

ANÁLISE DA EFICIÊNCIA E MONITORAMENTO DO PROCESSO DE PASTEURIZAÇÃO DO LEITE EM INDÚSTRIA DE LATICÍNIOS NA REGIÃO DE RONDÔNIA

ANALYSIS OF THE EFFICIENCY AND MONITORING OF THE MILK PASTEURIZATION PROCESS IN THE BEEKEEPING INDUSTRY IN THE RONDÔNIA REGION

Gleicy Gomes Lopes^{1*}, Tiago Barcelos Valiatti², Natália Faria Romão³, Renan Fava Marson⁴, Fabiana De Oliveira Solla Sobral⁵.

1. Biomédica graduada pelo Centro Universitário Luterano de Ji – Paraná.
2. Farmacêutico graduado pelo Centro Universitário Luterano de Ji – Paraná.
3. Doutoranda em Biotecnologia e Biodiversidade da Amazônia Legal pela Rede Bionorte.
4. Docente do Centro Universitário Luterano de Ji - Paraná

* Autor correspondente: e-mail: gleh_gl@hotmail.com

Recebido: 28/01/2018; Aceito: 07/08/2018

RESUMO

A produção leiteira no Brasil é comumente praticada em todas as regiões. Há nível mundial o Brasil se configura como o quinto maior produtor, no entanto, em termos de qualidade existe certa deficiência, que na maioria das vezes está relacionado a alta carga microbiana. A pasteurização é um dos métodos utilizados para diminuição e/ou erradicação da microbiota do leite. Para tanto, o presente estudo teve como objetivo realizar um monitoramento de pasteurização em uma indústria de laticínios situada no município de Ji-paraná – RO. Foram coletadas 12 amostras de leite cru, 12 de leite pasteurizado e 12 provenientes do pasteurizador em funcionamento. Todas as amostras foram submetidas às análises microbiológicas e análises físico-químicas. Também se realizou vista a carta gráfica de tempo/temperatura de pasteurização. Os resultados encontrados demonstraram que 75% das amostras do leite cru estavam com contagem de mesófilos acima do permitido pela legislação, sendo que para os microrganismos psicotróficos esse índice foi de 58,33%. Com relação ao leite pasteurizado constatou-se que 33,33% das amostras estavam com contagens de mesófilos superiores ao recomendado, enquanto que para os outros microrganismos analisados os valores encontrados estavam de acordo com a legislação, bem como as análises físico-químicas. O leite

proveniente do pasteurizador em funcionamento apresentaram resultados satisfatórios em todas as análises realizadas. Conclui-se que os métodos de análises foram efetivos para verificação da qualidade do procedimento de pasteurização realizado pelo laticínio.

Palavras-chave: Pasteurização, Leite, Qualidade.

ABSTRACT

Dairy production in Brazil is commonly practiced in all regions. At the world level Brazil is the fifth largest producer, however, in terms of quality there is a certain deficiency, which in most cases is related to high microbial load. Pasteurization is one of the methods used to decrease and / or eradicate the milk microbiota. For this purpose, the present study aimed to carry out a pasteurization monitoring in a dairy industry located in the municipality of Ji-paraná - RO. Twelve samples of raw milk, 12 of pasteurized milk and 12 of the pasteurizer in operation were collected. All samples were submitted to microbiological analysis and physico-chemical analysis. The graphical time / temperature pasteurisation chart was also visualized. The results showed that 75% of the raw milk samples had a mesophilic count higher than allowed by the legislation, and that for microorganisms psychotrophic the index was 58.33%. With regard to pasteurized milk, it was found that 33.33% of the samples had mesophil counts higher than the recommended ones, while for the other microorganisms analyzed the values found were in accordance with the legislation, as well as the physicochemical analyzes. The milk from the pasteurizer in operation presented satisfactory results in all analyzes. It is concluded that the methods of analysis were effective to verify the quality of the pasteurization procedure performed by the dairy.

Keywords: Pasteurization, Milk, Quality

1. INTRODUÇÃO

O Brasil se configura entre os principais produtores de leite do mundo, possuindo regiões onde se obtém excelência na qualidade desse produto, no entanto ainda existem localidades que não apresentam qualidade satisfatória [1,2].

O principal fator que contribui para que o Brasil não se apresente como forte competidor no ramo leiteiro do ponto de vista

internacional, são as altas contagens de microrganismos encontrados na matéria prima, que irão influenciar na sua qualidade final, bem como, na de seus derivados [3].

O fato de o leite apresentar diversos nutrientes em sua composição faz com que este seja considerado um excelente meio para o desenvolvimento de microrganismos, sendo, portanto, fundamental a verificação de sua qualidade microbiológica, que também serve para avaliar o desempenho das estratégias de

gestão baseadas em Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) [4, 5, 6].

Configuram-se entre os principais microrganismos prejudiciais a qualidade do leite, os mesófilos, psicotróficos e coliformes, onde, na maioria das vezes são oriundos do local da ordenha, do ambiente ou dos utensílios utilizados, além de também poderem ter como origem os próprios animais [7, 8, 9].

O controle da matéria prima durante o processamento do leite é um importante procedimento realizado na rotina dos laticínios, que dentre as diversas etapas fundamentais para concretização desse controle está à pasteurização, que de acordo com a legislação, consiste em submeter o leite a uma temperatura de 72° a 75° C durante 15 a 20 segundos, seguido de um resfriamento imediato, até atingir temperatura igual ou inferior a 4°C [10, 11].

O presente estudo tem como objetivo realizar o monitoramento de pasteurização em uma indústria de laticínios situada no município de Ji-paraná - RO através de resultados microbiológicos, físico-químicos e vistas à carta gráfica de tempo/temperatura de pasteurização.

2. METODOLOGIA

A indústria envolvida na pesquisa funciona sob regime de Inspeção Federal

(SIF), sendo responsável pelo recebimento de aproximadamente 450 mil litros de leite por dia, procedentes do próprio município e também localidades vizinhas.

Para elaboração do presente estudo foram coletados em dias alternados amostras provenientes dos silos de estocagem da empresa e do pasteurizador em funcionamento. A cada coleta três pontos principais eram escolhidos sendo estes, o silo com estocagem do leite ainda cru, o pasteurizador em funcionamento e o silo ao qual recebia o leite recém pasteurizado.

Todas as amostras foram coletadas em frascos estéreis de 25 ml totalizando 12 amostras de leite cru, 12 amostras de recém pasteurizado e 12 amostras do pasteurizador do leite. Após a coleta as amostras foram identificadas e transportadas até o laboratório, onde os frascos foram abertos assepticamente para possíveis diluições decimais das amostras, utilizando água peptonada 0,1% como diluente.

A partir das diluições obtidas as amostras foram submetidas de forma intermitente às seguintes análises microbiológicas: contagem de aeróbios mesófilos (AM), número mais provável (NMP) de coliformes totais (CT) e coliformes termotolerantes (CTT), enumeração de bactérias aeróbias psicotróficas (UFC/ml) e contagem de *Staphylococcus* coagulase-positiva e negativa. Análises foram realizadas

de acordo com as técnicas preconizadas por BRASIL [12].

Para a contagem total de bactérias aeróbias mesófilas, foram pipetadas, em Placas de Petri (100x20 mm) esterilizadas, alíquotas de 1mL das diluições das amostras, através da técnica de profundidade, empregando-se a cada placa 15 a 20 mL do meio “plate count agar” (PCA), e após solidificação em superfície plana foram incubadas a 36°C por 48 horas. Selecionaram-se as placas contendo entre 25 a 250 colônias, multiplicando-se o valor obtido pelo fator de diluição correspondente, e expressando o resultado em Unidade Formadora de Colônia (UFC) /ml.

Na contagem total de microrganismos aeróbios psicotróficos realizou a semeadura de 0,1 ml em superfície do ágar PCA das diluições 10^{-3} e 10^{-4} para as amostras de leite cru. As amostras de leite pasteurizado e do pasteurizador foram inoculadas pela diluição 10^{-2} utilizando a técnica de profundidade. Todas as placas foram incubadas em temperatura por volta de 7 a 10°C durante 7 dias.

A contagem de estafilococos coagulase positiva foi realizada através da semeadura de 0,1 ml da amostra em superfície de placas de petri contendo Agar Baird-Parker (BP). As placas inoculadas foram incubadas à 35 °C por 45 - 48 h, e após, foi realizada a contagem das colônias típicas de estafilococos

coagulase positiva sendo estas submetidas a provas bioquímicas de confirmação.

Para análise de coliformes inicialmente baseou-se na inoculação das diluições desejadas das amostras em ágar cristal violeta vermelho neutro bile (VRBA) e posterior contagem das colônias suspeitas. Para isso, foram adicionados \pm 15ml de ágar VRBA, previamente fundido e mantido a 45°C com cuidadosa homogeneização, posteriormente foi inoculado 1 mL da amostra. Logo após a solidificação, adicionou uma segunda camada menos espessa de aproximadamente 4mL do ágar VRBA previamente fundido e mantido a 44-47°C formando uma segunda camada. As placas foram incubadas invertidas a 35°C, por 24 a 48 horas.

A realização da prova confirmativa da presença de coliformes totais foi realizada por meio da inoculação das colônias suspeitas em tubos contendo caldo verde brilhante bile 2% lactose e um tubo de durhan e incubadas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$. A confirmação da presença de coliformes termotolerantes foi realizada por meio da inoculação das colônias suspeitas em caldo EC com tubo de durhan e incubados á $45 \pm 0,2^\circ\text{C}$, em banho-maria sob agitação. Os tubos positivos para coliformes totais e termotolerantes apresentaram gás no interior do tubo de Durhan.

As análises físico-químicas de fosfatase alcalina, foram seguidas as técnicas preconizadas por BRASIL [13]. A eficiência

na pasteurização foi assegurada por pesquisas que permitiram verificar a atividade enzimática das enzimas fosfatase alcalina em todas as amostras de leite tratadas pelo calor. Para isso, foi utilizado um “Kit” comercial para fosfatase (Biodiagnóstica Indústria Química LTDA).

Para verificar se o leite foi submetido à temperatura adequada de pasteurização foram realizadas vistas a cartas gráficas situadas nos pasteurizadores para possível avaliação do binômio tempo/temperatura do mesmo. Para certificar a eficiência da pasteurização, foram realizadas pesquisas das enzimas fosfatase alcalina e peroxidase em todas as amostras de leite tratadas pelo calor.

3. RESULTADOS e DISCUSSÃO

Levando em consideração o limite estabelecido pela Instrução Normativa 62 de 2011 [14] que é de $6,0 \times 10^5$ UFC/ml para Contagem Padrão em Placas (CPP) é possível verificar na Tabela 1 que das 12 amostras analisadas, 75% apresentaram-se com índices acima do permitido para mesófilos e 58,33% para microrganismos psicotróficos, sendo que do total de amostras 41,66% das amostras estavam com limites acima do permitido tanto para mesófilos quanto para psicotróficos.

Tabela 1. Resultados das análises microbiológicas (UFC/g) realizadas nas amostras de leite cru.

AMOSTRAS	Mesófilos	Psicotróficos
01	$3,0 \times 10^5$	$*6,0 \times 10^6$
02**	$*1,2 \times 10^6$	$*6,0 \times 10^6$
03**	$*1,8 \times 10^6$	$*6,0 \times 10^6$
04**	$*1,3 \times 10^6$	$*3,0 \times 10^6$
05	$*2,7 \times 10^6$	$1,9 \times 10^5$
06	$1,0 \times 10^4$	$*4,0 \times 10^6$
07	$2,6 \times 10^5$	$6,0 \times 10^5$
08	$*7,0 \times 10^5$	$6,0 \times 10^5$
09	$*2,7 \times 10^6$	$2,0 \times 10^5$
10	$*1,0 \times 10^6$	$2,3 \times 10^5$
11**	$*7,0 \times 10^5$	$*6,0 \times 10^6$
12**	$*1,2 \times 10^6$	$*4,0 \times 10^6$

*Contagem acima do permitido pela IN 62

**Contagem acima do permitido para os dois microrganismos analisados

Na tabela 2 é possível encontrar os resultados obtidos nas análises das amostras

coletadas no silo de armazenamento do leite pasteurizador.

Tabela 2. Resultado das análises microbiológicas realizadas nas amostras de leite pasteurizado.

AMOSTRAS	Mesófilos UFC/g	Psicotróficos UFC/g	Coliformes Totais NMP	Coliformes Termotolerantes NMP	<i>Estafilococos</i> Coagulase positiva UFC/g
01	1,7x10 ³	*<1,0x10 ²	*<0,3	*<0,3	Negativo
02	**2,8x10 ⁵	*<1,0x10 ²	*<0,3	*<0,3	Negativo
03	1,2x10 ³	*<1,0x10 ²	*<0,3	*<0,3	Negativo
04	**6,3x10 ⁴	*<1,0x10 ²	*<0,3	*<0,3	Negativo
05	7,0x10 ³	*<1,0x10 ²	*<0,3	*<0,3	Negativo
06	1,6x10 ³	*<1,0x10 ²	*<0,3	*<0,3	Negativo
07	2,9x10 ⁴	*<1,0x10 ²	*<0,3	*<0,3	Negativo
08	1,4x10 ³	5,0x10 ²	*<0,3	*<0,3	Negativo
09	1,0x10 ²	*<1,0x10 ²	*<0,3	*<0,3	Negativo
10	**2,8x10 ⁵	*<1,0x10 ²	*<0,3	*<0,3	Negativo
11	**2,6x10 ⁵	*<1,0x10 ²	*<0,3	*<0,3	Negativo
12	1,4x10 ⁴	*<1,0x10 ²	*<0,3	*<0,3	Negativo

* Não houve crescimento de colônias na menor diluição utilizada.

** Amostras em desacordo com a IN 62.

De acordo com a IN 62 o limite para Contagem Padrão em Placas para o leite pasteurizado é de 4,0x10⁴ UFC/ml, portando ao utilizar esse valor como referência é possível constatar que do total de amostras analisadas, 33,33% estão com presença de mesófilos acima do permitido. Com relação

aos outros microrganismos analisados verificou-se resultados satisfatórios [14].

Já a Tabela 3 evidencia os resultados das análises físico-químicas, onde-se demonstra que todas os parâmetros analisados estavam de acordo com a legislação.

Tabela 3. Resultado das análises físico-químicas realizadas nas amostras de leite pasteurizado

Amostras	Fosfatase	Peroxidase	Acidez	Ph
1	Negativo	Positivo	0,15	6,74
2	Negativo	Positivo	0,15	6,76
3	Negativo	Positivo	0,15	6,75
4	Negativo	Positivo	0,15	6,69
5	Negativo	Positivo	0,15	6,75
6	Negativo	Positivo	0,15	6,73
7	Negativo	Positivo	0,15	6,72
8	Negativo	Positivo	0,15	6,76
9	Negativo	Positivo	0,15	6,76
10	Negativo	Positivo	0,15	6,74
11	Negativo	Positivo	0,15	6,72
12	Negativo	Positivo	0,15	6,72

Tabela 4. Resultados das análises microbiológicas das amostras coletadas durante o processo de pasteurização.

AMOSTRAS	Mesófilos UFC/g	Psicotróficos UFC/g	Coliformes Totais NMP	Coliformes Termotolerantes NMP	<i>Estafilococos</i> Coagulase positiva UFC/g
01	* $<1,0 \times 10^2$	* $<1,0 \times 10^2$	* $<0,3$	* $<0,3$	Negativo
02	-	-	-	-	Negativo
03	$5,2 \times 10^3$	* $<1,0 \times 10^2$	* $<0,3$	* $<0,3$	Negativo
04	$9,0 \times 10^2$	* $<1,0 \times 10^2$	* $<0,3$	* $<0,3$	Negativo
05	$1,7 \times 10^3$	* $<1,0 \times 10^2$	* $<0,3$	* $<0,3$	Negativo
06	$8,0 \times 10^2$	* $1,0 \times 10^2$	* $<0,3$	* $<0,3$	Negativo
07	$2,0 \times 10^2$	* $<1,0 \times 10^2$	* $<0,3$	* $<0,3$	Negativo
08	$4,0 \times 10^2$	* $<1,0 \times 10^2$	* $<0,3$	* $<0,3$	Negativo
09	$4,0 \times 10^2$	* $<1,0 \times 10^2$	* $<0,3$	* $<0,3$	Negativo
10	$7,0 \times 10^3$	* $<1,0 \times 10^2$	* $<0,3$	* $<0,3$	Negativo
11	$4,0 \times 10^2$	* $<1,0 \times 10^2$	* $<0,3$	* $<0,3$	Negativo
12	$1,8 \times 10^3$	* $<1,0 \times 10^2$	* $<0,3$	* $<0,3$	Negativo

-Análise não realizada

* Não houve crescimento de colônias na menor diluição utilizada.

Conforme exposto na Tabela 4 os resultados obtidos nas análises das amostras coletadas no pasteurizador durante seu funcionamento, mostra que 100% das amostras se encontram dentro do permitido,

levando-se em consideração os valores aceitos para leite pasteurizados [14].

Ao analisar a Tabela 5 verifica-se que a temperatura do pasteurizador no momento da coleta estava dentro do exigido pela legislação [14].

Tabela 6. Resultado das análises físico-químicas realizadas nas amostras de leite pasteurizado.

Amostras	Temperatura	Acidez	pH
01	74.5°C	0,15	6,69
02	74.5°C	**	**
03	74.6°C	0,15	6,75
04	74.4°C	0,15	6,69
05	74.5°C	0,15	6,71
06	74.5°C	0,15	6,72
07	74.5°C	0,15	6,73
08	74.6°C	0,15	6,69
09	74.6°C	0,15	6,70
10	74.5°C	0,15	6,72
11	74.5°C	0,15	6,73
12	74.5°C	0,15	6,73

No presente estudo verificou-se a presença de microrganismos mesófilos nos três grupos de leite analisados. A análise de microrganismos mesófilos é utilizada como um parâmetro capaz de determinar a qualidade do leite, pois esse grupo compreende bactérias com a capacidade de provocar alterações na matéria prima. Sua presença no leite está diretamente ligada às falhas de higiene durante a ordenha, bem

como problemas na refrigeração, transporte e armazenamento [8].

Estudos comparando a presença de microrganismos psicotróficos em leite cru refrigerado, provenientes de tanques individuais e comunitários, demonstram que os tanques comunitários apresentam uma maior contaminação por psicotróficos [15, 16].

As baixas condições de higiene durante a ordenha, falhas no manejo, água contaminada usada na lavagem dos materiais

utilizados, são fatores que contribui para uma alta presença de psicotróficos [17]. Destaca-se que em tanques comunitários existe um somatório dessas falhas proveniente de diversas propriedades, o que eleva o nível de contaminação, portanto as altas taxas destes microrganismos encontrados no presente estudo pode estar relacionadas a imensa variedade de leites de diferentes propriedades que se encontram armazenadas no silo do laticínio.

Elevadas taxas de bactérias psicotróficas presente no leite é preocupante, tendo em vista que por mais que a pasteurização as elimine, as mesmas possuem a capacidade de produzir enzimas lipolíticas e proteolíticas termorressistentes, ou seja conseguem manter suas atividades mesmo após o processo da pasteurização, ou até mesmo ao processo de Ultra-Alta Temperatura (UHT) [18 – 21].

Para Martins et al. [22] e Pinto et al. [23] a presença de psicotróficos acima de 6 log UFC/mL, já torna o leite imprudente para sua utilização na indústria, já que a probabilidade de haver presença de enzimas hidrolíticas extracelulares são grandes.

Topçu e colaboradores [24] ressaltam o risco econômico que os psicotróficos podem apresentar, pois a proteólise oriunda das enzimas dessas bactérias são relacionadas a diversos cenários que geram prejuízos para indústria, como: gelificação do leite UHT, ampliação da taxa de sedimentação,

diminuição de até 20% no rendimento da produção de queijos, além de também poderem contribuir para diminuição do tempo de vida na prateleira.

Recomendações como ter um local limpo para ordenha, lavar os tetos com solução desinfetante antes e após a ordenha, manter as mãos limpas e lavar todos os utensílios e equipamento logo após o término da ordenha, são algumas das recomendação que contribuem para obtenção de um leite de qualidade [25].

Afim de reduzir as contaminações das propriedades rurais, recomenda-se o seguimento das Boas Práticas de Produção (BPP) [26]. Guido et al. [27] evidenciaram a importância das BPP ao desenvolverem um estudo com produtores do município de Barbosa Ferraz, PR, onde verificaram por meio das análises microbiológicas uma redução no nível de contaminação após a inserção do treinamento sobre boas práticas de produção. Entretanto esses mesmos autores destacam ser fundamental a prestação de uma assistência após o treinamento, tendo em vista que existe um período de adaptação, até que todas as recomendações sejam seguidas de forma certa e segura.

Quanto aos coliformes, observou-se que ambas as amostras analisadas estão em conformidade com a legislação, tal resultado pode ser justificado devido ao aquecimento do leite, visto que os Coliformes são destruídos quando submetidos á temperatura

de pasteurização, sendo que se constatados após esse processo pode se afirmar que houve uma contaminação pós-processamento.

Apesar da legislação não exigir análise de *Staphylococcus aureus*, realizou-se a mesma encontrando resultados negativos para todas as amostras, representando um importante dado já que esse microrganismo é frequentemente associado a surtos de Doenças Transmitidas por alimentos. Os humanos estão entre os responsáveis pela disseminação desse patógeno, já que o mesmo faz parte da microbiota, principalmente nas fossas nasais [28, 29].

Zecconi e Hahn [30] evidenciam que a contaminação do leite por *Staphylococcus aureus* podem estar ligadas as inflamação intramamárias (mastite) das vacas, já que frequentemente esse microrganismo é dado como causa dessa inflamação, sendo necessárias medidas que visam amenizar essa ocorrência, já que as mesmas representam grandes perdas econômicas, pois é considerada a doença que mais gera prejuízos no comércio do leite, porém também podem contribuir para a veiculação desse microrganismo, bem como de suas toxinas.

Observou-se resultado negativo para a enzima fosfatase em todas as amostras de leite pasteurizados, indicando portanto, que ambas atingiram o tempo e temperatura de pasteurização corretamente, já que a mesma é inibida perante o tratamento térmico no qual o leite é submetido [31].

Quanto aos resultados de pesquisa da enzima peroxidase no leite pasteurizado, observa-se a presença da mesma em 100%, sendo este, mais um indicador de que o leite teve um processo de pasteurização adequado, tendo em vista que quando aquecido por maior tempo sob uma maior temperatura à mesma tende a se degradar [32].

Uma constante presença de microrganismos seja eles deteriorantes ou patogênicos, podem gerar como consequência no leite uma acidificação, sendo esta provavelmente originada por meio da fermentação da lactose pelos microrganismos [33]. Portanto realizou-se a análise da acidez, onde constatou que as amostras de leite no pasteurizador e as pasteurizadas apresentaram resultados satisfatórios, estando de acordo com a legislação, que determina limite de 0,14 a 0,18 g de ácido láctico/100 mL [14].

Em relação á temperatura de pasteurização, observa-se que a mesma variou entre 74.4 e 74.6° C, estando dentro dos limites exigidos pela legislação, que é entre 72 e 75° C [14]. A realização da pasteurização no leite é fundamental, pois se espera eliminar os microrganismos presentes, por meio de uma alta temperatura, sendo este, imediatamente após receber o tratamento térmico, resfriado a uma temperatura igual ou inferior á 4° C, no entanto destaca-se que este processo não esteriliza o leite, visto que alguns microrganismos são termorrestitentes a pasteurização [34].

4. CONCLUSÃO

Conclui-se que o procedimento utilizado como parâmetro para verificação da qualidade do leite foi efetiva, bem como a pasteurização realizada pelo laticínio avaliado no presente estudo.

5. REFERÊNCIAS

1. RIBAS, N. P.; HARTMANN, W.; MONARDES, H. G.; ANDRADE, U. V. C. Sólidos totais do leite em amostras de tanque nos estados do Paraná, Santa Catarina e São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 2343-2350, 2004.
2. SEAB – Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. Departamento de Economia Rural. **Análise da conjuntura agropecuária: Leite**, 2014.
3. VALLIN, V.M.; BELOTI, V.; BATTAGLINI, A.P.P.; TAMANINI, R.; ANGELA, H.L. da; SILVA, L. C.C da. Melhoria da qualidade do leite a partir da implantação de boas práticas de higiene na ordenha em 19 municípios da região central do Paraná. **Seminário Ciências Agrárias, Londrina (PR)**, v. 30, n. 1, p. 181- 188, 2009.
4. ZOCHE, F.; BERSOT, L.S.; BARCELLOS, V.C.; PARANHOS, J.K.; ROSA, S.T.M.; RAYMUNDO, N.K. Qualidade Microbiológica e Físico-Química do Leite Pasteurizado Produzido na Região Oeste do Paraná. **Archives of Veterinary Science**, v.7,n.2, p.59-67, 2002.
5. FONSECA, L. F. L.; CARVALHO, M. P. **Leite, política e derivados**. 1. ed. São Paulo: Comunicação & Conteúdo, 2004. p. 28.
6. JASSON, V.; JACXSENS, L.; LUNING, P.; RAJKOVIC, A.; UYTENDAELE, M. Alternative microbial methods: An overview and selection criteria. **Food Microbiology**, v.27, n.6, p.710-730, 2010
7. ARCURI, E.F.; BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F.; PINTO, S.M.; ANGELO, F.F.; SOUZA, G.N. Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazenda. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.3, p.440-446, 2006.
8. SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri: Manole, 2007.
9. TEBALDI, V.M.R.; OLIVEIRA, T.L.C.; BOARI, C.A.; PICCOLI, R.H. Isolamento de coliformes, estafilococos e enterococos de leite cru provenientes de tanques de refrigeração por expansão comunitários: identificação, ação lipolítica e proteolítica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.3, p.753-760, 2008
10. ATAÍDE, W. Souza de; MACIEL, J. F; LIMA, P. L. A. de, LIMA, A. R. C; SILVA, F. V. G. da; SILVA J. A. Avaliação microbiológica e físico-química durante o processamento do leite pasteurizado. **Rev Inst Adolfo Lutz**, 67(1): 73-77, 2008.
11. BRASIL. Ministério de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº51, de 18 de setembro de 2002**. Aprova os Regulamentos Técnicos de produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel.
12. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003**. Métodos Analíticos Oficiais para Análises

Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 set. 2003, seção 1, p. 14-51.

13. BRASIL, Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: II – Métodos físico e químicos.** Brasília-DF, 1981.

14. BRASIL. Ministério da Agricultura. **Instrução normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011.** Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Diário Oficial [da] União, Brasília, 29 dez. 2011.

15. STULOVA, I.; ADAMBERG, S.; KRISCIUNAITE, T.; KAMPURA, M.; BLANK, L.; LAHT, T. M. Microbiological quality of raw milk produced in Estonia. **Letters in Applied Microbiology**, v. 51, p. 683-690, 2010.

16. ARCURI, E.F.; SILVA, P.D.L.; BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F.; LANGER, C.C.; MAGALHÃES, M.M. Contagem, isolamento e caracterização de bactérias psicotróficas contaminantes de leite cru refrigerado. **Ciência Rural**, v. 38, n. 8, p. 2250- 2255, 2008.

17. SERRA, M. J. B. **Qualidade microbiana e físico-químico do leite cru produzido na região de Pardinho, SP.** Dissertação de Mestrado (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, 2004.

18. SAMARZIJA, D.; ZAMBERLIN, S.; POGACIC, T. **Psychrotrophic bacteria and milk and dairy products quality.** **Mljekarstvo**, v. 62, n. 2, p. 77-95, 2012.

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

20. VASBINDER, A. J.; ROLLEMA, H. S.; BOT A.; KRUIF C.G. Gelation mechanism of milk as influenced by pH and temperature, studied by the use of transglutaminase cross-linked casein micelles. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n.5, p.1556-1563, 2003.

21. WIKING, L.; FIRST, M. B.; LARSEN, L.B.; NIELSEN, J. H. Effects of storage conditions on lipolysis, proteolysis and sensory attributes in high quality raw milk. **Milchwissenschaft**, v. 57, n.4, p. 190-194, 2002.

22. 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.10, n.2, p.203-211, 2005.

23. PINTO, C.L.O.; MARTINS, M.L.; VANETTI, M.C.D. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicotróficas proteolíticas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.3, p.645-651, 2006.

24. TOPÇU, A.; NUMANOGLU, E.; SALDAMLI, I. Proteolysis and storage stability of UHT milk produced in Turkey. **International Dairy Journal, Barking, England**, v. 16, p. 633-638, 2006.

25. DÜRR, J.W. **Como produzir leite de alta qualidade.** Brasília: Senar, 2005. 28 p

26. MATSUBARA, M, T. et al. Boas práticas de ordenha para redução da contaminação microbiológica do leite no agreste Pernambucano. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 1, p. 277-286, 2011.

27. GUIDO, ES, SILVA, EDP, SILVA MC, TAKEUCHI KP, DANESI EDG. uma abordagem da extensão universitária na melhoria da qualidade do leite na cadeia produtiva do município de Barbosa Ferraz (Paraná). **B.CEPPA, Curitiba**, v. 28, n. 2, p. 303-312, 2010.

28. SILVA-JUNIOR, A.C.S.; DA SILVA, A.S.S.; BRITO, T.P.; FERREIRA, L.R. Ocorrência de *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes termotolerantes em Jaraqui, *Semaprochilodus brama* (Valenciennes, 1850) comercializado na Feira do Pescado, Macapá-AP. **Biota Amazônia**, v. 5, n.1, p. 32-36, 2015.

29. SENGER, A.E.V.; BIZANI, D. Pesquisa de *Staphylococcus aureus* em queijo minas frescal, produzido de forma artesanal e industrial, comercializado na cidade de Canoas/RS, Brasil. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 5, n.2, p. 25-42, 2011.

30. ZECCONI, A.; HAHN, G. *Staphylococcus aureus* in raw milk and human health risk. **Bulletin of IDF**, v. 345, p. 15-18, 2000.

31. TAMANINI, R; SILVA, L. C.C; MONTEIRO, A, A; MAGNANI, D. F; BARROS, M. de A. F; BELOT, V. Avaliação da qualidade microbiológica e dos parâmetros enzimáticos da pasteurização de leite tipo “C” produzido na região norte do Paraná Semina: **Ciências Agrárias**, v. 28, n. 3, p. 449-454, jul./set. 2007

32. ROSA-CAMPOS, A. A.; ROCHA, J.E.S.; BORG, L.A.; MENDONÇA, M. A. Avaliação físico-química e pesquisa de fraude em leite pasteurizado integral tipo C produzido na região de Brasília, Distrito Federal. **Rev Inst Latic Cândido Tostes**. v.66, n.379, p.30-34, 2011.

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

34. FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Ateneu; 2008.