

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO**

LUCIANO MISSEL MAIESKI

**OS PRINCIPAIS MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS
QUE AFETAM A QUALIDADE DO LEITE**

PORTO ALEGRE

2011

LUCIANO MISSEL MAIESKI

**OS PRINCIPAIS MICRO-ORGANISMOS PATOGÊNICOS
QUE AFETAM A QUALIDADE DO LEITE**

Trabalho de conclusão de curso, apresentado como requisito para obtenção do título de especialista Produção, Tecnologia e Higiene de Alimentos de Origem Animal da faculdade de veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. Guiomar Pedro Bergmann

PORTO ALEGRE

2011

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	4
2 JUSTIFICATIVA	5
3 OBJETIVOS	6
3.1 OBJETIVO GERAL	6
3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	6
4 REVISÃO DE LITERATURA	7
4.1 MICRO-ORGANISMOS PATOGÊNICOS QUE AFETAM A QUALIDADE DO LEITE	7
4.1.1 Bactérias Psicotróficas	7
4.1.2 Bactérias Mesófilas	9
4.1.3 Bactérias Lácticas	9
4.1.4 Bactérias Termófilas	10
4.1.5 Coliforme Total	12
4.1.6 Leveduras	12
4.1.7 Vírus	14
4.2 MÉTODOS UTILIZADOS PARA AVALIAR A QUALIDADE DO LEITE	14
4.2.1 Contagem Bacteriana total (CBT)	14
4.2.2 Contagem de coliformes	15
4.2.3 Prova do azul de Metileno ou TRAM.	16
4.2.4 Prova da Resazurina	16
4.2.5 Contagem de Células somáticas	16
4.3 CARACTERÍSTICAS DOS PRINCIPAIS TIPOS DE LEITE PELA LEGISLAÇÃO VIGENTE	17
4.3.1 Leite	17
4.3.2 Leite Pasteurizado	18
4.3.3 Leite tipo A	19
4.3.4 Leite Tipo B	21
4.3.5 Leite Tipo C	22
4.3.6 Leite UHT	24
5. Discussão	25
6. Conclusão	28
Bibliografia	29

1 INTRODUÇÃO

No Brasil durante o período de 1995 e 2001 ocorreu um crescimento na produção de leite em torno de 4% ao ano, em contraste com os demais países da América do Sul que tiveram metade deste crescimento.

Estes números sendo analisados de uma forma mais ampla coloca o país em grande destaque no contexto mundial sendo superado apenas pela Oceania (Nova Zelândia e Austrália) que cresceram 5,5% ao ano. (Meireles e Rubenz 2002)

A qualidade do leite é um assunto de grande destaque na pecuária nacional, isto ocorre devido a grande participação que esse produto tem no setor da economia do país gerando em 2007 um valor bruto de produção de 15 bilhões de reais (Zoccal et al., 2008).

A pecuária leiteira é uma das atividades mais importantes do valor agropecuário do Rio Grande do Sul e é desenvolvida em torno de 80% dos municípios gaúchos. Porém o setor leiteiro, local ou regional, enfrenta grandes problemas na eficiência produtiva e na qualidade do produto (Bittencourt et al, 2000)

Silveira, Carvalho e Teixeira (2003) citam que a "qualidade insatisfatória do leite produzido no Brasil é um problema crônico, de difícil solução, onde fatores de ordem social, econômica, cultural e até mesmo climática estão envolvidos, e que não tem merecido a devida atenção no campo político, apesar do importante papel representado pelo leite na alimentação da população.

A contaminação microbiana prejudica a qualidade do leite, interfere na industrialização, reduz o tempo de prateleira do leite fluido e derivados lácteos e pode colocar em risco a saúde do consumidor (LORENZETTI, 2006).

A elevada população bacteriana é indesejável para o consumidor, pois coloca em risco a saúde do mesmo devido a maior probabilidade de veiculação doenças, muitas vezes de alta patogenicidade e para a indústria, devido a problemas na estocagem e no processamento do leite, além de características sensoriais indesejáveis (PICININ, 2003).

Atualmente varias empresas efetuam o pagamento em função da qualidade do leite. A maior compradora de leite fluido no Brasil utiliza um preço base de pagamento mas emprega um adicional neste preço levando em conta o volume, mercado, distancia, teor de proteína, teor de gordura e concentração de células somáticas e bactérias (Machado 2008).

2 JUSTIFICATIVA

Nas indústrias de alimentos, a segurança de seus produtos deve ser considerada prioridade máxima. A exigência dos consumidores de que o alimento seja seguro vem reforçar esta política, mesmo que estas características não sejam claramente definidas. Os consumidores esperam alimentos seguros e as indústrias têm a responsabilidade de cumprir essas expectativas (MORTIMORE; WALLACE, 1997).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem por objetivo identificar os principais microrganismos patogênicos que afetam a qualidade do leite.

3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

Identificar principais alterações encontradas e comparar resultados com os padrões microbiológicos exigidos pela legislação vigente.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS QUE AFETAM A QUALIDADE DO LEITE

4.1.1 Bactérias Psicotróficas

A expressão psicotróficos tem gerado uma grande confusão para os microbiologistas, muitas outras formas foram descritas para descrever estas bactérias podemos citar as seguintes: psicrófilos, psicrófilos facultativos, tolerante ao frio ou psicotolerantes (Gounot, 1986).

Segundo Collins (1981), de acordo com as normas da International Dairy Federation, os psicotróficos foram definidos como sendo os microrganismos que podem se desenvolver a 7°C ou menos, independentemente da temperatura ótima de crescimento.

Conforme Fonseca, as principais bactérias psicotróficas são: *Bacillus* spp, *Serratia* spp, *Listeria* spp, *Yersinia* spp, *Lactobacillus* spp, *Flavobacterium* spp, *Corynebacterium* spp, *Micrococcus* spp, *Clostridium* spp.

Entre todos estes microrganismos psicotróficos os que têm recebido atenção especial nos últimos anos, *Listeria monocytogenes* e *Yersinia enterocolitica* que causam doenças de origem alimentar (PADILHA et al., 2001).

Outro gênero de bactérias psicotróficas que tem relevância e encontrado com grande frequência no leite cru e no pasteurizado é o gênero *Pseudomonas*, por apresentar melhor capacidade de crescimento em ambiente refrigerado do que outras bactérias Gram negativas (SANTOS, 1999; SORHAUNG, STEPANIAK, 1997).

Este gênero em questão é o mais importante dentre os psicotróficos porque sobre condições de refrigeração predomina rapidamente sobre a microbiota do leite cru e pasteurizado (ROQUE et al., 2003).

Os microrganismos psicotróficos encontrados no leite são em sua maioria Gram-negativos, provenientes do meio ambiente e equipamentos de ordenha, os gram positivos também estão presentes, mas em menos quantidade (ANDRADE et al., 1998; Santana, 2001; Santos, 1999).

As contagens elevadas de microrganismos psicotróficos estão associadas a falta de higiene da ordenha, falhas na limpeza e sanitização do tanque e ou refrigeração inadequada do leite resfriamento a temperaturas entre 5 e 15 graus. Em boas

condições de higiene o leite apresenta uma contagem de bactérias psicotróficas baixa mas em condições precárias de higiene pode chegar a um percentual de 75% de contaminação por psicotróficas. (Embrapa).

Conforme Sorgahaug e Stepaniak (1997) a estocagem do leite a temperaturas de refrigeração pode suprimir o desenvolvimento de bactérias produtoras de ácido, mas selecionam microrganismos psicotróficos produtores de proteases.

Estas proteases afetam predominantemente a K-caseína, enquanto a B-caseína e a s-caseína são menos susceptíveis.

Atualmente com o uso dos sistemas de refrigeração do leite na fazenda estes microrganismos tornaram-se uma das principais populações de sua microbiota (CHAMPAGNE et al., 1994).

Conforme (DE SANTANA, 2001) existe uma outra categoria de psicotróficos: os termodúricos, ou seja, esporogênicos que além de se multiplicarem bem sob refrigeração, sobrevivem a tratamentos térmicos, inclusive o UHT, sua origem está relacionada à água, úberes, solo, equipamentos e utensílios.

Para (Fonseca) o tempo prolongado de armazenagem em temperaturas de refrigeração propicia o crescimento de bactérias psicotróficas.

Com relação às bactérias psicotróficas a pasteurização tem efeito relevante, muitas bactérias psicotróficas são termodúricas ou seja são resistentes à pasteurização e desta forma produzem enzimas lipolíticas e proteolíticas termoresistentes que mantêm sua atividade enzimática após a pasteurização ou mesmo o tratamento UHT.

Estas enzimas produzidas pelos termodúricos leva a ação de proteases e lípases de origem microbiana que causam problemas como: alteração de sabor e odor do leite, perda de consistência na formação do coágulo para fabricação de queijo e geleificação do leite longa vida.

Segundo (WALSTRA et al., 2006) as enzimas produzidas podem ser altamente resistentes ao calor e causar "offflavors" e alteração das propriedades físico-químicas inclusive no leite "Ultra High Temperature (UHT).

No leite pasteurizado ou leite cru, esses defeitos de sabor não ocorrem até o número de 10^7 /ml, devido ao curto tempo e baixa temperatura de estocagem.

Enzimas proteolíticas produzidas por psicotróficos promovem a quebra de proteínas, provocando alterações físicas e organolépticas que comprometem o consumo e a produção de derivados de leite (SANTOS, 1999; SHAH, 1994).

Para Packard & Ginn (1991) (apud OLIVEIRA et al.,1999) ocorre uma relação

direta entre a contagem de células somáticas no leite (CCS) e a contagem de bactérias psicotróficas no mesmo, devido que a principal fonte desses microrganismos é a superfície externa dos tetos. Assim, quanto melhor a desinfecção dos tetos, mais baixa a CCS e menor a concentração de psicotróficos no leite.

O tempo de estocagem do leite cru resfriado é um fator fundamental para evitar o risco de degradação: períodos inferiores a 24 horas devem ser respeitados (URAZ; ÇITAK; MARTINS et al., 2003).

4.1.2 Bactérias Mesófilas

Os principais grupos de microrganismos indicadores de qualidade do leite são os aeróbios mesófilos e os coliformes (FRANCO; LANGRAF, 1996).

Os mesófilos se multiplicam numa faixa de temperaturas entre 20°C e 45°C sendo a temperatura ótima de crescimento 32°C.

Esses microrganismos indicam a qualidade com que o alimento foi obtido ou processado e sua presença em altas contagens é indicativa de procedimentos higiênicos inadequados na produção, no beneficiamento ou na conservação dependendo da origem da amostra (FRANCO; LANDRAF, 1996)

Os mesófilos constituem um grupo importante por incluir a maioria dos microrganismos acidificantes, e por se desenvolverem a temperaturas entre 20°C e 45°C, com a temperatura ótima de multiplicação em torno de 30°C a 40°C (JAY, 2000).

Para (JAY, 2005) o grupo dos mesófilos inclui a maioria dos contaminantes do leite, tanto deterioradores como patógenos.

Cortez e Cortez (2008) descrevem a importância que as bactérias mesófilas têm na acidificação do leite e destacam as bactérias através dos seguintes grupos: Lactobacilos, Estreptococos, Lactococos e coliformes.que se multiplicam rapidamente quando o leite não é armazenado sob refrigeração.

O número de microrganismos aeróbios mesófilos encontrados em um alimento tem sido um dos indicadores microbiológicos da qualidade, indicando se a limpeza, a desinfecção e o controle da temperatura durante todo o processo de obtenção foram realizados de forma adequada (Teses USP, 2002).

4.1.3 Bactérias Lácticas

As bactérias lácticas são basicamente mesófilas (com algumas linhagens

termófilas) e são capazes de crescer num intervalo de temperatura de cinco a 45 c°.

Podem crescer em pH de 3 e 8 e são proteolíticas fastidiosas em relação a alguns aminoácidos. Esses microrganismos são assim chamados por produzirem ácido láctico.

As bactérias lácticas produzem vários fatores antimicrobianos, tais como ácido láctico, acético e propiônico, os quais interferem na força promotiva e dos mecanismos de transporte ativo da membrana citoplásmica bacteriana (FORTSYTHE, 2002).

A ação deletéria destas bactérias deve-se ao fato de que metabolizam a lactose produzindo ácido láctico que, acumulando-se no leite, causa uma redução do PH, e provoca a precipitação das caseínas no leite quando o PH alcançar um valor em torno de 4,6 (ORDONEZ, 2005).

Um dos papéis mais importantes das bactérias lácticas é a higiene o outro é desenvolver as propriedades sensoriais dos alimentos fermentados, por meio da produção de um grande número de enzimas glicolíticas, lipolíticas e proteolíticas. As bactérias lácticas transformam os nutrientes fundamentais dos produtos agrícolas em compostos com propriedades organolépticas complexas.

Tais atividades permitem às bactérias lácticas alterar as estruturas e o aroma dos alimentos fermentados e de contribuir para o desenvolvimento das suas qualidades gastronômicas (JAY, 2005).

Cabe resaltar efeitos benéficos das bactérias lácticas, que seriam de três formas: atacam a lactose produzindo ácido láctico, participam das degradações proteicas que acontecem durante os processos de maturação, produzem diacetil acetaldeído (ORDONEZ, 2005).

4.1.4 Bactérias Termófilas

As bactérias termófilas são definidas como aquelas cuja temperatura ótima de crescimento situa-se entre 55-65°C, como máximo, para algumas espécies, podendo atingir 75-90°C e o mínimo em torno de 35°C (ICMSF, 1980).

O leite cru normalmente contém poucas bactérias termófilas, embora em número suficiente para se desenvolverem no leite mantido a temperaturas elevadas, acarretando grande número desses microrganismos no produto.

Essas bactérias constituem problema no leite pasteurizado quando algumas porções são mantidas, por algum tempo, entre 50-70°C.

Para Jay (2005) o crescimento de bactérias termófilas tem uma fase Lag pequena e algumas vezes difícil de medir. Os esporos germinam e crescem rapidamente.

Em alguns termófilos o tempo de geração é de 10 minutos quando crescem em alta temperatura.

Os gêneros *Bacillus* e *Clostridium* contêm os termófilos de maior importância em se tratando de alimentos.

Alimentos de baixa acidez com $\text{pH} > 4,6$ são deteriorados pelo grupo de termófilos chamado Flat sour (*Bacillus stearothermophilus*, *B. coagulans*), por "sulfito" deteriorantes (*Clostridium nigrificans*, *C. bifermentans*) e/ou deteriorantes produtores de gás (*Thermoanaerobacterium thermosaccharoticum*).

Com relação às enzimas, podemos dividir as bactérias termófilas em três grupos: as enzimas estáveis sobre a temperatura de produção, mas necessitam de temperaturas mais elevadas para a sua inativação se enquadram nesta faixa a Desidrogenase málica, Adenosinatrifosfatase, a Aldolase e algumas peptidases. O outro grupo de enzimas são aquelas que são inativadas sob temperaturas de produção na ausência de substratos específicos são exemplos destas a Asparagina desamidase, a Catalase, Oxidase do ácido pirúvico, oxidase e as outras enzimas ligadas a membranas. E por último podemos destacar as enzimas e proteínas altamente resistentes ao calor, por exemplo: α -amilase, proteases, e certas enzimas ativadoras de aminoácidos, proteínas flagelares, esterases e termolisinas.

O crescimento termófilo é dependente da tensão de oxigênio, havendo aumento da temperatura de incubação, a taxa de crescimento dos microrganismos cresce, assim como a demanda de oxigênio no meio de cultura, a solubilidade de oxigênio é reduzida. Estas situações são referidas por vários pesquisadores como um dos fatores limitantes do crescimento termofílico em meio de cultura.

4.1.5 Coliforme Total

O grupo coliforme total abrange os microrganismos pertencentes às famílias: Enterobacteriaceae, Enterobacter, Citrobacter, e Klebsiella, que apresentam a capacidade de fermentar a lactose produzindo ácido e gás quando incubadas entre 35°C e 37°C.

A contaminação através destes microrganismos indica o nível de contaminação ambiental que o alimento foi submetido. Mas uma pasteurização efetiva elimina estes microrganismos sendo a sua presença em produtos tratados termicamente indicação que houve contaminação ocorreu após o processo (FRANCO; LANGRAF, 1996).

Os coliformes totais são restritos ao trato gastrointestinal de humanos e animais homeotérmicos. Sendo apontados como os principais representantes deste grupo os seguintes microrganismos: bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas gram negativas, não esporogênicas com capacidades de fermentar a lactose com produção de gás num período de 48 horas a 35°C (SIQUEIRA, 1995; Vanderzant; Splittoesser, 1992).

Coliformes fecais pertencem ao grupo dos coliformes totais que fermentam a lactose, produzindo ácido e gás quando incubado a 35°C por 24-48h. Para (HAJDENWURCEL, 1998; SILVA et al., 2000) a E.coli é melhor indicadora de contaminação fecal direta ou indireta por fezes humanas e de animais. Cerca de 95 % dos coliformes existentes são Escherichia coli.

4.1.6 Leveduras

Para FURTADO (1998) leveduras são fungos que apresentam formas variadas, esféricas, ovoides, piniformes e cilíndricas. Algumas leveduras apresentam grânulos de gordura, albuminoides ou amiláceos, e geralmente se reproduzem por brotamento.

As leveduras são divididas em Eumycetos que englobam duas classes: Ascomycetos (leveduras verdadeiras) e Deuteromycetos (falsas leveduras). A exigência de umidade das leveduras é menor se comparadas a das bactérias e maior se comparada com a maioria dos bolores. Com relação à temperatura considerada ideal para a multiplicação das leveduras podemos citar uma faixa entre 25°C e 30°C, um pH ácido favorece o seu desenvolvimento, e multiplicam-se melhor quando estão em anaerobiose, porém os tipos fermentativos desenvolvem-se também em aerobiose

(FRANCO; LANDGRAF, 2003).

O tempo de geração das leveduras corresponde a 2 ou 3 horas, sendo maior que o das bactérias e inferior ao dos bolores que multiplicam-se mais lentamente que as leveduras.

Conseqüentemente em um alimento que forneça condições para o desenvolvimento dos três grupos de microrganismos, as bactérias iriam dominar e, por conseguinte seriam a causa da deterioração do alimento, entretanto as leveduras e os bolores seriam importantes na deterioração daqueles alimentos que não ofereçam condições ao rápido desenvolvimento das bactérias (WYDER, 2001).

A deterioração causada por leveduras é reconhecida com uma alteração principalmente em leites fermentados e queijos. Tipicamente os problemas causados por leveduras deteriorantes são a produção de gás, alterações no sabor e no flavor, descolorações e mudanças de textura do produto final (BROCKLEHURST; LUND, 1985; FLEET, 1990).

Segundo Fleet (1990), para o desenvolvimento e predominância de leveduras no leite é preciso que ocorra a fermentação ou assimilação de lactose, produção de enzimas proteolíticas e lipolíticas, assimilação de ácido láctico e sob baixa temperatura e também elevada concentração de sal. Desta maneira as espécies de leveduras mais encontradas em produtos lácteos são: *Debaryomyces hansenii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulasporea delbrueckii*, *Trichosporon beigelli*, *Candida versatilis*, *Cryptococcus albidus*, *Candida seylanoides* e *Dekkera anomala* (VIJOEN et al., 2003).

Leveduras e mofos são razoavelmente sensíveis ao calor com ascósporos de leveduras apenas ligeiramente mais resistentes que leveduras vegetativas (JAY, 2005).

O gênero, *Candida*, caracteriza-se pela sua frequência elevada em leite, não produz gás e quase nada de álcool, não provoca uma alteração significativa no leite no máximo podendo torna-lo espumante (TRONCO, 2008).

As leveduras encontradas com frequência no leite cru não sobrevivem à pasteurização e sua presença no leite pasteurizado assim como nos produtos lácteos é causada quase sempre por recontaminação durante o beneficiamento deles (JODRAL et al., 1993).

Como consequência do desenvolvimento das leveduras pode ocorrer produção de odores desagradáveis, descolorações, mudanças na textura e produção de gás que pode causar estufamento de embalagens nas prateleiras refrigeradas durante sua comercialização (JAKOBSEN; NARHUS, 1996).

A maior parte das leveduras é considerada saprófica sendo encontrada em tanques de armazenamento de leite oriundos de animais sadios (RUJ-PERES et al., 2004).

4.1.7 Vírus

Podemos citar alguns poucos gêneros capazes de causar alterações nos produtos de origem lácticas. Estes gêneros são: Poxvirus, Enterovirus, Flavovirus, vírus da hepatite e bacteriófagos ácido-lácticas (TRONCO, 2008).

Os vírus Normawalk e assemelhados causam diarreias e vômitos; estes vírus são pertencentes aos Calaciviridae. As gastroenterites devidas aos vírus Normawalk são transmitidas por via fecal oral através da água e alimentos contaminados.

A Hepatite tipo A é classificada ao grupo de enterovirus da família Picornaviridae, e o período de incubação varia de 10 a 50 dias e os principais sintomas são: febre, mal-estar, perda de apetite, icterícia, urina de cor escura, fezes de cor mais clara, dores abdominais na área do fígado.

A excreção das fezes das pessoas infectadas pode produzir a doença quando indivíduos suscetíveis consomem alimentos ou água contaminada (FORYPHE, 2002).

Os vírus são parasitas intracelulares e não se multiplicam no leite. Entretanto, alguns deles podem sobreviver por longos períodos. Eles são infectivos em doses baixas, e a maioria dos vírus transmitidos por alimentos causam gastroenterites. Alguns podem ter origem nas vacas e acessar o leite por contaminação fecal ou água poluída, eles são inativados pela pasteurização do leite, inclusive o vírus da febre aftosa (WALSTRA et al., 2006).

4.2 MÉTODOS UTILIZADOS PARA AVALIAR A QUALIDADE DO LEITE

4.2.1 Contagem Bacteriana total (CBT)

Segundo (FONSECA 2000) através da contagem bacteriana total podemos realizar a contagem do número de colônias presentes em uma determinada amostra de leite, previamente incubada durante 48 horas.

A CBT irá depender da carga microbiana inicial do leite bem como da taxa de multiplicação microbiana.

Este teste apresenta uma excelente precisão, porque é possível identificar numericamente a contaminação bacteriana. O valor da CBT deve ser inferior de 100.000 UFC/mL.

Para (TRONCO 2008) além da carga microbiana, devemos considerar os fatores de higiene, tempo, e temperatura, que são fundamentais na qualidade microbiológica do leite e irão determinar a contagem bacteriana total dos tanques de resfriamento.

Os procedimentos utilizados para o leite cru ou o pasteurizado são os mesmos, o que irá variar serão as diluições utilizadas.

4.2.2 Contagem de coliformes

Todas as provas que existem para determinar coliformes no leite visam avaliar o grau de contaminação do próprio leite.

Com relação ao leite pasteurizado as provas servem para detectar se a pasteurização for ineficiente ou possíveis recontaminações posteriores (TRONCO, 2008).

Para (FONSECA 2000) este teste propicia a identificação das bactérias de origem fecal e dos coliformes oriundos do interior da glândula mamária.

O método envolve a cultura do leite em meio violet blue bile Agar, incubando a amostra por 24 horas a 32°C.

O limite máximo permitido seria 100 UFC de coliformes/mL de leite.

A detecção de coliformes pode ser feita de duas maneiras distintas: pelo métodos sólidos ou meios líquidos.

Os meios sólidos são; caldo MacConkey, caldo lactosado - 2%, bile verde brilhante, caldo lauril sulfato. E na forma solida usamos os seguintes meios: Agar MacConkey, Agar cristal violeta vermelho neutro bila (VRB), agar EMB(eosina azul de metileno), segundo Levine.

4.2.3 Prova do azul de Metileno ou TRAM.

Segundo (BEHMER 1980) este teste seria uma forma rápida de avaliar o grau de acidez do leite, executado no ato do recebimento do leite pelas indústrias de laticínios. Para (TRONCO 2008), mede-se de uma forma indireta a população bacteriana do leite e do creme em variações de tempos necessárias para que depois de iniciada a incubação, em uma determinada mistura de leite, corada com a tonalidade azul característica do corante, torna-se branca.

O teste baseia-se que as bactérias presentes no leite ao se multiplicarem, utilizam os elementos nutricionais e oxigênio livre ou fracamente em combinados do leite, isto acaba por modificar a condição do produto passa de levemente oxidados para levemente redutoras.

A prova de azul de metileno depende da capacidade de consumo de oxigênio das que crescem durante o período de incubação, caracterizando como um índice quantitativo do conteúdo bacteriano.

4.2.4 Prova da Resazurina

A prova da redutase está embasada no aparecimento da cor azulada do corante azul de Metileno ou Rezarina em um leite incubado.

Quanto maior a carga microbiana do leite maior o potencial de descoloração do azul de metileno (BEHMER, 1984).

Usando-se a resazurina em substituição ao azul de metileno, a descoloração será mais rápida, propiciando resultados mais rápidos e a coloração do corante passa de azul para rosa (TRONCO, 2008).

4.2.5 Contagem de Células somáticas

Para medir a saúde da glândula mamária e da qualidade do leite bovino podemos usar a contagem de células somáticas.

Uma elevação da contagem de células somáticas no leite irá diminuir o tempo de prateleira do leite e de seus derivados, ocasionando a inibição do crescimento das culturas starters, e desta maneira levando a grandes prejuízos nas indústrias de laticínios (LINDMARK-MANSSON et al., 2000; TRONCO, 2008).

Esta forma de "bonificação" de agregar valor ao leite pela contagem de células somáticas é bem recente no Brasil (ALMEIDA, et al., 2003).

A contagem de células somáticas pode ser influenciada indiretamente pela idade da vaca, estágio de lactação, condições climáticas e ambientais; embora o nível de infecção da glândula seja considerado o fator principal (XAVIER, et al., 2003).

A utilização de ferramentas, como a caneca 31 de fundo escuro, testes de GMT (Califórnia Mastitis Test) e WMT (Wisconsin Mastitis Test) periódicos, uso de pré e postdipping, tratamento de animais no período seco e afastamento de animais cronicamente infectados podem auxiliar no controle da doença e a melhoria da qualidade do leite. A (IN 51, 2002,) definiu que os produtores das regiões Norte / Nordeste tem até julho de 2012 para produzirem leite com CCS máxima de $7,5 \times 10^5$ cinco. Desta data em diante o parâmetro passará para 4×10^5 Cinco (BRASIL, 2002).

4.3 CARACTERÍSTICAS DOS PRINCIPAIS TIPOS DE LEITE PELA LEGISLAÇÃO VIGENTE

4.3.1 Leite

Entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outros animais deve ser denominar-se segundo a espécie de que proceda (RISPOA, 1952).

A formação do leite envolve um grande processo metabólico, sendo necessária a passagem de 450 litros de sangue pela glândula mamária para sintetizar um litro de leite (GONZALES, 2001).

O leite bovino é um fluido composto por nutrientes sintetizados pela glândula mamária a partir de precursores derivados da alimentação e do metabolismo.

Os principais componentes são: água, os glicídios a gordura as proteínas os minerais e as vitaminas (BACHMAN, 1992; COLLIER, 1995).

Para (HARDING, 1995) a composição do leite didaticamente pode ser descrita da seguinte forma: 87,4% de água e 12,6 % de sólidos totais, constituindo cerca de 3,9% de gordura, 3,2% de proteína, 4,6% de lactose e 0,9% de outros sólidos como minerais e vitaminas.

Os constituintes sólidos estão presentes em formas físicas diferentes: dissolvidos (lactose) dispersos coloidamente (proteína) e emulsificados em água (lipídeos ou gorduras).

4.3.2 Leite Pasteurizado

Conforme a (IN 51, 2002) leite pasteurizado é o leite fluido elaborado a partir do leite Cru refrigerado na propriedade rural, que apresente as especificações de produção, de coleta e de qualidade dessa matéria-prima contidas em regulamento técnico próprio e que tenha sido transportado a granel até o estabelecimento processador;

O Leite Pasteurizado é classificado quanto ao teor de gordura como integral, padronizado a 3% m/m (três por cento massa/massa), semidesnatado ou desnatado, e, quando destinado ao consumo humano direto na forma fluida, submetido a tratamento térmico na faixa de temperatura de 72 a 75^oC (setenta e dois a setenta e cinco graus Celsius) durante 15 a 20s (quinze a vinte segundos), em equipamento de pasteurização a placas, seguindo de resfriamento imediato em aparelhagem a placas até temperatura igual ou inferior a 4^oC (quatro graus Celsius) e envaze em circuito fechado no menor prazo possível, sob condições que minimizem contaminações.

Imediatamente após a pasteurização o produto assim processado deve apresentar teste negativo para fosfatase alcalina, e teste positivo para peroxidase, para coliformes a 30/35^oC (trinta/trinta e cinco graus Celsius) menor que 0,3 NMP/ml da amostra;

Características Físicas, Químicas e Microbiológicas.

Requisitos Gordura, (g/100g)	Integral Teor Original	Padronizado 3,0	Semidesnatado 0,6 a 2	Desnatado máx. 0,5	Método de Análise IDF 1 C: 1987
Acidez, (g ácido Láctico/100mL)	0,14 a 0,18 para todas as variedades quanto ao teor de gordura				LANARA/MA, 1981
Estabilidade ao Alizarol 72 % (v/v)	Estável para todas as variedades quanto ao teor de gordura				CLA/DDA/SDA/ MAPA
Sólidos Não Gordurosos (g/100 g)	Mínimo de 8,4(1)				IDF 21 B: 1987
Índice Crioscópico	Máximo -0,530 ^o H (-0,512 ^o C)				IDF 108 A: 1969

Índice de Refração do Soro Cúprico a 20°C	min. 37°Zeiss	CLA/DDA/SDA/ MAPA
Contagem Padrão em Placas (UFC/mL)	n = 5; c = 2; m = 4,0x10 ⁴ M = 8,0x10 ⁴	CLA/DDA/SDA/ MA, 1993
Coliformes, NMP/mL (30/35°C)	n = 5;c = 2; m = 2 M =4	CLA/DDA/SDA/ MA, 1993
Coliformes, NMP/ mL (45°C)	n = 5;c=1;m=1 M = 2	CLA/DDA/SDA/ MA, 1993
Salmonella spp/25m	n = 5; c = 0; m= ausência	CLA/DDA/S.D.A/ MA, 1993

4.3.3 Leite tipo A

Conforme a (instrução normativa 51, 2002) leite pasteurizado tipo A é o leite classificado quanto ao teor de gordura em integral, padronizado, semidesnatado ou desnatado, produzido, beneficiado e envasado em estabelecimento denominado “Granja Leiteira”.

Imediatamente após a pasteurização o produto assim processado deve apresentar teste qualitativo negativo para fosfatase alcalina, e positivo para teste da peroxidase a enumeração de coliformes a 30/35°C (trinta/trinta e cinco graus Celsius) menor do que 0,3 NMP/mL.

Para a comercialização no varejo o leite tipo A apresenta as seguintes denominações; leite pasteurizado tipo A Integral; leite pasteurizado tipo A padronizado; leite pasteurizado tipo A semidesnatado; leite pasteurizado tipo A Desnatado;

Deve constar a expressão "Homogeneizado" na rotulagem do produto, quando for submetido a esse tratamento.

Na pasteurização devem ser fielmente observados os limites quanto a temperatura e tempo de aquecimento de 72° a 75°C (setenta e dois graus a setenta e cinco graus Celsius) por 15 a 20s (quinze a vinte segundos). Uma refrigeração subsequente deve ser efetuada e a temperatura de saída do leite não deve ser superior a 4°C (quatro graus Celsius);

A tabela a seguir apresenta os parâmetros exigidos pela legislação vigente para análise físico-química e microbiológica para leite pasteurizado tipo A.

Requisitos Gordura, (g/100g)	Integral Teor Original	Padronizado 3,0	Semidesnatado 0,6 a 2,9	Desnatado máx. 0,5	Método de Análise IDF 1 C: 1987
Acidez, (g. ác. Láctico/100mL)	0,14 a 0,18 para todas as variedades				LANARA/MA, 1981
Estabilidade ao Alizarol 72% (v/v)	Estável para todas as variedades				CLA/DDA/MA
Sólidos Não Gordurosos (g/100g)	Min. de 8,4*				IDF 21 B: 1987
índice Crioscópico máximo	-0,530°H(-0,512°C)				IDF 108 A: 1969
Índice de Refração do Soro Cúprico a 20°C	Min. 37° Zeiss				CLA/DDA/SDA/ MAPA
Testes Enzimáticos: prova de fosfatase alcalina prova de peroxidase	Negativa Positiva				LANARA/MA, 1981 LANARA/MA, 1981
Contagem Padrão em Placas (UFC/mL) **	n = 5; c = 2; m = 5,0x10 ² M = 1 ,0x10 ³				S. D. A/MA, 1993

Continuação

Requisitos Gordura, (g/100g)	Integral Teor Original	Padronizado 3,0	Semidesnatado 0,6 a 2,9	Desnatado máx. 0,5	Método de Análise IDF 1 C: 1987
Coliformes -NMP/mL (30/35°C)**	N = 5; c = 0; m < 1				S. D. A/MA, 1993
Coliformes -NMP/mL (45°C)**	N = 5; c = 0; m= ausência				S. D. A/MA, 1993
Salmonella spp/25mL**	N = 5; c = 0; m= ausência				S. D. A/MA, 1993

4.3.4 Leite Tipo B

Conforme (IN 51, 2002) o leite pasteurizado tipo B é classificado quanto ao teor de gordura como integral, padronizado, semidesnatado ou desnatado, submetido à temperatura de 72 a 75°C (setenta e dois a setenta e cinco graus Celsius) durante 15 a 20s (quinze a vinte segundos), exclusivamente em equipamento de pasteurização a placas, seguindo de resfriamento imediato em equipamento a placas até temperatura igual ou inferior a 4°C (quatro graus Celsius) e envase no menor prazo possível, sob condições que diminuam as contaminações; Imediatamente após a pasteurização o produto assim processado deve apresentar teste qualitativo negativo para fosfatase alcalina, teste positivo para peroxidase e enumeração de coliformes a 30/35°C (trinta/trinta e cinco graus Celsius) menor que 0,3 NMP/ml (zero vírgula três Número Mais Provável/ mililitro) da amostra.

A expressão "Homogeneizado" na rotulagem do produto é obrigatória quando for submetido a esse tratamento.

Composição e Requisitos Físicos, Químicos e Microbiológicos do Leite Pasteurizado Tipo B

Leite Pasteurizado tipo B

Requisitos Gordura, (g/100g)	Integral Teor Original	Padronizado 3,0	Semidesnatado 0,6 a 2,9	Desnatado máx. 0,5	Método de Análise IDF 1 C: 1987
Acidez, (g ácido Láctico/100mL)	0,14 a 0,18 para todas as variedades				LANARA/MA, 1981
Estabilidade ao Alizarol 72% (v/v)	Estável para todas as variedades				CLA/DDA/MA

Continuação

Requisitos Gordura, (g/100g)	Integral Teor Original	Padronizado 3,0	Semidesnatado 0,6 a 2,9	Desnatado máx. 0,5	Método de Análise IDF 1 C: 1987
Sólidos Não Gordurosos (g/100g)	mínimo de 8,4 *				IDF 21 B: 1987
Índice Crioscópico máximo	-0,530°H (-0,512°C)				IDF 108 A: 1969
Índice de Refração do Soro Cúprico a 20°C	Mínimo de 37° Zeiss				CLA/DDA/SDA/ MAPA
Testes Enzimáticos: prova de fosfatase alcalina prova de peroxidase	Negativa Positiva				LANARA/MA, 1981 LANARA/MA, 1981
Contagem Padrão em Placas (UFC/mL)**	n = 5; c = 2; m = 4,0x10 ⁴ M = 8,0x10 ⁴				S. D. A/MA, 1993
Coliformes -NMP/mL (30/35oC)**	n = 5; c = 2; m=2; M=5				S. D. A/MA, 1993
Coliformes -NMP/mL (45°C)**	n = 5; c= 1; m=1; M=2				S.D.A/MA.1993
Salmonella spp/25mL **	n = 5; c = 0; m= ausência				S.D.A/MA.1993

4.3.5 Leite Tipo C

Leite pasteurizado tipo C é o produto definido e classificado quanto ao teor de gordura como integral, padronizado a 3% m/m (três por cento massa por massa), semidesnatado ou desnatado, submetido à temperatura de 72 a 75°C durante 15 a 20seg, em equipamento de pasteurização a placas, seguindo de resfriamento imediato em aparelhagem a placas até temperatura igual ou inferior a 4°C e envase no menor prazo possível, sob condições que minimizem contaminações; (IN 51, 2001).

Terminada a pasteurização o produto deve ser resfriado e apresentar teste negativo para fosfatase alcalina, e teste positivo para peroxidase e coliformes a 30/35°C menor que 0,3 NMP/ml da amostra.

É de caráter obrigatório o uso do termo "Homogeneizado" na rotulagem do produto quando for.

Composição e Requisitos Físicos, Químicos e Microbiológicos do leite Pasteurizado Tipo C

Leite Pasteurizado tipo C.

Requisitos Gordura, (g/100g)	Integral Teor Original	Padronizado 3,0	Semidesnatado 0,6 a 2,9	Desnatado máx. 0,5	Método de Análise IDF 1 C: 1987
Acidez, (g. ác. Láctico/100mL)	0,14 a 0,18 para todas as variedades				LANARA/MA, 1981
Estabilidade ao Alizarol 72% (v/v)	Estável para todas as variedades				CLA/DDA/MA
Sólidos Não Gordurosos (g/100g)	Min. de 8,4 (5)				IDF 21 B: 1987
Índice Crioscópico máximo	-0,530°H(-0,512°C)				IDF 108 A: 1969
Índice de Refração do Soro Cúprico a 20°C	Min. 37° Zeiss				CLA/DDA/SDA/ MAPA
Contagem Padrão em Placas (UFC/mL) **	n = 5; c = 2; m = 1,0x10 ⁵ M = 3,0x10 ⁵				S. D. A/MA, 1993
Coliformes -NMP/mL (30/35°C)	n = 5; c = 2; m = 2 M=4				S. D. A/MA, 1993
Coliformes -NMP/mL (45°C)	n = 5; c = 1; m= 1 M=2				S. D. A/MA, 1993
Salmonella spp/25mL**	n = 5; c = 0; m= ausência				S. D. A/MA, 1993

Segundo (PANETTA 1999), os processos de Beneficiamento garantem a qualidade do leite. O tratamento térmico é relevante na evolução da tecnologia alimentar (BASTOS, 1999).

4.3.6 Leite UHT

Ele é eficiente se for respeitado o binômio tempo/temperatura, para que sejam eliminados os microrganismos e preservadas as características sensoriais e o valor nutricional do produto. No mercado são encontrados leites tratados pelo calor, como é o caso do leite pasteurizado, e leite submetido a ultra-alta temperatura (UAT) ou longa vida (PRATA, 1998).

Os termos UAT e longa vida têm sido usados para designar produtos lácteos submetidos ao tratamento em alta temperatura e embalados assepticamente. Esses produtos têm longa vida na prateleira, sem refrigeração (DUNKLEY; STEVENSON, 1987).

No Brasil, o leite UAT geralmente é obtido e transportado sob condições precárias, constituindo um dos principais problemas de garantia da qualidade do produto (GILLIS et al., 1985; PRATA, 1998; BASTOS, 1999).

Apesar de o tratamento UAT eliminar totalmente as formas vegetativas de microrganismos presentes no leite, formas esporuladas, altamente resistentes ao calor, (highly heat resistant spores - HHRs), poderão estar presentes no produto, decorrentes das condições precárias de obtenção da matéria-prima (FOSCHINO et al., 1990; SCHOCKEN-LTURRINO et al., 1996).

Do total das amostras analisadas, 42 apresentaram *Listeria* spp sendo mais frequente no leite cru. As amostras de leite cru ainda apresentaram elevada incidência de coliformes totais e coliformes fecais e *E.coli* evidenciando alta contaminação da matéria prima.

5 Discussão

(SCHOCKEN- ITURRINO 1996), ao analisarem 32 caixas de leite longa vida de quatro marcas diferentes na região de Ribeirão Preto, SP, verificaram a presença de bactérias do gênero *Bacillus* em 19 (59,3%) delas.

(REZENDE et al.2000) analisaram 120 amostras de leite UAT de quatro marcas diferentes e encontraram espécies do grupo do *Bacillus cereus* em 34,1 % delas.

No trabalho de (SILVA et al. 2010) encontraram no Rio Grande do Sul uma media de $6,84 \times 10^5$ CCS/ml para o leite cru em tanque de resfriamento.

(MARTINS et al. 2008) encontraram CBT acima de 1×10^6 UFC/m em nove dos 30 tanques pesquisados. Basicamente o leite pasteurizado para ser considerado apto para o consumo deve apresentar as seguintes características sensoriais normais: teor de gordura original para leite integral, 3% de gordura original para leite padronizado, acidez entre 0,14 a 0,18 g.ac láctico/100ml, estabilidade ao teste de Alizarol 72% (V.V-1) densidade relativa (15/15 graus,g.mL-1) entre 1.028 a 1.034, extrato seco desengordurado mínimo de 8,4% e índice crioscópico. Máximo de - 0,530 H (Brasil 2002).

Para os parâmetros microbiológicos devem ser respeitados os seguintes limites: contagem padrão em placas (Máximo de $3,0 \times 10^5$ UFC.mL-1) contagem de coliformes a 35°C (Máximo de 4NMP.mL-1) e contagem de coliformes a 45 graus (máximo de 2 NMP.ml-1).

De acordo com a RDC nº 12 (BRASIL, 2001), os principais microrganismos que devem ser pesquisados para análise de qualidade microbiológica do alimento, de modo geral, em leite de bovinos e de outros mamíferos e seus derivados lácteos, são: coliformes termotolerantes; *Staphylococcus coagulase Positiva*; *salmonella sp.*; *Listeria monocytogenes* E *Bacillus cereus*. A tolerância estipulada é de 4 NMP para coliformes a 45c ml⁻¹ e ausência de *Salomonela spp* em 25ml.

Segundo a IN 51 o leite pasteurizado, deve apresentar após o processo de pasteurização, contagem de coliformes totais menor que 0,3 NMP/mL, ausência de coliformes termo tolerantes e CPP de mesófilos aeróbios de até $1,0 \times 10^3$ UFC/MI.

No trabalho apresentado por (LEITE et.al. 2002) as contagens de bactérias

aeróbias mesófilas variaram entre $1,4 \times 10^2$ a $2,2 \times 10^6$, UFC/ml, das quais apenas uma amostra encontra-se fora do valor limite aceitável para padrão de leite tipo C.

A concentração de bactérias aeróbias mesófilas encontrada no leite cru em tanques de refrigeração pode entre $6,3 \times 10^3$ UFC.ml⁻¹ a valores superiores a 10 na 5 UFC.ml⁻¹ (BOOR et al., 1998; HAYES et al., 2001).

VIEIRA e CARVALHO (2003) relataram que o valor médio foi superior a ($7,4 \times 10^6$ UFC/ml) aeróbios ao analisarem 60 amostras de leite pasteurizado tipo C, comercializado na Paraíba, sendo o mínimo igual a $5,5 \times 10^3$ UFC/ml e o Máximo de $1,8 \times 10^8$.

(NOREMBERG et al. 2009) encontraram valores médios de 6,0 e 6,5 log 10 UFC/ml de bactérias psicotróficas em diferentes laticínios do Rio Grande do Sul.

Beloti et al. (1996) na cidade de Londrina PR, encontrou 17,5% das amostras de leite tipo C fora do padrão para coliformes fecais.

Segundo (NADER Filho et al. (1997) analisando amostras do leite tipo integral no estado de SP constatou que 5% estavam fora dos padrões estabelecidas para coliformes fecais.

HARTMANN (2009) encontrou contagem media de 6,33 log 10 UFC/ml em leites da região do Paraná e Sanvido (2007) obteve 3,87 log 10 UFC/ml em seu estudo.

No estado de São Paulo, cerca de 44,4% das amostras de leite pasteurizado analisadas apresentaram valores acima do permitido pela legislação para contagem de mesófilos aeróbios (OLIVEIRA R.P.S, 2005).

A IN51 estabelece limite para a contagem de bactérias mesófilas aeróbias viáveis no leite cru (máximo: 10^6 UFC/mL).

Para (ADAMS et al. 1975) citam que bactérias psicotróficas na quantidade de $1,0 \times 10^4$ UFC/ml podem produzir enzimas termoestáveis responsáveis e coagulação do produto, encurtando a vida útil do mesmo.

Para (MACHADO et al. 2000) ao avaliarem a qualidade do leite com CCS mais elevada resultou em maior porcentagem de gordura, menor de proteína e lactose e igual a sólidos totais.

Conforme (CATÃO e CEBALLOS (2001) que avaliaram 75 amostras, sendo que 45 procedentes de leite cru e 30 amostras de leite pasteurizado tipo C.

Do total das amostras analisadas, 42 apresentaram *Listeria spp* sendo mais frequente no leite cru. As amostras de leite cru ainda apresentaram elevada

incidência de coliformes totais e coliformes fecais e E.coli evidenciando alta contaminação da matéria prima.

(ITURRINO et al.1996), ao analisarem 32 caixas de leite longa vida de quatro marcas diferentes na região de Ribeirão Preto, SP, verificaram a presença de bactérias do gênero *Bacillus* em 19 (59,3%) delas.

REZENDE et al. 2000) analisaram 120 amostras de leite UAT de quatro marcas diferentes e encontraram espécies do grupo do *Bacillus cereus* em 34,1% delas.

No trabalho de (SILVA e et al 2010) encontraram no Rio Grande do Sul uma media de $6,84 \times 10^5$ CCS/ml para o leite cru em tanque de resfriamento.

MARTINS et al. 2008 encontraram CBT acima de 1×10^6 UFC/m em nove dos 30 tanques pesquisados.

Basicamente o leite pasteurizado para ser considerado apto para o consumo deve apresentar as seguintes características sensoriais normais: teor de gordura original para leite integral, 3% de gordura original para leite padronizado, acidez entre 0,14 a 0,18 g.ac láctico/100ml, estabilidade ao teste de Alizarol 72% (V.V-1) densidade relativa (15/15 graus,g.mL-1) entre 1.028 a 1.034, extraio seco desengordurado mínimo de 8,4% e índice crioscópico Máximo de -0,530 H(Brasil 2002).

Para os parâmetros microbiológicos devem ser respeitados os seguintes limites: contagem padrão em placas (Máximo de $3,0 \times 10^5$ UFC.mL-1) contagem de coliformes a 35 C (Máximo de 4NMP.mL-1) e contagem de coliformes a 45 graus (máximo de 2 NMP.ml-1).

6 CONCLUSÃO

Principais microrganismos patogênicos que afetam a qualidade do leite.

Alterações referentes à contaminação por bactérias psicotróficas foram encontradas em algumas amostras, mas percentuais muito inexpressivos para que se possa considerar como falta de controle da qualidade do produto. Desta forma podemos considerar que os resultados encontrados estão dentro dos padrões exigidos pela legislação vigente.

BIBLIOGRAFIA

ADAMS, D.M ; BARACH, J.T.; SPECK, M.L

Heat resistant proteases in Milk by psycrotrophic bacteria of dair origin. Journal of Dairy Science. Sanvoy. V. 58, n.6.p. 828-834,1975.

BACHMAN KC. (1992). **Managing Milk Composition.**

In: Large Dair Herd Management.

American Dair Science Association.

Chapaign. IL. Chap- 35, P. 336-346

BASTOS.M.S.R. Leite Longa Vida. UHT: **Aspectos do Processamento e identificação dos pontos críticos de controle.**

Hig. Aliment. V.13, P.32-36, 1999

BELOTI, V.; BARROS, M.A.L.; FREIRE, R.L.; MARTINS, L.G.G NERO, L.A.; OLIVEIRA, A.E.S. **Aspectos Microbiológicos do leite Pasteurizado tipo C Consumido na cidade de Londrina,** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINARIA 24. 1996. Goiana Anais.... Goaina. Sociedade Goaina de Veterinária, 1996p.206

BERMER, Manual L.A. **Considerações sobre o leite, In: Tecnologia do leite.** 10.ed. São Paulo, SP: Nobel S.A, 1980, cap 1, p. 15-20

BEHMER, Manual L. A. Leite In: **Como aproveitar bem o seu leite no sitio ou chacara.** 6. ed São Paulo, SP: Nobel S.A, 1984 . v1, cap, p 12-13

BOOR, K. J. et al. **Microbiological anda chemical quality of raw milk in New York State.** Journal Dair Science, v. 81, n.6, p. 1743-1748

BRASIL, Ministério da saúde. Resolução RDC nº 12 de janeiro de 2001.
Aprova o regulamento técnico sobre Padrões Microbiológicos para alimentos.
Diário oficial da união, Brasília, Brasil.

BRASIL. Presidência da República. Decreto Nº 30691 de 29 de março de 1952. Aprova o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produto de Origem Animal. **Diário Oficial da União**, 07-jul-1952.

BRASIL. Instrução Normativa nº 51, 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. **Diário oficial**, Brasil, Anexo IV, Seção I, p. 13.2002

BROCKLEHURST, T.F.e LUND, B.M. **Microbiological changes in cottage cheese varieties during storage at 7°C**, Food Microbiolog, v.2, P. 207-233, 1985

CATÃO, R.M.; CEBALLOS, B.S. Listeria spp, coliformes totais e fecais e E.Coli no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios no estado da Paraíba (Brasil). **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.2, n.13, p.281-7, set.-dez., 2001.

COLLINS, E.B. Heat resistant Psychrotrophic Microorganisms Journal of Dair Science, Baltimore, V.64, n.1, P.157-160, Jan 1981

COMPOSIÇÃO DO LEITE. **Ciência do Leite**. Disponível em:
<<http://www.cienciadoleite.com.br/composicaooleite.htm>>. Acesso em 25-mai.2008.

CORTEZ, M. A. S.; CORTEZ, N. M. S.
Qualidade do leite: boas práticas agropecuárias e ordenha higiênica
. Niterói: EDUFF. 2008, 79 p.

COUSIN, M.A. Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: a review. **Journal of Food Protection**, Dês Moines, v. 45, n. 11, p. 172-207, 1982.

DUNKLEY, W.L.; STEVENSON, K.E. Ultra high temperature processing and aseptic packaging of dairy products. **J. Dairy Sei.**, v.70, p.2192-202, 1987.

FLEET, G.H.; MIAN, M.A. The occurrence and growth of yeasts in dairy products. **International Journal of Food Microbiology**. Amsterdam: Elsevier. v.4, p.145-55, Oct., 1987.

FLEET, G. Yeasts in dairy products. **Journal of Applied Bacteriology**, England, v.68, n.3, p.199-211, 1990.

FORYTHE. S.J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002, 424p.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996, 182p.

FONSECA. L.F.L; SANTOS, M.V. **Qualidade microbiológica do leite In: Qualidade do leite e controle de Mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. p. 151-161

FURTADO, M. M. A. **Arte e a Ciência do Queijo**. 2.ed. São Paulo: Globo. 1991, 297p.

FURTADO, S. C. Leveduras: Uma fonte potencial de deterioração em alimentos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.12 n.54, p.7-9, 1998.

GILLIS, W.T.; CARTLEDGE, M.F.; RODRIGUES, LR. et al. **Effect of raw milk quality on ultra high temperature processed milk**. **J. Dairy Sei.**, v.68, p.2875-79, 1985.

GONZALES, F.D. Composição Bioquímica do Leite e Hormônios da lactação. In: GONZALES, F.D.; DURR.J.W, FONTANELI,R.S. (Eds) . **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre. RS. Grafica. UFRGS, 2001. P-5-21

GOUNOT, A.M. **Psychrophilic and psychrotrophic microorganisms**. **Nederlands Melk en Zuiveltijds**, Chicago, n.42, p.1192-1197. 1986

HARDING, F. **Compositional quality: milk quality**. Glasgow: Blackie Academic Professional, 1995. 165p.

HARTMANN, W. **Características físico químicas, microbiológicas de manejo higiene na produção de leite bovino na região oeste do Paraná: ocorrência de Listeria monocytogenes.** Tese (doutorado em tecnologia de alimentos), 88f. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

ICMSF (INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS). **Microrganismos de los alimentos 1.** Técnicas de análisis microbiológico. Zaragoza: Acribia, 1994. 804p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). **Listeria Monocytogenes.** In: **Characteristics of microbiological pathogens** London: Blackie Academic Professional, 1996. chap.8.p141-182

JAKOBSEN, M.; NARVHUS, J. Yeasts and their possible beneficial and negative effects on the quality of dairy products. **International Dairy Journal**, England, v.6, p.755-68, 1996.

JAY, J.M. **Microbiologia de Alimentos.** 6.ed. Porto Alegre: Artmed. 2005, 711p.

JODRAL,M. et al. Mycoflora and Toxigenic *Aspergillus Flavus* in Spanish milk. **International Journal of Food Microbiology** , v.18, P. 171-174, 1993

LINDMARK- MANSSON, H.; SVENSSON, U.; PAULSSON, M.; ALDEN, G.; FRANK,B .; JOHSSON,G
Influence of milk components, somatic cells and supplemental zinc on milk processability. **International Dairy Journal**, vol.10, P.423-433, 2000

LORENZETTI, D.K.I. **Influência do tempo e da temperatura no desenvolvimento de microrganismos psicrófilos no leite cru de dois estados da região sul.** Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

MACHADO, P.F e PEREIRA, A.R. Programa de análise de rebanhos leiteiros e da qualidade do leite – **ESALQ/ USP**, In: **SIMPOSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE**,1, 1998, Curitiba. Anais, UFPR, 1998.p. 85-88

MACHADO, P.F. **Pagamento por Qualidade**, In: 3º Congresso Brasileiro de Qualidade do leite. Recife: CCS. Gráfica e Editora, p.183-191, 2008

MARTINS, M.L. Diversidade de bactérias psicotróficas proteolíticas de leite e presença do gene que codifica metaloprotease alcalia. 51p. Tese (MS.)
Universidade Federal de Viçosa. 2003

MORTIMRE, S.AND WALLACE, C (1997)
HACCP. New York, NY; Chapman e Hall

NADER FILHO A., AMARAL L.A e ROSSI Jr: O.D.1997. **Características microbiológicas do leite pasteurizado tipo “integral”**, processado por algumas mini e macro-usinas de beneficiamento do Estado de São Paulo. Higiene Alimentar 11 (50): 21-23

NORNBERG, M.F.B.L.; TONDO, E.C .; BRANDELLI, A. **Bactérias psicotróficas e atividade proteolítica no leite cru refrigerado**. Acta Scientiae Veterinarias, 3(2): P.157-163, 2009

ORDONEZ, J.A **Tecnologia de Alimentos**, volume 2 editora Artmed, pg. 41-47, 2005.

PADILHA, M.R.F. et al. Pesquisa de bactérias patogênicas em leite pasteurizado tipo C comercializado na cidade do Recife, Pernambuco, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.34, n.2, p.167-171, 2001.

PANETTA, J.C. **Denúncias sobre a qualidade do leite são procedentes?**
Hig. Alim. V.13, P.3-4, 1999

PICININ, L.C. **A Qualidade do leite e da água de algumas propriedades leiteiras de Minas Gerais**; 2003. 89f.
Dissertação (Mestrado) – Universidade de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.

PICININ, L.C.A; CERQUEIRA, M.M.O.P.; SOUZA, M.R. et al.
Diagnóstico de situação da água de fazendas leiteiras de Minas Gerais.
Revisão do Instituto de Laticínios, Candido Tostes. V.56, n.321, p.301-311. 2001

PRATA, L.F. Leite UHT: solução ou problema? Uma análise da situação. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.12, n.54, p. 10-15, 1998.

REZENDE, N.C.M.; ROSSI Jr., O.D.; AMARAL, L.A. **Ocorrência de bactérias do grupo do *Bacillus cereus* em leite UHT integral** (ultra-high-temperature). *Rev. Bras. Ciên. Vet.*, v.7, p.162-166, 2000b

ROQUE, R.A SCHUMACHER, S.S.P, PAIVA, P.C. Quantificação de microrganismos psicotróficos em leites pasteurizados tipos B e C comercializados na cidade de SP. *Revista Higiene Alimentar*, v.17 n. 112, P. 59-68, set 2003.

SCHOCKEN-ITURRINO, R.P. et al. Ocorrência de bactérias esporuladas dos gêneros *Bacillus* e *Clostridium* em amostras de leite longa vida. **Higiene Alimentar**, v.10, n.42, p.25-27, 1996.

SORHAUNG, T.; STEPANIAK, L **Psychrotrophs and their enzymes in Milk and dair products: quality aspects** In **food Science e Technology**, Cambridge, v.8.p.35-40, 1997

SILVA, M. C. **Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema simplate**. 2002. Tese (Mestre em Ciências). Escola Superior de Agricultura, Universidade de São Paulo, 2002, Piracicaba. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/>>. Acesso em: 23/08/2011

TRONCO, V. M. **Manual para Inspeção da Qualidade do Leite**. 2.ed. Santa Maria: UFSM, 2002, 166p.

URAZ, G. CITAK, S. The isolation of *Pseudomonas* and other gram - pschrotrophic bacteria to dairy equipment surfaces. *Journarl of Dairy Resarch*, v. 59. p. 381-388. 1992

VIJOEN, B.C.; KNOX, A.M.; JAGER, P.H.; HATTINGH, A.L. **Development of Yeast Populations during Processing and Ripening of Blue Veined Cheese**. **Food**

WALSTRA, P.; WOUTERS, J.T.M; GEUTERS, T.J. **Dairy Science and Technology** **CRC Press**. Boca Raton. 2006. 787 p. Disponível em: <http://books.google.com.br/books?id=qxdmN8JoW-4C&printsec=frontcover&dq=WALSTRA&hl=ptBR&ei=yn>>. Acesso em:

WyDER, M.T. Yeasts in Dair Products. Federal Dairy Research Station Liebefeld . 425, p.1-21, 2001

Disponível em [http: WWW.admin.ch/sar/farm](http://WWW.admin.ch/sar/farm)> acesso em 26 de julho de 2011

ZOCCAL, R.; CARNEIRO, A.V.; JUNQUEIRA, R ZAMAGNO,M. **A nova pecuária leiteira brasileira**. In: 3º Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite. Recife: CCS Gráfica e editora , 2008, p.85-95