

## **Análise microbiológica e físico-químico do leite *in natura* refrigerado em diferentes tempos de armazenamento**

*Microbiological and physicochemical analysis of fresh milk refrigerated at different storage times*

Patrick Ferreira Cardoso<sup>1</sup>; Jéssica Ribeiro Oliveira<sup>2</sup>; Juliana Borges Pereira<sup>3</sup>

1 Zootecnista, Mestrando em Zootecnia. Universidade Estadual de Montes Claros - UNIMONTES / Campus Janaúba - MG.

E-mail: [patrick\\_cardoso007@hotmail.com](mailto:patrick_cardoso007@hotmail.com) (autor correspondente)

2 Médica Veterinária. Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM.

3 Biomédica, Mestre em Ciências. Docente no Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM.

---

**Resumo:** A manipulação adequada desempenha um papel crucial na determinação da qualidade final do leite. O processo de resfriamento é de extrema importância para o controle microbiológico e a preservação das características físico-químicas e sensoriais. Diante disso, este estudo buscou avaliar o impacto do armazenamento refrigerado do leite *in natura* no crescimento microbiológico e nas propriedades físico-químicas. As amostras de leite foram coletadas em frascos estéreis diretamente do tanque de expansão de uma fazenda leiteira localizada na região do Alto Paranaíba, MG, e transportadas para o laboratório de Microbiologia no Bloco D do Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM. As amostras foram mantidas em uma geladeira com temperatura controlada inferior a 3°C. Foram conduzidas análises de contagem de bactérias totais (CBT), contagem de bactérias psicrotróficas (CBP) e acidez titulável em intervalos de 3, 6, 12, 24 e 48 horas, com quatro repetições para cada tratamento. Os dados coletados foram submetidos a uma análise de variância, com um nível de significância de 5%. Os resultados não apresentaram diferenças significativas, embora tenham indicado um leve aumento nas bactérias psicrotróficas e uma diminuição nas bactérias mesófilas. Consequentemente, o armazenamento refrigerado do leite cru não teve impacto no crescimento microbiológico das bactérias mesófilas e psicrotróficas, nem na composição físico-química.

**Palavras-chave:** acidez; bactérias; mesófilos; psicrotróficos.

**Abstract:** Proper handling plays a crucial role in determining the final quality of milk. The cooling process is of utmost importance for microbiological control and the preservation of physicochemical and sensory characteristics. In light of this, this study aimed to assess the impact of refrigerated storage of raw milk on microbiological growth and physicochemical properties. Milk samples were collected in sterile containers directly from the expansion tank of a dairy farm located in the Alto Paranaíba region, MG, and transported to the Microbiology laboratory in Block D of the University Center of Patos de Minas - UNIPAM. The samples were kept in a refrigerator with controlled temperature below 3°C. Analyses of total bacterial count (TBC), psychrotrophic bacterial count (PBC), and titratable acidity were conducted at intervals of 3, 6, 12, 24, and 48 hours, with four repetitions for each treatment. The collected data were subjected to analysis of variance, with a significance level of 5%. The results did not show significant differences, although they indicated a slight increase in psychrotrophic bacteria and a decrease in mesophilic bacteria. Consequently, the refrigerated storage of raw milk had no impact on the microbiological growth of mesophilic and psychrotrophic bacteria or on the physicochemical composition.

**Keywords:** acidity; bacteria; mesophiles; psychrotrophic.

## INTRODUÇÃO

O leite e seus derivados estão presentes na rotina alimentar do brasileiro. O consumo no Brasil nos últimos anos sofreu uma queda significativa, de 172 litros/hab./ano em 2020 para 162 litros/hab./ano em 2022, retrocedendo aos níveis consumidos em 2010. É importante notar que esse volume ainda se encontra abaixo dos indicadores observados em outros países desenvolvidos, situando-se na faixa de 250-300 litros (RENTERO, 2018; RENTERO, 2023).

O Ministério da Saúde (2008), por meio do seu Guia Alimentar para a População Brasileira, recomenda o consumo alimentos de origem animal *in natura* ou minimamente processados, tais como leite pasteurizado, iogurtes, coalhadas e queijos. Isso se deve ao fato de que esses produtos são fontes significativas de proteínas, bem como da maioria das vitaminas e minerais essenciais para as necessidades nutricionais.

No contexto da cadeia produtiva do leite, a qualidade se revela como um fator de extrema importância. Ela garante a segurança alimentar, bem como a qualidade nutricional dos produtos para os consumidores. Além disso, contribui para a extensão da vida de prateleira e o rendimento industrial na produção de derivados lácteos (DIAS; ANTES, 2014).

Os microrganismos constituem a grande maioria dos elementos relevantes em alimentos, abrangendo a maior parte dos patógenos de interesse. Além disso, desempenham um papel fundamental na acidificação do leite, resultando em prejuízos significativos para a indústria beneficiadora (ZAFALON et al., 2008).

A contaminação microbiológica do leite cru pode ter origem na glândula mamária do bovino ou ser adquirida durante o processo de ordenha, por meio dos equipamentos e dos procedimentos de higiene (MENEZES et al., 2014). A limpeza e higienização adequadas dos equipamentos são tão essenciais quanto a higiene durante o processo de ordenha, uma vez que desempenham um papel crítico na garantia da qualidade do leite (LEIRA et al., 2018).

Os microrganismos psicotrópicos têm a capacidade de produzir enzimas proteolíticas termoestáveis e lipolíticas. Essas enzimas são secretadas no leite e estão diretamente associadas a alterações físicas, perda de qualidade e redução da vida útil do leite, mesmo após o tratamento térmico, uma vez que demonstram alta resistência (MURPHY et al., 2016; ZENI et al., 2013). Quanto mais tempo o leite permanece refrigerado sem um tratamento térmico adequado, mais propício se torna o crescimento desses microrganismos (YUAN et al., 2019).

Outro grupo de microrganismos presentes é o dos mesófilos, que exibem a capacidade de acidificação e se multiplicam significativamente em temperaturas situadas entre 25°C e 40°C. O resfriamento do leite retarda esse crescimento, o que tem um impacto direto na qualidade do produto (ZAFALON et al., 2008). A presença desse grupo pode estar associada a falhas na limpeza dos equipamentos de ordenha, rachaduras nas borrachas, a formação de biofilmes com depósitos de minerais (conhecidos como pedras de leite) nas tubulações ou tetos excessivamente sujos (Bava et al., 2011).

Conforme Vallin et al. (2009), é recomendado que o leite seja conservado na propriedade por um período máximo de até 48 horas antes de ser transportado pela empresa compradora. Isso destaca a necessidade de um armazenamento apropriado e também destaca possíveis perdas na qualidade do leite associadas ao tempo decorrido até a pasteurização do produto.

Portanto, o objetivo deste estudo foi verificar a presença de microrganismos psicrótrópicos e mesófilos, bem como avaliar as características físico-químicas do leite cru refrigerado em diferentes períodos de armazenamento. Isso é relevante, considerando a importância de pesquisas que auxiliem na compreensão das atividades dos principais microrganismos responsáveis pela deterioração do leite produzido nas propriedades leiteiras.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido em conformidade com as diretrizes éticas e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM, com o número de protocolo 107/19. A pesquisa foi realizada no Laboratório de Microbiologia, situado no Bloco D do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM), durante o período de maio a julho de 2019.

As amostras foram coletadas em uma propriedade leiteira localizada na região do Alto Paranaíba, em Minas Gerais. A coleta ocorreu imediatamente após a ordenha, diretamente no tanque de resfriamento, mantendo a temperatura abaixo de 3°C. Para a coleta, foram utilizados frascos de vidro esterilizados a

120°C. Posteriormente, as amostras foram transportadas em uma caixa térmica e armazenadas em uma geladeira com controle de temperatura, também mantida abaixo de 3°C.

Os tratamentos foram definidos da seguinte forma: o tratamento controle envolveu a análise imediata das amostras logo após a coleta. As demais amostras foram armazenadas à temperatura inferior a 3°C e submetidas a análise nos intervalos de 3, 6, 12, 24 e 48 horas após a coleta na propriedade leiteira. Para cada tratamento, foram realizadas quatro repetições, totalizando a análise de 24 amostras.

Para a preparação das análises, iniciou-se com a diluição das amostras coletadas, pipetando asepticamente 25 mL da amostra em um frasco tipo Erlenmeyer contendo 225 mL de água peptonada a 0,1%, resultando em uma diluição de 10<sup>-1</sup>. A partir dessa diluição, foram preparadas diluições decimais sucessivas variando de 10<sup>-2</sup> a 10<sup>-5</sup>, utilizando o mesmo diluente, mas em uma quantidade de 90 mL em cada diluição.

Após a etapa de diluição, as análises dos microrganismos mesófilos foram realizadas através da contagem em placas. O leite, previamente diluído em tubos de ensaio contendo água peptonada, teve 1,0 mL da diluição pipetado nas placas de Petri, que foram posteriormente semeadas em Ágar Padrão para Contagem (PCA). Após a homogeneização, as placas foram incubadas a 32°C por 48 horas para permitir a avaliação da presença de bactérias mesófilas, com a contagem expressa em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de acordo com a diluição utilizada.

Quanto à análise das bactérias psicotróficas nas amostras pré-estabelecidas, esta foi conduzida com base na metodologia de *pour plate* conforme descrito na Portaria nº 101, de 11 de agosto de 1993 (BRASIL, 1993). Neste método, 1,0 mL das diluições utilizadas foi adicionado às placas de Petri de 90 mm, às quais foram incorporados 20 mL de ágar PCA no estado líquido e posteriormente homogeneizado. As placas foram então incubadas invertidas a uma temperatura de 7°C +/- 1,5°C por um período de 10 dias.

As contagens das colônias formadas foram conduzidas manualmente, utilizando um contador de colônias. Foram selecionadas as placas com contagens que se encontravam dentro do intervalo de precisão e repetibilidade do método, ou seja, aquelas que continham de 25 a 250 colônias. Para calcular o número de Unidades Formadoras de Colônias por mililitro (UFC/mL), multiplicou-se o número de colônias em cada placa pelo inverso da diluição feita na inoculação.

Os resultados das contagens das bactérias psicotróficas foram transformados em logaritmo de base 10 (log<sub>10</sub>) e expressos em UFC/mL. Esse procedimento é comumente empregado para padronizar e comunicar as contagens microbiológicas de forma mais consistente e representativa.

Para as análises físico-químicas do leite, foi empregada a metodologia conforme apresentada na Instrução Normativa nº 68/2006 (Métodos Analíticos Físico-Químicos Oficiais para Leite e Produtos). A determinação da acidez do leite foi realizada através do

teste de Dornic. Para isso, 10 mL da amostra de leite foram transferidos para um erlenmeyer de 50 mL. Em seguida, foi adicionado 1 mL de solução alcoólica de fenolftaleína, e por meio de uma bureta contendo solução Dornic (NaOH N/9), a solução foi gotejada até que a amostra atingisse uma coloração rósea permanente. A quantidade de solução Dornic utilizada foi usada para a conversão do valor para °Dornic.

Para a análise estatística dos dados obtidos, que incluíram a contagem de bactérias totais e a acidez titulável, primeiramente, foi realizada uma análise descritiva com o propósito de eliminar dados inconsistentes. Em seguida, a análise de variância (ANOVA) foi aplicada, considerando um nível de significância de 5%. Para a análise estatística, foi utilizado o programa Microsoft Office Excel, versão 2016. Esse procedimento é fundamental para avaliar e comparar os resultados de forma confiável e significativa.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, os resultados das variáveis, incluindo a contagem de bactérias mesófilas e psicotróficas, bem como a acidez titulável, que caracterizam o leite logo após a coleta (tratamento controle) e após diferentes períodos de refrigeração, foram apresentados. Não foi observado um efeito estatisticamente significativo nos tratamentos, com um nível de significância estabelecido em P<0,05. Essa análise estatística indica que as diferenças nas variáveis medidas não foram estatisticamente relevantes entre os grupos avaliados.

**Tabela 1:** Análise da contagem de bactéria total e acidez titulável do leite refrigerado em diferentes tempos de armazenamento

Variáveis	Tratamentos (Tempo de refrigeração)						P-valor
	Controle	3	6	12	24	48	
Mesófilas (UFC/mL)	4521	2986	2893	3143	1810	1186	NS*
Psicrotróficos (UFC/mL)	825	1240	2055	2015	2460	3460	NS*
Acidez Titulável (°D)	1,77	1,74	1,77	1,77	1,78	1,83	NS*

\*NS = não significativo.

Com base nas amostras analisadas para bactérias mesófilas e psicrotróficas, os valores das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) não demonstraram diferença estatisticamente significativa e permaneceram dentro dos padrões estabelecidos para a Contagem Padrão em Placas (CBT) conforme estipulado na Instrução Normativa 76 de 2018 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, que estabelece o limite de 300 mil UFC/mL. Isso indica que as contagens de bactérias mesófilas e psicrotróficas mantiveram-se em conformidade com os regulamentos vigentes, atendendo aos padrões de qualidade estabelecidos para o leite.

Neste estudo, também se observou que as Unidades Formadoras de Colônias (UFC) nas amostras de controle apresentaram valores baixos para a Contagem Padrão em Placas (CBT). Esses valores estão correlacionados com diversos fatores, como a higiene dos tetos das vacas, a presença de mastite no rebanho, as práticas de higiene durante a ordenha, a eficiência do sistema de refrigeração, o armazenamento e o transporte do leite. Contagens elevadas de CBT podem resultar na deterioração do produto, o que conseqüentemente reduz a sua vida de prateleira, como destacado por Ribeiro Júnior et al. (2015) e Taffarel et al. (2013).

Em leites com elevada CBT, é sabido que ocorre fermentação da lactose,

o que leva a um aumento da acidez do leite. Além disso, há a produção de enzimas extracelulares de origem microbiana, como lipases e proteases, que têm o potencial de alterar o sabor e o odor do leite. Isso também pode resultar na gelatinização do leite de longa vida e na perda de consistência na formação do coágulo durante a fabricação de queijo (Taffarel et al., 2013). Portanto, a alta CBT não afeta apenas a qualidade do leite, mas também tem implicações na produção de produtos lácteos, como queijo, destacando a importância do controle da qualidade do leite desde a sua produção até o processamento.

Os resultados para as bactérias psicrotróficas apresentaram valores relativamente baixos. É importante observar que a Instrução Normativa (IN) 76 de 2018 não estabelece valores específicos para esse grupo de bactérias. No entanto, de acordo com estudos conduzidos por Nielsen (2002), a presença de bactérias psicrotróficas está diretamente relacionada a boas condições sanitárias. Elas representam apenas cerca de 10% dos microrganismos presentes no leite cru. No entanto, em situações de baixa higiene, esse grupo de bactérias pode constituir mais de 75% dos microrganismos presentes.

A refrigeração, por si só, não corrige as deficiências de higiene durante a ordenha, uma vez que essa prática pode, de fato, favorecer o

desenvolvimento de microrganismos psicrotróficos. Estes microrganismos são capazes de produzir enzimas proteases e lipases extracelulares que são termorresistentes, o que significa que elas sobrevivem ao tratamento térmico, como a pasteurização.

Essas enzimas têm a capacidade de hidrolisar diferentes tipos de caseína e, como resultado, limitam o tempo de prateleira do leite pasteurizado e de seus derivados. As lipases, em particular, atuam na formação de ácidos graxos livres, mono e diglicerídios. Isso resulta em níveis elevados de ácido butírico e caprótico, o que, por sua vez, leva ao desenvolvimento de sabores amargos e ranço no leite e em seus produtos derivados.

Portanto, a higiene adequada durante a ordenha e o manejo correto do leite são fundamentais para evitar a contaminação por microrganismos psicrotróficos e a deterioração do produto. Isso é importante tanto para a qualidade do leite quanto para a dos derivados lácteos. Os estudos mencionados de Santos (2008), Santos (2010) e Baglinière et al. (2012) destacam a influência desses microrganismos e enzimas na qualidade dos produtos lácteos.

Os resultados obtidos neste estudo corroboram com os dados encontrados por Reche et al. (2015) em sua tese. De acordo com os resultados, o tempo de armazenagem não teve um efeito significativo sobre a Contagem de Bactérias Totais (CBT) e a Contagem de Bactérias Psicrotróficas (CBP), com um valor de P maior que 0,05. Isso sugere que o leite pode ser transportado para a indústria em intervalos de até 48 horas, mantendo a qualidade microbiológica do leite em tanques de resfriamento por

expansão direta, seja em modelos de duas ou quatro ordenhas, dentro desse período.

É importante notar que a contaminação inicial do leite, que ocorre após a primeira ordenha sem resfriamento adequado, afetou significativamente tanto a CBT quanto a CBP, com um valor de P menor que 0,01. No entanto, a taxa de ocupação dos tanques de expansão não teve um impacto na CBT e na CBP, e não foi observada nenhuma interação significativa entre os fatores analisados, com um valor de P maior que 0,05.

Contudo, o estudo conduzido por Condé et al. (2020) revelou que em amostras de leite pasteurizado inoculadas com bactérias psicrotróficas proteolíticas, houve um aumento na contagem de colônias incubadas a 7,0°C ao longo dos períodos de 48 e 96 horas, com exceção da amostra inoculada com *B. cepacia*, na qual a contagem permaneceu constante ao longo do tempo.

É relevante destacar que as contagens de bactérias psicrotróficas proteolíticas foram particularmente notáveis com 96 horas de incubação, especialmente quando *P. luteola* e *A. junnii/johnsonii* foram inoculadas no leite pasteurizado. Isso sugere que essas bactérias psicrotróficas têm a capacidade de se desenvolver e proliferar em condições de refrigeração prolongada, o que pode ser preocupante para a qualidade do leite pasteurizado.

Os resultados para a acidez titulável não apresentaram diferença estatística significativa. Conforme a Instrução Normativa IN-76, a acidez titulável entre 0,14 e 0,18 gramas de ácido láctico por 100 mL, expressa em graus Dornic (14 a 18 °D), é considerada uma faixa aceitável.

No entanto, é interessante notar que Goulart et al. (2021) observaram que iogurtes produzidos a partir de leites armazenados por 72 horas apresentaram uma média maior de acidez titulável quando avaliados no dia zero, e essa diferença foi estatisticamente significativa. Marques et al. (2007) e Caldeira et al. (2010) afirmam que o aumento na acidez do leite ocorre devido à quebra da lactose em ácidos, promovendo a produção de ácido láctico pelos microrganismos presentes, o que, por sua vez, eleva a acidez do leite.

Este aumento na acidez do leite pode ocorrer devido à degradação da lactose pela ação de microrganismos presentes no leite. O leite cru de boa qualidade normalmente apresenta um pH entre 6,6 e 6,8, o que o torna levemente ácido. Esse pH é resultado dos constituintes naturalmente encontrados no leite, tais como a caseína, fosfatos, albumina, citrato e gás carbônico dissolvido (CO<sub>2</sub>), que têm um efeito tamponante (TRONCO, 1997).

## CONCLUSÃO

O tempo de armazenamento do leite cru refrigerado não apresentou interferência estatisticamente significativa no crescimento microbiológico de bactérias mesófilas e psicrotólicas, bem como na sua composição físico-química. Isso garante que, quando o leite é armazenado nas temperaturas e nos prazos estabelecidos pela IN-76, não ocorrem alterações significativas na composição e na carga microbiológica do leite.

## REFERENCIAS

TANGUY, G.; JARDIN, J.; MATÉOS, A.; BRIARD, V.; ROUSSEAU, F.; ROBERT, B.; BEAUCHER, E.; HUMBERT, G.; DARY, A.; GAILLARD, J.C.; AMIEL, C.; GAUCHERON, F. Quantitative and qualitative variability of the caseinolytic potential of different strains of *Pseudomonas fluorescens*: implications for the stability of casein micelles of UHT milks during their storage. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 135, n. 4, p. 2593-2603, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.099>.

BAVA, L.; ZUCALI, M.; SANDRUCCI, A.; BRASCA, M.; VANONI, L.; ZANINI, L.; TAMBURINI, A. Effect of cleaning procedure and hygienic condition of milking equipment on bacterial count of bulk tank milk. **Journal of Dairy Research**, [S. l.], v. 78, n. 2, p. 211-219, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1017/s002202991100001x>.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 101, de 11 de agosto de 1993**. Aprova e oficializa os métodos analíticos para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes – métodos microbiológicos determinando seu emprego em todas as atividades desenvolvidas pela rede oficial do sistema coordenado pela Coordenação Geral de Laboratório Animal - CGLA. Brasília: Diário Oficial da União, 1993.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018**. Altera a Instrução Normativa

MAPA nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Brasília: Diário Oficial da União, 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006**. Altera a Instrução Normativa MAPA nº 22, de 14 de abril de 2003. Brasília: Diário Oficial da União, 2006.

CALDEIRA, L. A.; ROCHA JÚNIOR, V. R.; FONSECA, C. M. Caracterização do leite comercializado em Janaúba - MG. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 21, n. 2, p. 191-195, 2010. Disponível em: <https://docplayer.com.br/37339662-Characterizacao-do-leite-comercializado-em-janauba-mg.html>.

CONDÉ, P. R.; PINTO, C. L. O.; GANDRA, S. O.; TREVIZANO, L. M.; CAMPOS, A. N. da R.; SILVA, R. R.; MARTINS, M. L. Ação proteolítica de bactérias psicotróficas nas caseínas do leite bovino. **Brazilian Journal of Development**, São José dos Pinhais, v. 6, n. 6, p. 40220-40236, 2020. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/12124>.

DIAS, J. A.; ANTES, F. G. **Qualidade físico-química, higiênico-sanitária e composicional do leite cru**: indicadores e aplicações práticas da instrução normativa 62. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2014. 24 p. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/125963/1/Doc-158-leite.pdf>.

GOULART, J. Q.; BARRETO, F.; MORAES, J. F. D. de; COSTA, M.; PINTO, A. T. Avaliação das características físico-químicas de iogurtes naturais produzidos a partir de leite contaminado por bactérias psicotróficas proteolíticas.

**Brazilian Journal of Development**, São José dos Pinhais, v. 7, n. 6, p. 57566-57577, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n6-250>.

LEIRA, M. H.; BOTELHO, H. A.; SANTOS, HADASSA C. A. S.; BARRETO, B. B.; BOTELHO, J. H. V.; PESSOA, G. O. Fatores que alteram a produção e a qualidade do leite: revisão. **PUBVET**, [S. l.], v. 12, n. 5, p. 01-13, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.22256/pubvet.v12n5a85.1-13>.

MARQUES, L.T.; ZANELA M.B.; RIBEIRO M.E.R.; STUMPF JR. W.; FISHER V. Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (LINA) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v. 13, n. 1, p. 91-97, 2007. Disponível em: <https://periodicos.ufpel.edu.br/index.php/CAST/article/view/1343>.

MENEZES, M. F. C.; SIMEONI, C. P.; ETCHEPARE, M. A.; HUERTA, K.; BORTOLUZZI, D. P.; MENEZES, C. R. Microbiota e conservação do leite. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, Santa Maria, v. 18, p. 76-89, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5902/2236117013033>.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação Geral da Política de Alimentação e Nutrição. **Guia alimentar para a população brasileira**: promovendo a alimentação saudável. Brasília: MS, 2008. Disponível em: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_alimentar\\_populacao\\_brasileira\\_2008.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_populacao_brasileira_2008.pdf).

- MURPHY, S. C.; MARTIN, N. H.; BARDANO, D. M.; WIDMANN, M. Influence of raw milk quality on processed dairy products: how do raw milk quality test results relate to product quality and yield?. **Journal of Dairy Science**, [S. l.], v. 99, n. 12, p. 10128-10149, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2016-11172>.
- NIELSEN, S. S. Plasmin system and microbial proteases in milk: characteristics, roles, and relationship. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 50, n. 22, p. 6628-6634, 2002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1021/jf0201881>.
- RECHE, N. L. M.; NETO, A. T.; D'OVIEDO, L.; FELIPUS, N. C.; PEREIRA, L.C.; CARDOZO, L. L.; LORENZETTI, R. G.; PICININI, L. C. A. Multiplicação microbiana no leite cru armazenado em tanques de expansão direta. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 5, p. 828-834, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20140542>.
- RENTERO, N. (ed.). **Anuário leite 2018**: indicadores, tendências e oportunidades para quem vive no setor leiteiro. São Paulo: Texto Comunicação Corporativa, 2018. Elaborado por concessão da Embrapa Gado de Leite. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/181654/1/Anuario-Leite-2018.pdf>.
- RENTERO, N. (ed.). **Anuário leite 2023**: leite baixo carbono. Juiz de Fora: Texto Comunicação Corporativa, 2023. 118 p. Elaborado por concessão da Embrapa Gado de Leite. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1154264/1/Anuario-Leite-2023.pdf>.
- RIBEIRO JUNIOR, J. C.; TAMANINI, R.; SILVA, L. C. C.; BELOTI, V. Quality of milk produced by small and large dairy producers. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 2, p. 883-888, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n2p883>.
- SANTOS, J. M. dos. **Leite cru refrigerado**: características físico-químicas, microbiológicas e desenvolvimento de microrganismos psicrótrófos. 2010. 55 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2010. Disponível em: <http://acervo.ufvjm.edu.br/jspui/handle/1/747>.
- SANTOS, M. V. O tempo de armazenamento do leite cru afeta a vida de prateleira do leite pasteurizado. **Milkpoint**, Pirassununga, 2008. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/colunas/marco-veiga-dos-santos/o-tempo-de-armazenamento-do-leite-cru-afeta-a-vida-de-prateleira-do-leite-pasteurizado-42450n.aspx>.
- SANTOS, P. A.; SILVA, M. A. P.; SOUZA, C. M.; ISEPON, J. S.; OLIVEIRA A. N.; NICOLAU E. S. Efeito do tempo e da temperatura de refrigeração no desenvolvimento de microrganismos psicrótrófos em leite cru refrigerado coletado na macrorregião de Goiânia, GO. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 10, n. 4, p. 1237-1245, 2009. Disponível em:

<https://revistas.ufg.br/vet/article/view/3522>.

TAFFAREL, L. E.; COSTA, P. B.; OLIVEIRA, N. T. E.; BRAGA, G. C.; ZONIN, W. J. Contagem bacteriana total do leite em diferentes sistemas de ordenha e de resfriamento. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 80, n. 1, p. 07-11, 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aib/a/mNC4fZsKGc9tFRwfpRt38yH/abstract/?lang=pt#>.

TRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. Santa Maria: UFSM, 1997.

VALLIN V. M.; BELOTI, V.; BATTAGLINI, A. P. P.; TAMANINI, R.; FAGNANI, R.; ANGELA, H. L.; SILVA, L. C. C. Melhoria da qualidade do leite a partir da implantação de Boas Práticas de Higiene na ordenha em 19 municípios da região central do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 181-188, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2009v30n1p181>.

YUAN, L.; SADIQ, F. A.; BURMØLLE M.; WANG, N. I.; HE, G. Insights into Psychrotrophic bacteria in raw milk: a review. **Journal of Food Protection**, [S. l.], v. 82, n. 7, p. 1148-1159, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-19-032>.

ZAFALON, L. F.; POZZI, C. R.; CAMPOS, P. F.; ARCARO, J. R. P. O.; SARMENTO, P.; MATARAZZO, S. V. **Boas práticas de ordenha**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2008. 49 p. Disponível em: <https://central3.to.gov.br/arquivo/228631/>.

ZENI, M. P.; MARAN, M. H. de S.; SILVA, G. P. R. da; CARLI, E. M de; PELEZI, S. C. Influência dos microrganismos psicrotróficos sobre a qualidade do leite refrigerado para produção de UHT. **Unoesc & Ciência - ACET**, Joaçaba, v. 4, n. 1, p. 61-69, 2013. Disponível em: <https://periodicos.unoesc.edu.br/acet/article/download/2111/pdf>.