450 estafilococos e enterococos de leite cru provenientes de tanques de refrigeração comunitários: identificação,  
451 ação lipolítica e proteolítica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.3, p.753-760, 2008.
- 452
- 453 TORKAR, K.G.; TEGER, S.G. The microbiological quality of raw milk after introducing the two day's milk  
454 collecting system. **Acta Agriculturae Slovenica**, v.92, n.1, p.61-74, 2008.
- 455
- 456 VIDAL-MARTINS, A. A.; ROSSI JÚNIOR, O. D.; REZENDE-LAGO, N. C. Microrganismos  
457 heterotróficos mesófilos e bactérias do grupo *Bacillus cereus* em leite integral submetido a ultra alta  
458 temperatura. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.3, p.396-400, 2005.
- 459
- 460 WINCK, C.A.; THALER NETO, A. Diagnóstico da adequação de propriedades leiteiras em Santa Catarina  
461 às normas brasileiras de qualidade do leite. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.8, n.2, p.164-172,  
462 2009.
- 463
- 464
- 465
- 466
- 467
- 468
- 469
- 470
- 471
- 472
- 473
- 474

475 **Tabela 1** – Estatística descritiva, com o número de observações (n), mínimos (Mín), máximos (Máx), médias  
 476 (Méd), desvios padrão (DvPad), erros padrão (ErrPad) e coeficientes de variação (CV) das variáveis gordura  
 477 (Gord), proteína (Prot), lactose (Lact), minerais, sólidos não gordurosos (SNG), sólidos totais (ST),  
 478 contagem de células somáticas (CCS), escore linear da contagem de células somáticas (ECS), contagem  
 479 bacteriana total (CBT) e logaritmo natural da CBT ou CBT transformada (CBTt).

Variável	n	Mín	Máx	Méd	DvPad	ErrPad	CV
Gord	44.089	2,20	5,10	3,58	0,38	0,00	10,47
Prot	44.089	2,29	3,91	3,09	0,21	0,00	6,87
Lact	44.089	3,65	4,91	4,34	0,16	0,00	3,72
Minerais	44.089	0,39	1,51	0,97	0,10	0,00	10,13
SNG	44.089	7,16	9,71	8,39	0,33	0,00	3,97
ST	44.089	9,99	14,07	11,98	0,57	0,00	4,79
CCS	44.089	1000,00	3729000,00	711.883,87	491583,32	2341,16	69,05
ECS	44.089	6,32	18,19	15,43	1,14	0,01	7,37
CBT	44.089	1000,00	16700000,00	2963667,54	3208299,66	15279,52	108,25
CBTt	44.089	6,91	16,63	14,14	1,45	0,01	10,27

480

481

482

483

484

485

486

487

488

489

490

491

492

493

494

495

496 **Tabela 2** – Médias ajustadas dos teores de gordura (Gord), proteína (Prot), lactose (Lact), minerais (Min),  
 497 sólidos não gordurosos (SNG), sólidos totais (ST) e do escore linear da contagem de células somáticas (ECS)  
 498 com seus respectivos erros padrão da média (entre parênteses) em função das distintas classes de contagem  
 499 bacteriana total (CBT) de 44.089 amostras de leite analisadas de junho de 2008 a dezembro de 2011.

CBT (x1.000 UFC mL <sup>-1</sup> )	Gord (%)	Prot (%)	Lact (%)	Min (%)	SNG (%)	ST (%)	ECS [log <sub>2</sub> (CCS/100)]+3
CBT≤100	3,49 <sup>d</sup> (0,007)	3,08 <sup>a</sup> (0,004)	4,41 <sup>a</sup> (0,003)	0,960 <sup>a</sup> (0,002)	8,46 <sup>a</sup> (0,007)	11,94 <sup>a</sup> (0,011)	15,28 <sup>b</sup> (0,022)
100<CBT≤300	3,53 <sup>cb</sup> (0,006)	3,09 <sup>a</sup> (0,003)	4,39 <sup>b</sup> (0,002)	0,963 <sup>a</sup> (0,001)	8,44 <sup>a</sup> (0,005)	11,97 <sup>a</sup> (0,008)	15,43 <sup>a</sup> (0,017)
300<CBT≤600	3,55 <sup>cb</sup> (0,006)	3,09 <sup>a</sup> (0,003)	4,37 <sup>c</sup> (0,002)	0,965 <sup>a</sup> (0,001)	8,43 <sup>a</sup> (0,005)	11,98 <sup>a</sup> (0,009)	15,42 <sup>a</sup> (0,017)
600<CBT≤750	3,55 <sup>cb</sup> (0,009)	3,10 <sup>a</sup> (0,004)	4,36 <sup>cd</sup> (0,003)	0,966 <sup>a</sup> (0,002)	8,42 <sup>a</sup> (0,008)	11,97 <sup>a</sup> (0,013)	15,46 <sup>a</sup> (0,026)
750<CBT≤1000	3,57 <sup>b</sup> (0,007)	3,10 <sup>a</sup> (0,004)	4,35 <sup>d</sup> (0,003)	0,968 <sup>a</sup> (0,002)	8,42 <sup>a</sup> (0,006)	11,99 <sup>a</sup> (0,011)	15,46 <sup>a</sup> (0,022)
CBT>1000	3,61 <sup>a</sup> (0,002)	3,08 <sup>a</sup> (0,001)	4,32 <sup>e</sup> (0,001)	0,966 <sup>a</sup> (0,001)	8,37 <sup>b</sup> (0,001)	11,98 <sup>a</sup> (0,003)	15,44 <sup>a</sup> (0,007)
Média	3,58	3,08	4,34	0,97	8,39	11,98	14,14
P-value <sup>1</sup>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
CV <sup>2</sup>	10,36	6,86	3,54	10,12	3,95	4,78	10,19

500 Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna diferem (P<0,05) entre si pelo teste de Tukey

501 <sup>1</sup>Valor probabilístico

502 <sup>2</sup>Coefficiente de variação

503

504

505

506

507

508

509

510

511

512

513

514

515

516

517

518

519

520

521

522 **Tabela 3** - Correlação linear simples da contagem bacteriana total transformada (CBTt) ou logaritmo natural  
 523 da CBT e os teores de gordura, proteína, lactose, minerais, sólidos não gordurosos (SNG), sólidos totais  
 524 (ST), escore linear de células somáticas (ECS) de 44.089 amostras de leite analisadas de junho de 2008 a  
 525 dezembro de 2011

Variável	CBTt (logUFC mL <sup>-1</sup> )	
	r <sup>(2)</sup>	R <sup>2(3)</sup>
Gordura (%)	0,111***	0,01232
Proteína (%)	0,015**	0,00022
Lactose (%)	-0,198***	0,03920
Minerais (%)	0,013**	0,00016
SND (%)	-0,102***	0,01040
ST (%)	0,014**	0,00020
<sup>(1)</sup> ECS (cél/s mL <sup>-1</sup> )	0,006 <sup>ns</sup>	0,00004

526 <sup>ns</sup> Não significativo; \* P<0,05; \*\* P<0,01; \*\*\* P<0,001

527 <sup>1</sup>Escore linear da contagem de células somáticas(SHOOK, 1993)

528 <sup>2</sup>Coefficiente de correlação linear simples

529 <sup>3</sup>Coefficiente de determinação (EBERHART et al., 1982)

530

531

532

533

534

535

536

537

538

539

540

541

542

543

544

545

546

547

548

549

550

551 **Tabela 4** - Correlações lineares simples do logaritmo natural da contagem bacteriana total (CBT) ou  
 552 contagem bacteriana total transformada (CBTt) de 44.089 amostras de leite analisadas de junho de 2008 a  
 553 dezembro de 2011 com as médias mensais das variáveis meteorológicas (temperatura média, umidade  
 554 relativa do ar e precipitação pluviométrica) durante o período experimental

Variáveis Climáticas	CBTt (logUFC mL <sup>-1</sup> )	
	r <sup>(1)</sup>	R <sup>2(2)</sup>
Temperatura média (°C)	0,190 <sup>ns</sup>	0,03610
Umidade relativa do ar (%)	-0,286 <sup>ns</sup>	0,08179
Precipitação (mm)	0,057 <sup>ns</sup>	0,00325

555 <sup>ns</sup> não significativo; \*P<0,05, \*\*P<0,01, \*\*\*P<0,001

556 <sup>(1)</sup> Coeficiente de correlação linear simples

557 <sup>(2)</sup> Coeficiente de determinação (EBERHART et al., 1982)

558

559

560

561

562

563

564

565

566

567

568

569

570

571

572

573

574

575

576

577

578

579

580

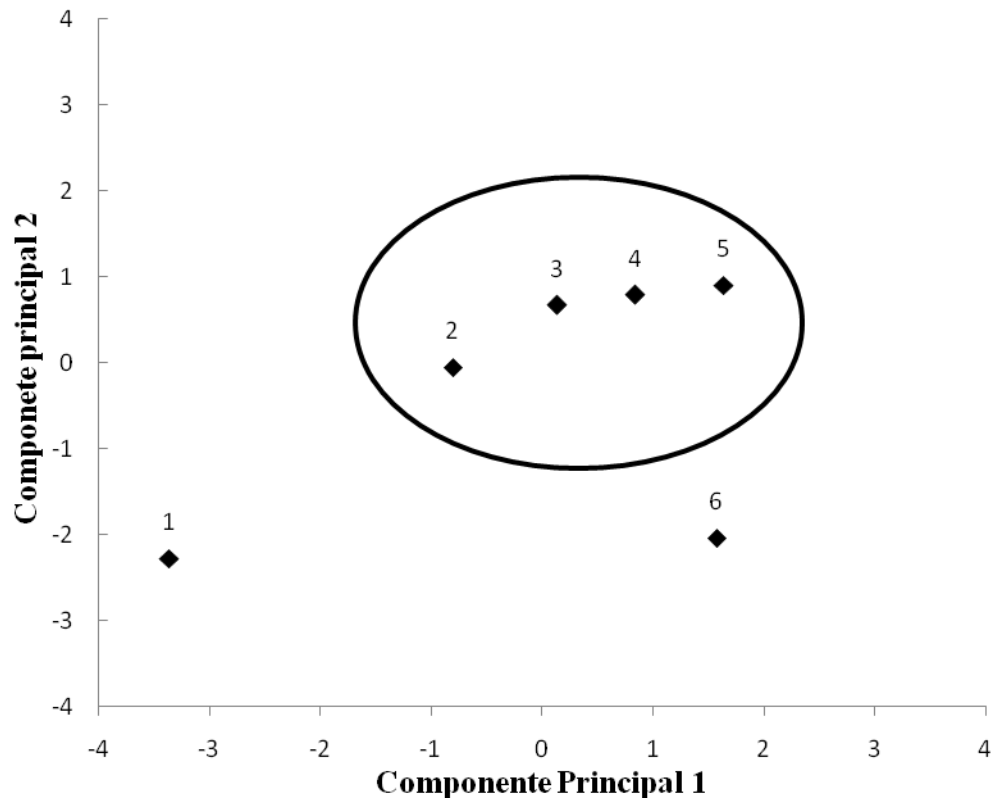
581

582

583

584

585



**Figura 1** – Dispersão gráfica das diferentes classes da CBT obtidas a partir de 44.089 amostras de leite analisadas de junho de 2008 a dezembro de 2011 (1:  $CBT \leq 100.000$ ; 2:  $100.000 < CBT \leq 300.000$ ; 3:  $300.000 < CBT \leq 600.000$ ; 4:  $600.000 < CBT \leq 750.000$ ; 5:  $750.000 < CBT \leq 1.000.000$ ; 6:  $> 1.000.000$  UFC mL<sup>-1</sup>) em função dos dois primeiros componentes principais.

## 4 DISCUSSÃO

O termo qualidade é amplamente discutido nos diversos setores envolvidos com a cadeia láctea mundial, entre eles, produtores, indústrias laticinistas e a comunidade científica. Dessa maneira, o leite para ser caracterizado como de boa qualidade, deve apresentar as seguintes características sensoriais, nutricionais, físico-químicas e microbiológicas: sabor agradável, alto valor nutritivo, ausência de agentes patogênicos e contaminantes, reduzida contagem de células somáticas (CCS) e baixa carga microbiana.

Nos últimos anos, o Brasil tem apresentado grandes avanços em relação à qualidade microbiológica do leite, principalmente após a implantação das normas regulatórias instauradas pela legislação nacional no decorrer das últimas décadas, além da valorização da matéria-prima com características diferenciadas pelas indústrias para incentivar o produtor a investir em cuidados que resultem em melhorias na qualidade do produto. No entanto, problemas relacionados à infecção da glândula mamária dos animais de produção podem resultar em leite com altas contagens de células somáticas e contagens bacterianas total.

Nesse contexto, vários trabalhos científicos têm procurado estimar o efeito que a mastite e a CCS exercem sobre os constituintes do leite, porém os resultados reportados são extremamente contraditórios. Por outro lado, sabe-se que a CBT tem potencial em causar efeitos adversos sobre a composição do leite, prejudicando o rendimento industrial e a segurança alimentar de seus derivados, entretanto, resultados sobre o efeito da elevação da CBT sobre a qualidade química do leite são escassos na literatura.

Dessa maneira, objetivou-se com este estudo caracterizar o efeito da CCS e CBT sobre a composição química do leite e avaliar a influência que as variáveis climáticas exercem sobre estes indicadores higiênico-sanitários, empregando um tempo representativo de coleta de dados, minimizando possíveis efeitos aleatórios que levariam a erros de interpretação.

A temperatura ambiente apresentou correlação positiva e significativa com o escore de células somáticas, enquanto a precipitação pluviométrica e umidade relativa do ar ausência de correlação. Por outro lado, as variáveis climáticas não apresentaram correlação significativa com a CBT. Os teores de gordura, proteína, minerais e sólidos totais foram diretamente correlacionados com a CCS e a CBT, enquanto que os sólidos não gordurosos e a lactose apresentaram comportamento inverso. Todavia, as correlações foram de baixa magnitude e sem significado prático. Dessa forma ao se observar os coeficientes de determinação ( $R^2$ ),

constata-se que a variação do escore linear de células somáticas (ECS) respondeu por apenas 2,19% da variação do teor de gordura, 0,21% do teor de proteína, 9,73% do teor de lactose, 0,21% do teor de minerais, 1,19% do teor de SNG e 0,11% do teor de ST. Por outro lado a variação do logaritmo natural da contagem bacteriana total (CBT) ou CBT transformada (CBTt) respondeu por apenas 1,23% da variação do teor de gordura, 0,02% do teor de proteína, 3,92% do teor de lactose, 0,02% do teor de minerais, 1,04% do teor de SNG e por 0,02% do teor de ST. Nesse contexto, os efeitos observados na composição centesimal do leite, podem ser explicados em maior proporção pela variação da CCS do que da CBT. A análise de componentes principais (ACP) seguida pelo método hierárquico aglomerativo de agrupamento permitiu constatar que leites com CCS de 401.000 a 750.000 céls mL<sup>-1</sup> e CBT de 100.000 a 1.000.000 UFC mL<sup>-1</sup>, apresentam a mesma qualidade, não justificando a estratificação de intervalos nesta amplitude de variação, tanto pela legislação, quanto por estudos futuros. Paralelamente, observa-se que somente limites de normas regulatórias não são suficientes para melhoria da qualidade do leite, sugerindo-se, parâmetros para sistemas de pagamento baseado na bonificação e penalização em relação à CCS e CBT do leite.

Assim, sistemas de bonificações e penalizações baseados nos achados deste estudo, além de possivelmente acarretar em resultados significativos a curto e médio prazo, pois incentivariam o produtor a investir em cuidados, principalmente no que se refere à CBT e CCS, possibilitaria que o leite brasileiro alcançasse padrões internacionais de qualidade, e ainda possivelmente reduzir-se-iam prejuízos industriais impactantes ocasionados pelo alto efetivo microbiano e pelas altas contagens de células somáticas.



## 5 CONCLUSÃO

Os teores de gordura, proteína, minerais e sólidos totais foram diretamente correlacionados com a CCS e a CBT, enquanto que os sólidos não gordurosos e a lactose apresentaram comportamento inverso;

A variação dos constituintes do leite é explicada em maior proporção pela contagem de células somáticas, do que a contagem bacteriana total;

A temperatura ambiente apresentou correlação positiva e significativa com a CCS, enquanto a precipitação pluviométrica e a umidade relativa do ar, ausência de correlação;

As variáveis climáticas (temperatura ambiente, precipitação pluviométrica e umidade relativa do ar) não apresentaram correlação significativa com a CBT;

A análise de componentes principais (ACP) seguida pelo método hierárquico aglomerativo de agrupamento permitiu constatar que leites com CCS superiores a 400.000 até 750.000 céls mL<sup>-1</sup> e CBT maiores que 100.000 até 1.000.000 UFC mL<sup>-1</sup>, apresentam a mesma qualidade, não justificando a estratificação de intervalos nesta amplitude de variação.

Paralelamente, observa-se que somente limites de normas regulatórias não são suficientes para melhoraria da qualidade do leite, sugerindo-se, parâmetros para sistemas de pagamento baseado na bonificação e penalização em relação à CCS e CBT do leite.

## REFERÊNCIAS

AAKU, E.N., COLLISON, E.K, GASHE, B.A., MPUCHANE, S., Bacterial quality of milk from two processing plants in Gaborone Botswana, **Food Control**, v.15, n.3, p.181-186, 2004.

ALBENZIO, M.; CAROPRESE, M.; SANTILLO, A.; MARINO, R.; TAILI, L.; SEVI, A. Effects of somatic cell count and stage of lactation on the plasmin activity and cheese making properties of ewe milk. **Journal of Dairy Science**, v.87, n.3, p.533-542, 2004.

ÁLVARES, J.G. Pagamento do leite por sólidos. In: **Visão técnica e econômica da produção leiteira**. Piracicaba, SP: FEALQ, 2005. p.129-140.

ANDRADE, M.A. **Mastite Bovina Subclínica: prevalência, etiologia e frequência de patógenos isolados das mãos de ordenhadores e teteiras, e testes de sensibilidade a drogas antimicrobianas**. 1997. 113 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária – Universidade Federal de Goiás, 1997.

ANDRADE, U.V.C.; HARTMAN, W.; MASSON, M.L. Isolamento microbiológico, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total em amostras de leite. **Ars Veterinaria**, v.25, n.3, p.129-135, 2009.

ARCURI, E.F.; BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F.; PINTO, S.M.; ÂNGELO, F.F.; SOUZA, G.N. Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.3, p.440-446, 2006.

AULDIST, M. J. et al. Changes in the compositional of milk from healthy and mastitis dairy cows during the lactation cycle. **Australian Journal of Experimental Agriculture, Melbourne**, v.35, n.4, p.427-436, 1995.

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

BALCÃO, V.M.; KEMPPINEM, A.; MALCATA, F.X.; KALO, P.J. Modification of butterfat by selective hydrolyses and interesterification by lípase: Process and product characterization. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.75, n.10, p.1347-1358, 1998.

BARBANO, D.M.; RASMUSSEN, R.R.; LYNCH, J.M. Influence of milk somatic cell count and milk age on cheese yield. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.2, p.369-388, 1991.

BARKEMA, H.W.; SCHUKKEN, Y.H.; LAM, T.J.G.M.; BEIBOER, M.L.; BENEDICTUS, G.; BRAND, A. Management practices associated with low, medium, and high somatic cell counts in bulk milk. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n.7, p.1917-1927, 1998.

BARTLETT, P. C.; MILLER, G. Y.; ANDERSON, C. R.; KIRK, J. H. Milk production and somatic cell count in Michigan dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v.73, n.10, p.2794-2800, 1990.

BAUMAN, D.E.; MATHER, I.H.; WALL, R.J.; LOCK, A.L. Major advances associated with biosynthesis of milk. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 4, p. 1235-1243, 2006.

BECART, J.; CHEVALIER, C.; BIESSE, J. Quantitative analysis of phospholipids by HPLC with a light scattering evaporating detector - application to raw materials for cosmetic use. **Journal of High Resolution Chromatography**, v. 13, n.2, p. 126-129, 1990.

BERGLUND, I.; PETTERSSON, G.; OSTENSSON, K.; SVENNERSTEN-SJAUNJA, K. Quarter Milking for improved detection of increase SCC. **Reproduction in Domestic Animals**, v.42, n.4, p.427-432, 2007.

BIANCHI, L.; BOLLA, A.; BUDELLI, E.; CAROLI, A.; CASOLI, C.; PAUSELLI, M.; DURANTI, E. Effect of udder health status and lactation phase and characteristics of Sardinian ewe milk. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n.8, p.2401-2408, 2004.

BORGES, K.A.; REICHERT, S.; ZANELA, M.B.; FISCHER, V. Avaliação da qualidade do leite de propriedades da região do Vale do Taquari no estado do Rio Grande do Sul. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.37, n.1, p.39-44, 2009.

BRASIL. **Portaria n. 166, de 05 de maio de 1998**. Cria grupo de trabalho para analisar e propor programa e medidas visando ao aumento da competitividade... Diário Oficial da União, Brasília, 06 maio 1998. Seção 1, p.42.

BRASIL. **Instrução Normativa n. 51 de 18 de setembro de 2002**. Dispões sobre regulamentos técnicos aplicados ao leite cru refrigerado e pasteurizado. Diário Oficial da União, Brasília, 20 set. 2002. Seção 1, n. 183, p.13-22.

BRASIL. **Instrução Normativa n. 62 de 29 de dezembro de 2011.** Dispõe sobre regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, leite Cru refrigerado, leite pasteurizado e do regulamento técnico de coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. Disponível em: <[http://www.sindilat.com.br/gomanager/arquivos/IN62\\_2011\(2\).pdf](http://www.sindilat.com.br/gomanager/arquivos/IN62_2011(2).pdf)> Acesso em: 05/05/2012.

BRASIL. **Projeções do Agronegócio 2010/2011 a 2020/2021.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Assessoria de Gestão Estratégica, Brasília, DF, jun. 2011. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/Ministerio/gestao/projecao/PROJECOES%2D0%20AGRONEGOCIO%202010-11%20a%202020-21%20-%202\\_0.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Ministerio/gestao/projecao/PROJECOES%2D0%20AGRONEGOCIO%202010-11%20a%202020-21%20-%202_0.pdf)> Acesso em: 17 mar. 2012.

BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P. Qualidade do leite brasileiro e os desafios para atendimento das exigências internacionais. In: ZOCCAL, R. et al. **Leite: uma cadeia produtiva em transformação.** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2004. p. 235-243.

BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F. **O efeito da mastite no leite.** Disponível em: <http://www.leitebrasil.org.br/revista.htm>. Acesso em: 21 de maio de 2012.

BRITO, J.R.F.; DIAS, J.C. **A qualidade do leite. Juiz de Fora-MG:** Embrapa/Tortuga, 1998. 98p.

BUENO, V.F.F.; MESQUITA, A.J.; NEVES, R.B.S.; MANSUR, J.R.G.; OLIVEIRA, J.P.; ROSA, A.F.L. Influência da temperatura de armazenamento e do sistema de utilização do tanque de expansão na qualidade microbiológica do leite cru. **Revista Higiene Alimentar**, v.18, n.124, p.62-67, 2004.

BUENO, V.F.F.; MESQUITA, A.J.; OLIVEIRA, A.N.; NICOLAU, E.S.; NEVES, R.B.S. Contagem bacteriana total do leite: relação com a composição centesimal e período do ano no Estado de Goiás. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.15, n.1, p.40-44, 2008.

CARNEIRO, D.M.V.F.; DOMINGUES, P.F.; VAZ, A.K. Imunidade inata da glândula mamária bovina: resposta à infecção. **Ciência Rural**, v.39, n.6, p.1934-1943, 2009.

CARVALHO, G.F.; MOLINA, L.R.; CUNHA, R.P.L.; CRUZ, J.C.M. Efeito da implementação de um programa de controle de mastite sobre parâmetros de qualidade do leite. In: SIMPÓSIO: AGRONEGÓCIO DO LEITE, PRODUÇÃO, GESTÃO E QUALIDADE, 1., 2002, Belo Horizonte. **Anais...**Belo Horizonte, 2002 (CD-ROM).

CARVALHO, M.P.; MARTINS, P.C.; WRIGHT, J.T.C.; SPERS, R.G. **Cenários para o leite no Brasil em 2020**. Juiz de Fora-MG: Embrapa Gado de Leite, 2007, 189p.

CHAFER, M. Tendências e avanços do agronegócio do leite nas Américas: produção primária. In: CONGRESSO PANAMERICANO DO LEITE; 2006, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre, 2006. 128p.

CHEN, L.; DANIEL, R.M.; COOLBEAR, T. Detection and impact of protease and lipase activities in milk powders. **International Dairy Journal**, v.13, n.4, p.255-275, 2003.

CITADIN, A.S.; POZZA, M.S.S.; POZZA, P.C.; NUNES, R.V.; BORSATTI, L.; MANGONI, J. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e fatores associados. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.10, n.1, p.52-59, 2009.

COLLINS, Y.F.; MCSWEENEY, P.L.H.; WILKINSON, M.G. Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. **International Dairy Journal**, v.13, n.11, p.841-866, 2003.

CONSIDINE, T.; GEARY, S.; KELLY, A.L; McSWEENEY, P.L.H. Proteolytic specificity of cathepsin G on bovine alphas 1- and beta caseins. **Food Chemistry**, v.76, n.1, p.59-67, 2002.

COSTA, E.O. Uso de antimicrobianos na mastite. In: Spinosa, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. Cap.42; p501-515.

COSTA, G.M.; SILVA, N.; ROSA, C.A.; FIGUEIREDO, H.C.P.F.; PEREIRA, U.P. Mastite por leveduras em bovinos leiteiros do Sul do Estado de Minas Gerais, Brasil. **Ciência Rural**, v.38, n.7, p.1938-1942, 2008.

COSTA, M.R.; JIMÉNEZ-FLORES, R.; GIGANTE, M.L. Propriedades da membrana do glóbulo de gordura do leite. **Revista Alimentação e Nutrição**, v.20, n.3, p. 507-514, 2009.

COUSIN, M. A. Presence and activity psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products. **Journal of Food Protection**, v.45, n.2, p.172, 1982.

DATTA, N.; DEETH, H. C. Diagnosing the cause of proteolysis in UHT milk. **LWT- Food Science and Technology**, v. 36, n.2, p.173-182, 2003.

DE KRUIF, C.G.; GRINBERG, V.Y. Micellisation of  $\beta$ -casein. **Colloids and Surface A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 210, n.2-3, p. 183-190, 2002.

DEPEC, Departamento de Pesquisas e Estudos Econômicos 2012 - **Leite e Derivados**. 2012. Disponível em: <[http://www.economiaemdia.com.br/static\\_files/EconomiaEmDia/Arquivos/infset\\_leite\\_e\\_de\\_vivados.pdf](http://www.economiaemdia.com.br/static_files/EconomiaEmDia/Arquivos/infset_leite_e_de_vivados.pdf)> Acesso em: 18 mai.2012

DIAS FILHO, F.C. **Perfil do produtor e características das propriedades rurais que utilizam ordenhadeira mecânica na bacia leiteira de Goiânia-GO**. 1997. 63 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária – Universidade Federal de Goiás, 1997.

EL-TAHAWY, A. S.; EL-FAR, A. H. Influences of somatic cell count on milk composition and dairy farm profitability. **International Journal of Dairy Technology**. v. 63, n.3, p.463-469, 2010.

EMBRAPA, Gado de Leite. **Produção, Industrialização e Comercialização (Produção)**. 2012. Disponível em: <<http://www.cnpqgl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/producao/producao.php>> Acesso em: 18 mai. 2012.

FAEP. Federação da Agricultura do Estado do Paraná, 3, **Onde estamos e onde queremos chegar - Oportunidades e Ameaças**, FAEP, 2008. Disponível em: <<http://www.faep.com.br/boletim/bi997/encarte/enchi997pag10.htm>> Acesso em: 27 jun. 2012.

FERNANDES, A. M.; OLIVEIRA, C. A. F.; LIMA, C. G. Effects of somatic cell counts in milk on physical and chemical characteristics of yogurt. **International Dairy Journal**, v.17, n.2, p. 111-115, 2007.

FONSECA, C. S. P. **Qualidade do leite cru de tanques refrigeradores de Minas Gerais**. 2005. 62f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

FONSECA, L.F.L.; PEREIRA, C.C.; CARVALHO, M.P. Qualidade microbiológica do leite. SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE, 4., 1999, Caxambu. **Anais...**, 1999. p. 36-43.

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

FONSECA, L.M.; RODRIGUES, R.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; LEITE, M.O.; PENNA, C.F.A.M.; SOUZA, M.R.; FONSECA, C.S.P.; SOARES, C.F.; ALMEIDA, I.N. Contagem bacteriana de leite cru granelizado do Estado de Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 1., 2004, Passo Fundo. **Anais eletrônicos...** Passo Fundo: UPF, 2004 (CD-ROM).

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

FRANCO, R. M.; CAVALCANTI, R. M. S.; WOOD, P. C. B.; LORETTI, V. P.; GONÇALVES, P. M. R.; OLIVEIRA, L. A. T. Avaliação da qualidade higiênicosanitária de leite e derivados. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.14, n.68-69, p.70-77, 2000.

GERMAN, J.B.; DILLARD, C.J. Fractionated milk fat: Composition, structure, and functional properties. **Food Technology**, v.52, n.2, p.33-38, 1998.

GIGANTE, M.L. Importância da qualidade do leite no processamento de produtos lácteos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 1., 2004, Passo Fundo. **Anais eletrônicos...**Passo Fundo:UPF, 2004 (CD-ROM).

GIGANTE, M.L.; COSTA, M.R. **Influência das Células Somáticas nas Propriedades Tecnológicas do Leite e Derivados**, III Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite, Recife: CCS Gráfica e Editora, 2008, 373p.

GLANTZ, M.; MÄNSSON, H.L.; STALHAMMAR, H.; BARSTRÖM, L.O.; FRÖJELIN, M.; KNUTSSON, A.; TELUK, C.; PAULSSON, M. Effects of animal selection on Milk composition and processability. **Journal of Dairy Science**, v.92, n.9, p.4589-4603, 2009.

HANUŠ, O.; VEGRICHT, J.; FRELICH, J.; MACEK, A.; BJELKA, M.; LOUDA, F.; JANŮ, L. Analysis of raw milk quality according to free fatty acid contents in the Czech Republic. **Czech Journal Animal Science**, v.53, n.1, p.17-30, 2008.

HARMON, R.J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**. v.77, n.7, p.2103-2112, 1994.

HEMLLING, T. The effect of free iodine on the germicidal activity of iodine teat dips. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DE MASTITE, 2., Ribeirão Preto, 2002. **Anais...**Ribeirão Preto: [s. n.], 2002. p. 80-82.

HUI, Y.H. **Bailey's industrial oil and fat products**. New York: Wiley-Interscience, 5 ed. 1996. 524p.

JÁNOSI, S.; RÁTZ, F.; SZIGETI, G.; KULCSÁR, M.; KERÉNYI, J.; LAUKÓ, T.; KATONA, F.; HUSZENICZA, G. Review of the microbiological, pathological and clinical aspects of bovine mastitis caused by the alga *Prototheca zopfii*. **The Veterinary Quarterly**, The Hague, v.23, n.2, p.58-61, 2001.

JENSEN, R.G. Invited Review: The composition of bovine Milk lipids: January 1995 to December 2000. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.2, p.295-350, 2002.

JAYARAO, B. M; PILLAI, S.R.; SAWANT, A.A.; WOLFGANG, D.R.; HEGDE, N.V. Guidelines for Monitoring Bulk Tank Milk Somatic Cell and Bacterial Counts. **Journal Dairy Science**, v. 87, n. 10, p. 3561-3573, 2004.

KLAJN, V. M. **Curso Teórico-Prático sobre qualidade Físico-química do Leite**. Santa Rosa: Unijuí, 2005, 87p.

KLEI, L.; YUN, J.; SAPRV, A.; LYNCH, J; BARBANO, D.; SEARS, P.; GALTON, D. Effects of milk somatic cell count on cottage cheese yield and quality. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.5, p.1204-1213, 1998.

KOCA, N.; RODRIGUEZ-SAONA, L.E.; HARPER, W.J.; ALVAREZ, V.B. Application of Fourier transform infrared spectroscopy for monitoring short chain free fatty acids in swiss cheese. **Jornal of Dairy Science**, v.90, n.8, p.3596-3603, 2007.

LANGE, C. C.; BRITO J. R. F. Influência da qualidade do leite na manufatura e vida de prateleira dos produtos lácteos: papel das altas contagens microbianas. In: BRITO, J.R.F; PORTUGAL, J.A (Eds.) **Diagnóstico da Qualidade do Leite, Impacto para a Indústria e a Questão dos Resíduos de Antibióticos**. Juiz de Fora-MG: Embrapa Gado de Leite, p.117-138, 2003.

LANGONI, H. Etiologia da mastite bovina subclínica e clínica: perfil da sensibilidade microbiana, controle e repercussão na produção leiteira, III, Botucatu, 2007. **Anais...** Botucatu, 2007. p.8-17.

LE ROUX, Y.; LAURENT, F.; MOUSSAQUI, F. Polymorphonuclear proteolytic activity and milk composition change. **Veterinary Research**, v.34, n.5, p.629-645, 2003.

LEITE, J.L.B. **Comércio internacional de lácteos**. Juiz do Fora: Templo, 2008, 281 p.



LOPES JÚNIOR, J.F. **Características de propriedades leiteiras do Noroeste do estado do Paraná influenciando nos indicadores da qualidade do leite**: 2010. 61f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2010.

LUZ, D.F.; BICALHO, F.A.; OLIVEIRA, M.V.M.; SIMÕES, A.R.P. Avaliação microbiológica em leite pasteurizado e cru refrigerado de produtores da região do Alto Pantanal Sul-Matogrossense. **Revista Agrarian**, v.4, n.14, p.367-374, 2011.

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

MACHADO, P.F.; PEREIRA, A.R.; SARRÍEZ, G.A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, p.1883-1886, 2000.

MADALENA, F.E. Valores econômicos para a seleção de gordura e proteína do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.1, p.678-684, 2000.

MARGATHO, L.F.F.; HIPOLITO, M.; KANETO, C. N. **Métodos de prevenção, controle e tratamento da mastite bovina**. Boletim Técnico Instituto Biológico. São Paulo: Instituto Biológico, n.9, 1998. 35p.

MARQUES, L.T.; BALBINOTTI, M.; FISCHER, V. Variação da composição química do leite de acordo com a contagem de células somáticas. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DA MASTITE, 2., 2002, Ribeirão Preto. **Anais...Ribeirão Preto, 2002 (CD-ROM)**.

MARTINS, M.C. Competitividade da cadeia produtiva do leite no Brasil. **Revista de política agrícola**, n.3, 2004, p. 38-51.

MARTINS, P. C. Efeitos de políticas públicas sobre a cadeia produtiva do leite em pó. In: MILAGRES, R.C. et al. **Cadeias produtivas no Brasil. Análise da competitividade**, Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia : Embrapa. Secretaria de Administração Estratégia, 2001. 469p.

MARTINS, M.L.; ARAÚJO, E.F.; MANTOVANI, H.C.; MORAES, C.A. Detection of the *apr* gene in proteolytic psychrotrophic bacteria isolated from refrigerated raw milk. **International Journal of Food Microbiology**, v.102, n.2, p.203-211, 2005.

MARTINS, M.E.P.; NICOLAU, E.S.; MESQUITA, A.J.; NEVES, R.B.S.; ARRUDA, M.T. Qualidade de leite cru produzido e armazenado em tanques de expansão no estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.4, p.1152-1158, 2008.

MATIOLI, G.P; PINTO, S.M.; DE ABREU, L.R.; XAVIER, L. TEIXEIRA, L.A.M. Influência do leite proveniente de vacas mastísticas no rendimento de queijo Minas Frescal. **Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes (ILCT)**, v.54, n.1, p.38-45, 2000.

MEPHAN, T. B. The development of ideas on the role of glucose in regulating milk secretion, **Australian Journal of Agricultural Research**, v.44, n.3, p.509-522, 1993.

MILANI, M.P. **Qualidade do leite em diferentes sistemas de produção, anos e estações climáticas no noroeste do Rio Grande do Sul. 2011**, 69f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

MITCHELL, G.E.; FEDRICK, I.A.; ROGERS, S.A. The relationship between somatic cell count, composition and manufacturing properties of bulk milk.2. Cheddar cheese from farm bulk milk. **Journal of Dairy Technology**, v.41, n.1, p.12-14, 1986.

MUIR, D.D. The fresh-life of dairy products: 1. Factors influencing raw milk and fresh products. **Journal of the Society of Dairy Technology**, v.49, n.1, p.24-32, 1996.

MUNRO, G.L.; GRIEVE, P.A.; KITCHEN, B.J. Effects of mastitis on milk yield, milk composition, processing properties and yield and quality of milk products. **Australian Journal of Dairy Technology**, v.39, n.1, p.7-16, 1984.

NAJAFI, N.M.; MORTAZAVI, S.A.; KOOCHEKI, A.; KHORAMI, J.; REKIK, B. Fat and protein contents, acidity and somatic cell counts in bulk milk of Holstein cows in the Khorosan Razavi Province, Iran. **International Journal of Dairy Technology**, v.62, n.1, p.19-26, 2009.

NERO, L.A.; MATTOS, M.R.; BELOTI, V.; BARROS, M.A.F.; PINTO, J.P.A.N.; ANDRADE, N.J.; SILVA, W.P.; FRANCO, B.D.G.M. Leite cru de quatro regiões leiteiras brasileiras: perspectivas de atendimento dos requisitos microbiológicos estabelecidos pela Instrução Normativa 51. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 191-195, 2005.

NMC - National Mastitis Council. 1996. **Current concepts of bovine mastitis**, 4th ed. NMC. Madison, WI.

NOGUEIRA, A. C. L. A cadeia produtiva de leite no estado de São Paulo. **Informações Fipe**. São Paulo, jul. 2007. Disponível em: <[http://www.fipe.org.br/publicacoes/downloads/bif/2007/7\\_5-7-agr.pdf](http://www.fipe.org.br/publicacoes/downloads/bif/2007/7_5-7-agr.pdf)>. Acesso em: 20 fev. 2012.

NORO, G.; GONZÁLEZ, F.H.D.; CAMPOS, R.; DÜRR, J.W. Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.1129-1135, 2006.

NUDDA, A.; FELIGINI, M.; BATTACONE, G.; MACCIOTTA, N. P. P.; PULINA, G. Effects of lactation stage, parity,  $\beta$ -lactoglobulin genotype and milk SCC on whey protein composition in Sarda dairy ewes. **Italian Journal of Animal Science**, v.2, n.1, p.29-39, 2003.

OLDE RIEKERINK, R.G.M.; BARKEMA, H.W.; VEENSTRA, W.; STRYHN, H.; ZADOKS, R.N. Somatic cell count during and between milkings. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.8, p.3733-3741, 2007.

OLIVEIRA, D.S.; TIMM, C.D. Instabilidade da caseína em leite sem acidez adquirida. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.102, n.1, p. 435 – 451, 2007

OLIVEIRA, W. P. S.; OLIVEIRA, A. N.; SOARES E. N.; MESQUITA, A.J.; NEVES, R.B.; FERNANDES, S.D. **Impacto da contagem de células somáticas elevada no rendimento de queijo mussarela**. Disponível em: <<http://www.terraviva.com.br/IICBQL/p010.pdf>> Acesso em 23 de janeiro 2012.

PAAPE, M.J.; WEGIN, W.P.; GUIDRY, A.J. Phagocytic defences of the ruminant mammary gland. **Advances Experimental Medical Biology**. V.137, n.78, p.555-590, 1981.

PAURA, L.; KAIRISHA, D.; JONKUS, D. Repeatability of milk productivity traits. **Veterinarija ir zootehnika**, v.19, n.41, p.90-93, 2002.

PEREDA, J.A.O.; RODRÍGUEZ, M.I.C.; ÁLVAREZ, L.F.; SANZ, M.L.G.; MINGUILLÓN, G.D.G.F.; PERALES, L.H.; CORTECERO, M.D.S. **Tecnología de Alimentos: Alimentos de Origen Animal**. Porto Alegre: Artmed, v.1, 2005. 279p.

PEREIRA, A.R.; SILVA, L.F.P.; MOLON, L.K. et al. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite I – Gordura e Proteína. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, v.36, n.3, p.121-124, 1999.

PEREIRA, P.C. **A inserção brasileira no mercado internacional de produtos lácteos: evolução e perspectivas.** 2008. 174 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

PHILPOT, N.W.; NICKERSON, S.C. **Vencendo a luta contra a mastite.** Piracicaba: Westfalia Surge/Westfalia Landtechnik do Brasil, 2002. 188 p.

PICININ, L.C. **A Qualidade do leite e da água de algumas propriedades leiteiras de Minas Gerais:** 2003. 83f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.

PIRISI, A.; PIREDDA, G.; CORONA, M.; PES, M.; PINTUS, S.; LEDDA, A. **Influence of somatic cell count on ewe's milk composition, cheese yield and cheese quality.** Disponível em:<[http://www.ansci.wisc.edu/ExtensionNewcopy/sheep/Publications\\_and\\_Proceedings/Pdf/Dairy/Influenceofsomaticcellconewesmilkcomposition.pdf](http://www.ansci.wisc.edu/ExtensionNewcopy/sheep/Publications_and_Proceedings/Pdf/Dairy/Influenceofsomaticcellconewesmilkcomposition.pdf)> Acesso em: 23/04/2012

POLITIS, I.; NG-KWAI-HANG, K.F. Effects of somatic cell counts and Milk composition on cheese composition and cheesemaking efficiency. **Journal of Dairy Science**, v.71, n.7, p.1711-1719, 1988.

PRATA, L.F. **Fundamentos de Ciência do Leite.** Jaboticabal: UNESP, 2001. 287p.

RAJEČEVIČ, M.; POTOČNIK, K.; LEVSTEK, J. Correlations between somatic cells count and milk composition with regard to the season. **Agriculturae Conspectus Scientificus**, v.68, n.3, p.221-226, 2003.

RECIO, I.; GARCÍA-RISCO, M.R.; RAMOS, M.; LOPEZ-FANDIÑO, R. Characterization of peptides produced by the action of psychrotrophic proteinases on kappa-casein. **Journal of Dairy Research**, v.67, n.4, p.625-630, 2000.

REKSEN, O.; SØLVERØD, L.; ØSTERÄS, O. Relationships between milk culture results and milk yield in Norwegian dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.10, p.4670-4678, 2007.

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

ROMA JÚNIOR, L.C.; MONTOYA, J.F.G.; MARTINS, T.T.; CASSOLI, L.D.; MACHADO, P.F. Sazonalidade do teor de proteína e outros componentes do leite e sua relação com programa de pagamento por qualidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, n. 6, p. 1411-1418, dez. 2009.

SANTANA, E.H.V.; BELOTI, V.; BARROS, M.A.F. Microrganismos psicotróficos em leite. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.15, n.88, p.27-33, 2001.

SANTINI, G.A.; PEDRA, D.F.B.M.; PIGATTO, G. A. internacionalização do setor lácteo: a busca pela consolidação. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL (SOBER) 47º CONGRESSO, Porto Alegre: 2009, **Anais...** Porto Alegre, 19p., 2009.

SANTOS, M.V. O uso da CCS em diferentes países. In: **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento, 2006, v.1, p.181-197.

SANTOS, M. V. **Efeito da Mastite sobre a qualidade do leite e dos derivados lácteos – Parte 1**. Disponível em:<[http://www.milkpoint.com.br/efeito-da-mastite-sobre-a-qualidadedo-leite-e-dos-derivados-lacteos-parte-1\\_noticia\\_16229\\_61\\_180\\_aspx2002.](http://www.milkpoint.com.br/efeito-da-mastite-sobre-a-qualidadedo-leite-e-dos-derivados-lacteos-parte-1_noticia_16229_61_180_aspx2002.)> Acesso em 15 de março de 2012.

SANTOS, M.V.; MA, Y.; BARBANO, D.M. Effect of somatic cell count on proteolysis and lipolysis in pasteurized fluid milk during shelf-life storage. **Journal of Dairy Science.**, v.86, n.8, p.2491-2503, 2003a.

SANTOS, M.V.; MA, Y.; CAPLAN, Z.; BARBANO, D.M. Sensory threshold of off-flavors caused by proteolysis and lipolysis in milk. **Journal of Dairy Science.** v.86, n.5, p.1601-1607, 2003b.

SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F. **2º Curso on-line de qualidade do leite**. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br>> Acesso em:20/02/2011.

SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. **Estratégia para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. 2.ed. Barueri, SP: Manole, 2007. 314p.

SANTOS, M.V.; OLIVEIRA, C.A.F.; AUGUSTO, L.F.B.; AQUINO, A.A. Atividade lipolítica do leite com células somáticas ajustadas para diferentes níveis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.4, p.832-836, 2007.

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

SGARBIERI, V.C. Revisão: Propriedades Estruturais e Físico-Químicas das Proteínas do Leite. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.8, n.1, p.43-56, 2005.

SHAMAY, A.; SHAPIRO, F.; LEITNER, G.; SILANIKOVE, N. Infusions of casein hydrolyzates into the mammary gland disrupt tight junction integrity and induce involution in cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.4, p.1250-1258, 2003.

SHARIF, A.; MUHAMMAD, G. Mastitis control in dairy animals. **Pakistan Veterinary Journal**, v.29, n.3, p.145-148, 2009.

SILVA, N. Doença da glândula mamária: mamite/mastite. In: MARQUES, D. C. **Criação de bovinos**. 7 ed. Belo Horizonte: Consultoria Veterinária e Publicações, 2003.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos. São Paulo: Varela, 1997. 310p.

SILVA, L.F.P.; PEREIRA, A.R.; MACHADO, P.F.; SARRIÉS, G.A. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite II – lactose e sólidos totais. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, v.37, n.4, p.330-333, 2000.

SIQUEIRA, K.B.; CARNEIRO, A.V.; ALMEIDA, M.F.; SOUZA, R.C.N. O mercado lácteo brasileiro no contexto mundial. **Circular Técnica, 104**, Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2010, 12 p.

SOMMERHAUSER, J.; KLOPPERT, B.; WOLTER, W.; ZSCHOCK, M.; SOBIRAJ, A.; FAILING K. The epidemiology of Staphylococcus aureus infections from subclinical mastitis in dairy cows during a control programme. **Veterinary Microbiology**, v.96, n.1, p.91-102, 2003.

SORDILLO, L.M. Factor affecting mammary gland immunity and mastitis susceptibility. **Livestock Production Science**, v.98, n.1, p.89-99, 2005.

SORDILLO, L.M.; SHAFER-WEAVER, K.; DEROSA, D. Immunobiology of the mammary gland. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.8, p.1851-1865, 1997.

SORDILLO, L.M.; STREICHER, K.L. Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v.7, n.2, p.135-146, 2002.

SORIANO, C.; MICHEO, C.; MENDIEIRA, V.A.; TABERA, A.; STEFANO, A.; CASASNOVAS, G.; PURRÁN, P.; CORRADETTI, A.; CARABAJAL, S. Evaluación de la calidad de leche de tanque de tambos de la Cuenca Mar y Sierras. **Veterinaria Argentina**, v. 18, n. 179, p. 654-667, 2001.

SOUTO, L. I. M.; SAKATA, S. T.; MINAGAWA, C. Y.; TELLES, E. O.; GARBUGLIO, M. A.; BENITES, N. R. Qualidade higiênico-sanitária do leite cru produzido em propriedades do estado de São Paulo, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.3, p.491-499, 2009.

SOUZA, G.N.; BRITO, J.R.F.; MOREIRA, E.C.; BRITO, M.A.V.P.; SILVA, M.V.G.B. Variação da contagem de células somáticas em vacas leiteiras de acordo com patógenos da mastite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.5, p.1015-1020, 2009.

STEFFERT, I.J. Compositional changes in cow's milk associated with health problem. In: MILK FLAVOUR FORUM: SUMMARY OF PROCEEDINGS, 1993, New Zealand. **Proceedings...** New Zealand: New Zealand Dairy Research Institute, 1993. p.119-125.

TEBALDI, V.M.R.T.; OLIVEIRA, T.L.C.; BOARI, C.A.; PICCOLI, R.H. Isolamento de coliformes, estafilococos e enterococos de leite cru provenientes de tanques de refrigeração comunitários: identificação, ação lipolítica e proteolítica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.3, p.753-760, 2008.

TORKAR, K.G.; TEGER, S.G. The microbiological quality of raw milk after introducing the two day's milk collecting system. **Acta Agriculturae Slovenica**, v.92, n.1, p.61-74, 2008.

TRONCO, V.M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 3ed. Santa Maria: UFSM, 2008. 206p.

VACLAVIK, V.A.; CHRISTIAN, E.W. **Essentials of Food Science**. 3 ed. Springer, 2007. 572p.

VALSECHI, O.A. **O leite e seus derivados**. Araras, 2001. 36p. Departamento de tecnologia agroindustrial e socioeconomia rural da Universidade Federal de São Carlos.

VARNAM, A.H.; SUTHERLAND, J.P. **Leche y productos lácteos: Tecnología, química y microbiología**. Espanha: Editorial Acribia, 1994. 746p.

VASCONCELOS, C.G.C. et al. Influência da estação do ano, do estágio de lactação e da hora da ordenha sobre o número de células somáticas do leite bovino. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.49, n.4. p.483-491, 1997.

VIANNI, M.C.E.E.; LÁZARO, N.S. Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos em amostras de cocos Gram-positivos, catalase negativos, isolados de mastite subclínica bubalina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.23, n.2, p.47-51, 2003.

VIDAL-MARTINS, A. A.; ROSSI JÚNIOR, O. D.; REZENDE-LAGO, N. C. Microrganismos heterotróficos mesófilos e bactérias do grupo *Bacillus cereus* em leite integral submetido a ultra alta temperatura. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 57, n. 3, p. 396-400, 2005.

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

WALSTRA, P.; JENNES, R. **Química y física lactológica**. Zaragoza: Acribia, 1984. 423p.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J.T.M.; GEURTS, T.J. **Dairy Science and Technology**, 2 ed., Flórida (EUA): Boca Raton, 2006, 781p.

WINCK, C.A.; THALER NETO, A. Diagnóstico da adequação de propriedades leiteiras em Santa Catarina às normas brasileiras de qualidade do leite. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.8, n.2, p.164-172, 2009.



## **ANEXO A**

# INSTRUÇÕES PARA SUBMISSÃO DE TRABALHOS NA REVISTA SEMINA: CIÊNCIAS AGRÁRIAS

## Diretrizes para Autores

Taxa de Submissão de novos artigos: R\$ 50,00

A Taxa de Publicação (trabalhos aprovados) será de acordo com o número de páginas do manuscrito:

Até 9 páginas: R\$ 150,00

De 10 a 15 páginas: R\$ 200,00

De 15 a 19 páginas: R\$ 250,00

De 20 a 25 páginas: R\$ 300,00

O comprovante de depósito deverá ser digitalizado e anexado no sistema como documento suplementar

## Depósito em nome do ITEDES

Banco do Brasil (001)

Agência: 1212-2

Conta corrente: 43509-0

Caixa Econômica Federal (104)

Agência: 3076

Conta corrente: 0033-4

Itaú (341)

Agência: 3893

Conta corrente: 29567-9

## Normas editoriais para publicação na Semina: Ciências Agrárias, UEL.

Os artigos submetidos em inglês terão prioridade de publicação. O texto em inglês dos artigos aceitos para publicação deverá ser submetido à correção do American Journal Experts. O autor principal deverá anexar no sistema documento comprobatório dessa correção.

## Categorias dos Trabalhos

a) Artigos científicos: no máximo 20 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas;

b) Comunicações científicas: no máximo 12 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 16 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;

b) Relatos de casos: No máximo 10 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 12 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;

c) Artigos de revisão: no máximo 25 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas.

## Apresentação dos Trabalhos

Os originais completos dos artigos, comunicações, relatos de casos e revisões podem ser escritos em português, inglês ou espanhol, no editor de texto Word for Windows, com espaçamento 1,5, em papel A4, fonte Times New Roman, tamanho 11 normal, com margens esquerda e direita de 2 cm e superior e inferior de 2 cm, respeitando-se o número de páginas, devidamente numeradas, de acordo com a categoria do trabalho. Figuras (desenhos, gráficos e fotografias) e Tabelas serão numeradas em algarismos arábicos e devem estar separadas no final do trabalho.

As figuras e tabelas deverão ser apresentadas nas larguras de 8 ou 16 cm com altura máxima de 22 cm, lembrando que se houver a necessidade de dimensões maiores, no processo de editoração haverá redução para as referidas dimensões. As legendas das figuras deverão ser colocadas em folha separada obedecendo à ordem numérica de citação no texto. Fotografias devem ser identificadas no verso e desenhos e gráfico na parte frontal inferior pelos seus respectivos números do texto e nome do primeiro autor. Quando necessário deve ser indicado qual é a parte superior da figura para o seu correto posicionamento no texto.

## Preparação dos manuscritos

### Artigo científico:

Deve relatar resultados de pesquisa original das áreas afins, com a seguinte organização dos tópicos: Título; Título em inglês; Resumo com Palavras-chave (no máximo seis palavras); Abstract com Key words (no máximo seis palavras); Introdução; Material e Métodos; Resultados e Discussão com as conclusões no final ou Resultados, Discussão e Conclusões separadamente; Agradecimentos; Fornecedores, quando houver e Referências Bibliográficas. Os tópicos devem ser escritos em letras

maiúsculas e minúsculas e destacados em negrito, sem numeração. Quando houver a necessidade de subitens dentro dos tópicos, os mesmos devem receber números arábicos. O trabalho submetido não pode ter sido publicado em outra revista com o mesmo conteúdo, exceto na forma de resumo de congresso, nota prévia ou formato reduzido.

### A apresentação do trabalho deve obedecer à seguinte ordem:

1. Título do trabalho, acompanhado de sua tradução para o inglês.

2. Resumo e Palavras-chave: Deve ser incluído um resumo informativo com um mínimo de 150 e um máximo de 300 palavras, na mesma língua que o artigo foi escrito, acompanhado de sua tradução para o inglês (Abstract e Key words).

3. Introdução: Deverá ser concisa e conter revisão estritamente necessária à introdução do tema e suporte para a metodologia e discussão.

4. Material e Métodos: Poderá ser apresentado de forma descritiva contínua ou com subitens, de forma a permitir ao leitor a compreensão e reprodução da metodologia citada com auxílio ou não de citações bibliográficas.

5. Resultados e discussão com conclusões ou Resultados, Discussão e Conclusões: De acordo com o formato escolhido, estas partes devem ser apresentadas de forma clara, com auxílio de tabelas, gráficos e figuras, de modo a não deixar dúvidas ao leitor, quanto à autenticidade dos resultados, pontos de vistas discutidos e conclusões sugeridas.

6. Agradecimentos: As pessoas, instituições e empresas que contribuíram na realização do trabalho deverão ser mencionadas no final do texto, antes do item Referências Bibliográficas.

### Observações:

Quando for o caso, antes das referências, deve ser informado que o artigo foi aprovado pela comissão de bioética e foi realizado de acordo com as normas técnicas de biossegurança e ética.

**Notas:** Notas referentes ao corpo do artigo devem ser indicadas com um símbolo sobrescrito, imediatamente depois da frase a que diz respeito, como notas de rodapé no final da página.

**Figuras:** Quando indispensáveis figuras poderão ser aceitas e deverão ser assinaladas no texto pelo seu número de ordem em algarismos arábicos. Se as ilustrações enviadas já foram publicadas, mencionar a fonte e a permissão para reprodução.

**Tabelas:** As tabelas deverão ser acompanhadas de cabeçalho que permita compreender o significado dos dados reunidos, sem necessidade de referência ao texto.

Grandezas, unidades e símbolos: Deverá obedecer às normas nacionais correspondentes (ABNT).

7. Citações dos autores no texto: Deverá seguir o sistema de chamada alfabética seguidas do ano de publicação de acordo com os seguintes exemplos:

a) Os resultados de Dubey (2001) confirmam que .....

b) De acordo com Santos et al. (1999), o efeito do nitrogênio.....

c) Beloti et al. (1999b) avaliaram a qualidade microbiológica.....

d) [...] e inibir o teste de formação de sincício (BRUCK et. al., 1992).

e) [...]comprometendo a qualidade de seus derivados (AFONSO; VIANNI, 1995).

Citações com três autores

Dentro do parêntese, separar por ponto e vírgula.

Ex: (RUSSO; FELIX; SOUZA, 2000).

Incluído na sentença, utilizar vírgula para os dois primeiros autores e (e) para separar o segundo do terceiro.

Ex: Russo, Felix e Souza (2000), apresentam estudo sobre o tema....

Citações com mais de três autores

Indicar o primeiro autor seguido da expressão et al.

Observação: Todos os autores devem ser citados nas Referências Bibliográficas.

8. Referências Bibliográficas: As referências bibliográficas, redigidas segundo a norma NBR 6023, ago. 2000, da ABNT, deverão ser listadas na ordem alfabética no final do artigo. Todos os autores participantes dos trabalhos deverão ser relacionados,

independentemente do número de participantes (única exceção à norma – item 8.1.1.2). A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo, bem como opiniões, conceitos e afirmações são da inteira responsabilidade dos autores.

As outras categorias de trabalhos (Comunicação científica, Relato de caso e Revisão) deverão seguir as mesmas normas acima citadas, porém, com as seguintes orientações adicionais para cada caso:

#### **Comunicação científica**

Uma forma concisa, mas com descrição completa de uma pesquisa pontual ou em andamento (nota prévia), com documentação bibliográfica e metodologia completas, como um artigo científico regular. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key words; Corpo do trabalho sem divisão de tópicos, porém seguindo a seqüência – introdução, metodologia, resultados (podem ser incluídas tabelas e figuras), discussão, conclusão e referências bibliográficas.

#### **Relato de caso**

Descrição sucinta de casos clínicos e patológicos, achados inéditos, descrição de novas espécies e estudos de ocorrência ou incidência de pragas, microrganismos ou parasitas de interesse agrônomo, zootécnico ou veterinário. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key-words; Introdução com revisão da literatura; Relato do (s) caso (s), incluindo resultados, discussão e conclusão; Referências Bibliográficas.

#### **Artigo de revisão bibliográfica**

Deve envolver temas relevantes dentro do escopo da revista. O número de artigos de revisão por fascículo é limitado e os colaboradores poderão ser convidados a apresentar artigos de interesse da revista. No caso de envio espontâneo do autor (es), é necessária a inclusão de resultados relevantes próprios ou do grupo envolvido no artigo, com referências bibliográficas, demonstrando experiência e conhecimento sobre o tema.

O artigo de revisão deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key-words; Desenvolvimento do tema proposto (com subdivisões em tópicos ou não); Conclusões ou Considerações Finais; Agradecimentos (se for o caso) e Referências Bibliográficas.

#### **Outras informações importantes**

1. A publicação dos trabalhos depende de pareceres favoráveis da assessoria científica "Ad hoc" e da aprovação do Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias, UEL.
2. Não serão fornecidas separatas aos autores, uma vez que os fascículos estarão disponíveis no endereço eletrônico da revista (<http://www.uel.br/revistas/uel>).
3. Os trabalhos não aprovados para publicação serão devolvidos ao autor.
4. Transferência de direitos autorais: Os autores concordam com a transferência dos direitos de publicação do referido artigo para a revista. A reprodução de artigos somente é permitida com a citação da fonte e é proibido o uso comercial das informações.
5. As questões e problemas não previstos na presente norma serão dirimidos pelo Comitê Editorial da área para a qual foi submetido o artigo para publicação.
6. Informações devem ser dirigidas a:  
Universidade Estadual de Londrina  
ou Universidade Estadual de Londrina  
Centro de Ciências Agrárias  
Coordenadoria de Pesquisa e Pós-graduação

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva  
Conselho Editorial das revistas Semina  
Comitê Editorial da Semina Ciências Agrárias  
Campus Universitário - Caixa Postal 600186051-990  
Campus Universitário - Caixa Postal 600186051-990  
Londrina, Paraná, Brasil.

Londrina, Paraná, Brasil.

Informações: Fone: 0xx43 33714709

Fax: 0xx43 33714714

Emails: vidotto@uel.br; csvjneve@uel.br

Informações: Fone: 0xx43 33714105

Fax: Fone 0xx43 3328 4320

Emails: eglema@uel.br;

#### **Condições para submissão**

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao Editor".

2. Devem ser preenchidos dados de autoria de todos os autores no processo de submissão.

Utilize o botão "incluir autor"

3. No passo seguinte preencher os metadados em inglês.

Para incluí-los, após salvar os dados de submissão em português, clicar em "editar metadados" no topo da página - alterar o idioma para o inglês e inserir: título em ingles, abstract e key words. Salvar e ir para o passo seguinte.

4. A identificação de autoria do trabalho foi removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em Assegurando a Avaliação Cega por Pares.

5. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapassem 2MB)

6. O texto está em espaço 1,5; fonte Time New roman de tamanho 11; emprega itálico em vez de sublinhado (exceto em endereços URL);

O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em Diretrizes para Autores, na seção Sobre a Revista.

7. URLs para as referências foram informadas quando necessário.

8. Taxa de Submissão de novos artigos

#### **Declaração de Direito Autoral**

Os Direitos Autorais para artigos publicados nesta revista são de direito do autor. Em virtude da aparecerem nesta revista de acesso público, os artigos são de uso gratuito, com atribuições próprias, em aplicações educacionais e não-comerciais.

A revista se reserva o direito de efetuar, nos originais, alterações de ordem normativa, ortográfica e gramatical, com vistas a manter o padrão culto da língua e a credibilidade do veículo. Respeitará, no entanto, o estilo de escrever dos autores.

Alterações, correções ou sugestões de ordem conceitual serão encaminhadas aos autores, quando necessário. Nesses casos, os artigos, depois de adequados, deverão ser submetidos a nova apreciação.

As opiniões emitidas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade.

#### **Política de Privacidade**

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceira