

# Caracterização microbiológica e físico-química de leite pasteurizado destinado ao programa do leite no Estado de Alagoas

*Microbiological and physico-chemical characterization of pasteurized milk for the milk program in the State of Alagoas*

Maria Cristina Delgado da SILVA<sup>1\*</sup>, Juliana Vasconcelos Lyra da SILVA<sup>1</sup>, Alécia Cristinne Santos RAMOS<sup>1</sup>,  
Rossana de Oliveira MELO<sup>1</sup>, Juliana Omena OLIVEIRA<sup>1</sup>

## Resumo

Atualmente 17 mini usinas fazem parte do Programa do Leite no estado de Alagoas, e através de um convênio firmado entre o Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Federal de Alagoas e a Cooperativa de Laticínio de Alagoas – CPLA para monitorar a qualidade microbiológica e físico-química de leite pasteurizado tipo C, foram analisadas 348 amostras deste produto e avaliadas quanto à contagem de coliformes a 35 e 45 °C, quanto a bactérias aeróbias mesófilas, bactérias psicrótróficas e pesquisa de *Salmonella* sp., segundo metodologia convencional proposta pela Instrução Normativa nº 62/2003 do MAPA. Os parâmetros físico-químicos (acidez titulável em graus Dornic, estabilidade ao álcool, densidade a 15 °C, índice crioscópico, teor de gordura, extrato seco desengordurado e teor de proteína) foram avaliados segundo metodologia convencional recomendada pelo Instituto Adolfo Lutz. As análises de gordura, proteína e extrato seco desengordurado foram realizadas utilizando o aparelho Ekomilk, conforme recomendação do fabricante. De acordo com os resultados obtidos, 134 (38,5%) e 159 (45,7%) amostras apresentaram-se dentro dos padrões microbiológicos e físico-químicos, respectivamente, segundo a legislação em vigor. *Salmonella* sp. não foi detectada nas amostras analisadas. Recomenda-se a implantação de programas de boas práticas de fabricação e análise de perigos e pontos críticos de controle para assegurar a inocuidade deste produto.

**Palavras-chave:** leite pasteurizado; qualidade microbiológica; físico-química.

## Abstract

Nowadays, there are 17 mini-milk processing plants in the state of Alagoas attending the "Fome Zero Program". Microbial and physico-chemical qualities of their products are being monitored at the Food Microbiology Laboratory of the Federal University of Alagoas. Three hundred and forty eight samples of type C pasteurized milk were analyzed for coliforms at 35 and 45 °C; mesophilic and psychrotrophic bacteria, as well as for the presence of *Salmonella*, according to the methodologies proposed by the Ministry of Agriculture. Physico-chemical analysis parameters (acidity; stability to alcohol; density at 15 °C; freezing point; fat and protein contents and fat-free dry extract) were conducted according to the conventional methodology (Adolfo Lutz Institute). Only fat and protein contents were evaluated by using the Ekomilk apparatus. The results showed that 134 (38.5%) and 159 (45.7%) of the samples were in accordance with the parameters officially established by the Ministry of Agriculture (IN51/2002) for microbiological and physico-chemical parameters, respectively. *Salmonella* was not detected in the samples. Implementation of good manufacturing practices and HACCP programs will help improving the safety of this product.

**Keywords:** pasteurized milk; microbiological quality; physico-chemical characterization.

## 1 Introdução

Por sua composição, o leite é considerado um dos alimentos mais completos em termos nutricionais e fundamentais para dieta humana, mas pela mesma razão, constitui num excelente substrato para o desenvolvimento de uma grande diversidade de microrganismos, inclusive os patogênicos. Daí a qualidade do leite ser uma constante preocupação para técnicos e autoridades ligadas à área de saúde, principalmente pelo risco de veiculação de microrganismos relacionados com surtos de doenças de origem alimentar (LEITE JR; TORRANO; GELLI, 2000; TIMM et al., 2003).

O Governo Federal, através do Ministério do Desenvolvimento Social, desenvolveu entre outros projetos do Programa Fome Zero, o Programa do Leite, no qual há distribuição gratuita de leite pasteurizado tipo C às comunidades carentes no estado de Alagoas, e tem por finalidade não só beneficiar os consumidores de baixa renda combatendo a fome e a desnutrição, como também incentivar os pequenos produtores locais a fornecerem e produzirem leite pasteurizado com qualidade para o programa do governo. Atualmente em Alagoas são 17 mini usinas que fazem parte do Programa do Leite, fornecendo mais

Recebido para publicação em 18/12/2006

Aceito para publicação em 27/6/2007 (002162)

<sup>1</sup> Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Alagoas, Av. Durval Melo Mota, s/n, Campus Universitário, BR 104, Km 97, Tabuleiro do Martins, CEP 57072-970, Maceió - AL, Brasil, E-mail: crs@fapeal.br

\*A quem a correspondência deve ser enviada

de 55 mil litros de leite pasteurizado tipo C por dia ao governo estadual, destinados à população carente. O público-alvo são as gestantes, crianças de 6 meses a 6 anos, nutrízes até 6 meses após o parto, e idosos com 60 anos ou mais. Convém ressaltar que estes grupos de indivíduos são extremamente susceptíveis às enfermidades transmitidas por alimentos.

Diversos trabalhos realizados com leite pasteurizado em diferentes regiões do país têm enfatizado o elevado percentual de amostras fora dos padrões microbiológicos e físico-químicos estabelecidos pela legislação em vigor (FREITAS et al., 2002; TINOCO et al., 2002; MACEDO; PFLANZER JR, 2003; OLIVEIRA; NUNES; ABREU, 2003; POLEGATO; RUDGE, 2003; VIEIRA; CARVALHO, 2003; CARLOS et al., 2004; MARQUES; COELHO; SOARES, 2005). É fundamental o controle higiênico-sanitário, desde a obtenção de leite cru nas fazendas até a embalagem do produto final, pois a sua produção sob condições inadequadas de higiene torna-o veículo de transmissão de doenças à população consumidora (CARDOSO; ARAÚJO, 2003).

Hoffmann et al. (1999), analisando leite pasteurizado tipo C comercializado em São José do Rio Preto - SP, constataram que 57% do total de amostras estavam em desacordo com a legislação. Já Belmont e Lago (2004), detectaram 18,6, 25,6, e 30,2% de amostras fora do padrão microbiológico para bactérias mesófilas, coliformes a 35 °C e coliformes a 45 °C, respectivamente. A presença desses microrganismos no leite indica condições sanitárias inadequadas de processamento, que conduzem à deterioração e perda de qualidade, com conseqüente perigo à saúde humana caso confirme a presença de linhagens patogênicas.

De um modo geral, no Brasil, a contaminação de leite pasteurizado por altas contagens de microrganismos deterioradores e/ou patogênicos, tem sido atribuída a deficiências no manejo e higiene durante a ordenha, a elevados índices de mastites, a descuidos com a correta desinfecção e manutenção de equipamentos e à falta de treinamento para os colaboradores (PADILHA; FERNANDES, 1999; FRANCO et al., 2000; GUIMARÃES, 2002; CARDOSO; ARAÚJO, 2003). Além disso, há também o permanente risco deste produto servir como alvo de fraudes durante o processamento, passando a ser prejudicial à saúde do consumidor. A fraude pode ocorrer devido à adição de água ao leite, que vai alterar o seu índice de crioscopia ou mesmo a adição de qualquer outra substância que poderá também alterar outros parâmetros físico-químicos como a densidade, acidez e teor de sólidos não gordurosos (AGNESE, 2002).

As maiores preocupações quanto à qualidade físico-química do leite estão associadas ao estado de conservação, à eficiência do seu tratamento térmico e integridade físico-química, principalmente aquela relacionada à adição ou remoção de substâncias químicas próprias ou estranhas à sua composição (POLEGATO; RUDGE, 2003). A avaliação da qualidade do leite, levando-se em conta o parâmetro acidez, por meio da determinação de pH, titulação através do grau Dornic e teste de Alizarol, vem sendo bastante utilizada nos laticínios e testada por alguns pesquisadores, devido à facilidade e rapidez na sua execução (AGNESE, 2002; DONATELE; VIEIRA; FOLLY, 2003; VIEIRA; CARVALHO, 2003).

Basicamente, o leite pasteurizado, para ser considerado apto para o consumo e de boa qualidade, deve apresentar características sensoriais normais, teor de gordura original para leite integral, 3% de gordura para leite padronizado, acidez entre 0,14 a 0,18 g ac. láctico/100 mL, estabilidade ao teste de Alizarol 72% (v.v<sup>-1</sup>), densidade relativa (15/15 °C, g.mL<sup>-1</sup>) entre 1,028 a 1,034, extrato seco desengordurado mínimo de 8,4% e índice crioscópico máximo de -0,530 °H (BRASIL, 2002).

Quanto aos parâmetros microbiológicos, é permitido contagem padrão em placas (máximo de 3,0 x 10<sup>5</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>), contagem de coliformes a 35 °C (máximo de 4 NMP.mL<sup>-1</sup>) e contagem de coliformes a 45 °C (máximo de 2 NMP.mL<sup>-1</sup>) (BRASIL, 2002).

A avaliação da contaminação microbiológica de alimentos é um dos parâmetros importantes para determinar sua vida útil, e também para que os mesmos não ofereçam riscos à saúde dos consumidores. Portanto, o presente trabalho objetivou avaliar as características microbiológicas e físico-químicas de leite pasteurizado tipo C em 17 mini usinas de Alagoas (que fazem parte do Programa do Leite) e compará-las com os padrões estabelecidos pela legislação em vigor, visando a implantação de programas de qualidade e segurança alimentar.

## 2 Material e métodos

### 2.1 Coleta de amostras

Foram realizadas visitas mensais pelos pesquisadores em 17 mini usinas durante o período de 12 meses para coleta "in loco" de amostras de leite pasteurizado tipo C. Após a coleta, as amostras eram acondicionadas em caixas de isopor com gelo e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Federal de Alagoas, para análise imediata. Foram analisadas 348 amostras, quanto aos parâmetros físico-químicos e microbiológicos, e comparadas com padrões estabelecidos pela legislação em vigor (BRASIL, 2002).

### 2.2 Condições das mini usinas

A maioria das mini usinas participantes desta pesquisa afirmava ter Manual de Boas Práticas de Fabricação elaborado, e aquelas produtoras de leite pasteurizado tipo C padronizado são fiscalizadas pelo Serviço de Inspeção Federal. O sistema de pasteurização da maioria delas é realizado em trocadores de calor de placas, e todas realizavam análises físico-químicas de rotina na plataforma de recebimento de leite cru, contudo, apenas algumas possuíam laboratório próprio no laticínio e monitoravam efetivamente o produto final.

### 2.3 Método de análises

#### *Análises físico-químicas*

Os parâmetros físico-químicos avaliados foram: acidez titulável em graus Dornic, estabilidade ao álcool, determinação de densidade a 15 °C e determinação do índice crioscópico, segundo metodologia convencional recomendada pelo Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005). As análises referentes ao teor de

gordura, determinação do extrato seco desengordurado e teor de proteína foram determinadas por método rápido utilizando o aparelho EKOMILK, conforme recomendação do fabricante.

#### Análises microbiológicas

As amostras foram submetidas à pesquisa de *Salmonella* sp., determinação do Número Mais Provável (NMP) de Coliformes a 35 °C e Coliformes a 45 °C, Contagem total de bactérias aeróbias mesófilas e Contagem total de bactérias aeróbias psicotróficas, segundo metodologia recomendada pelo Ministério da Agricultura (BRASIL, 2003).

### 3 Resultados e discussão

De acordo com os resultados obtidos pode-se observar que das 348 amostras analisadas, 194 (55,7%), 182 (52,3%), 87 (25,0%) e 16 (4,6%) apresentaram contagens de coliformes a 35 °C, coliformes a 45 °C, contagem de bactérias mesófilas e contagem de psicotróficas acima do permitido pela legislação em vigor (BRASIL, 2002), respectivamente (Figura 1). Segundo os padrões legais exigidos pela Instrução Normativa nº 51 do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 2002), o leite pasteurizado tipo C deve apresentar máximo de 4 NMP.mL<sup>-1</sup> de coliformes a 35 °C, 2 NMP.mL<sup>-1</sup> de coliformes a 45 °C, 3 x 10<sup>5</sup> UFC.mL<sup>-1</sup> de bactérias aeróbias mesófilas e 3 x 10<sup>5</sup> UFC.mL<sup>-1</sup> de bactérias psicotróficas.

Esses resultados indicam processamento inadequado e/ou recontaminação pós-processamento, sendo as causas mais freqüentes aquelas provenientes da matéria-prima, equipamento sujo ou manipulação sem cuidados de higiene.

Considerando que os coliformes são destruídos na pasteurização, a presença destes em leite pasteurizado indica a necessidade de uma ação mais efetiva no controle do tempo e temperatura do pasteurizador, na seleção de fornecedores de leite cru e na sanitização de equipamentos que entram em contato com o leite após pasteurização. Pode-se observar durante a realização das visitas às mini usinas a inexistência de manutenção preventiva e calibração de equipamentos, bem

como descuidos no monitoramento do pasteurizador. Esses controles são fundamentais para evitar a proliferação microbiana naturalmente presente neste alimento.

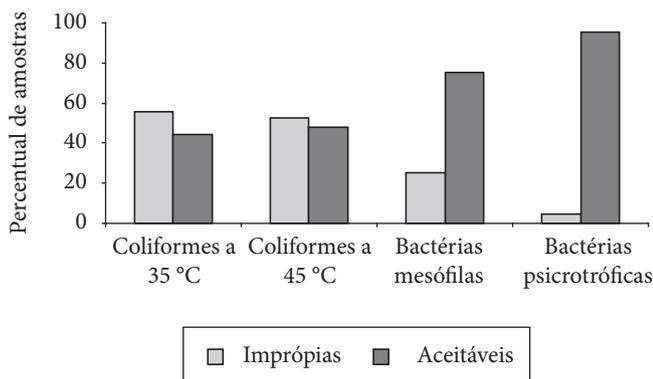
O perfil de contaminação encontrado nesta pesquisa assemelha-se aos obtidos por Oliveira, Nunes e Abreu (2003) e Andurand et al. (2004), que detectaram contaminação por coliformes a 45 °C em 47,5 e 44% das amostras de leite pasteurizado tipo C comercializadas em Terezina - PI e em Recife - PE, respectivamente. Já Polegato e Rudge (2003), evidenciaram elevada contagem de coliformes a 45 °C em 93% das amostras de leite produzidas por mini usinas da Região de Marília, São Paulo.

Os grupos de bactérias mesófilas e psicotróficas também foram utilizados como indicadores para avaliar as condições sanitárias de processamento de leite pasteurizado tipo C, produzido pelas 17 micro usinas alagoanas. A contagem de bactérias aeróbias mesófilas variou de 10 a 10<sup>9</sup> UFC.mL<sup>-1</sup> e a de bactérias psicotróficas variou de 10 a 10<sup>6</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>. Estes resultados concordam com os obtidos por Freitas et al. (2002), que detectaram contagens elevadas de bactérias aeróbias mesófilas em amostras de leite pasteurizado tipo C comercializadas em Belém. Polegato e Rudge (2003) verificaram contaminação em 94% das amostras de leite pasteurizado analisadas.

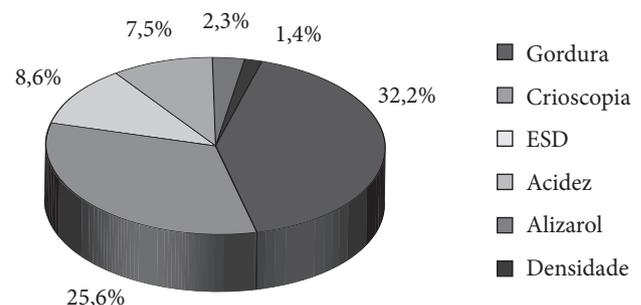
Com relação à contaminação por bactérias psicotróficas, foi detectado um percentual de 4,6% de amostras que não atenderam aos padrões microbiológicos (Figura 1), enquanto outros pesquisadores reportaram contaminação em 20% das amostras comercializadas no Rio de Janeiro (SILVA et al., 2001). Já Belmont e Lago (2004) encontraram percentual de 3,3% para leite do mesmo tipo. Essas contagens foram utilizadas para avaliar o grau de deterioração de alimentos refrigerados, indicando armazenamento inadequado após a pasteurização.

*Salmonella* sp. não foi detectada nas amostras analisadas. Resultados semelhantes foram obtidos por vários pesquisadores (TESSARI; CARDOSO, 2002; MACEDO; PFLANZER JR., 2003; MARQUES; COELHO JR.; SOARES, 2005). Já Hoffman et al. (1999) evidenciaram a presença deste microrganismo em 21% das amostras do leite pasteurizado tipo C comercializado em São José do Rio Preto - SP.

Além da importância de avaliar a qualidade microbiológica de amostras de leite pasteurizado destinadas à população carente, é fundamental verificar a ocorrência de fraudes econômicas e o estado de conservação das amostras através de análises físico-químicas, conforme representado na Figura 2.



**Figura 1.** Distribuição da contagem de coliformes a 35 °C, coliformes a 45 °C, contagem de mesófilas e contagem de psicotróficas em amostras de leite pasteurizado tipo C destinado ao Programa do Leite em Maceió - AL.



**Figura 2.** Percentual de amostras fora do padrão quanto às análises físico-químicas, segundo a legislação em vigor.

De acordo com a legislação em vigor, 112 (32,2%), 89 (25,6%), 30 (8,6%), 26 (7,5%), 8 (2,3%) e 5 (1,4%) amostras analisadas quanto ao teor de gordura, índice de crioscopia, extrato seco desengordurado, acidez, teste de alizarol e densidade, respectivamente, não atenderam aos padrões físico-químicos, segundo a Instrução Normativa nº 51/2002 (BRASIL, 2002). Esses resultados demonstraram que os maiores problemas se referem à padronização do teor de gordura para o leite pasteurizado tipo C, seguido da fraude de adição de água e, conseqüentemente, uma diminuição no extrato seco desengordurado. Convém ressaltar, que para as mini usinas produtoras de leite pasteurizado tipo C padronizado fiscalizadas pelo Serviço de Inspeção Federal é obrigatória a padronização do teor de gordura do leite para  $3\% \pm 0,1$ , conforme recomendação da legislação vigente (BRASIL, 2002). Verificou-se, portanto, nessas empresas, falhas quanto à calibração e manutenção preventiva de equipamentos, além de algumas não possuírem padronizadora, o que é fundamental para garantir esse teor de gordura no leite.

O índice de crioscopia corresponde ao ponto de congelamento do leite e, portanto, indica se houve adição de água ou não. Essa fraude também foi evidenciada por Polegato e Rudge (2003) em amostras de leite comercializadas no estado de São Paulo. Esses resultados mostram claramente a falta de compromisso por parte de muitos produtores de leite, pois além de não ter um fornecedor que garanta a qualidade da matéria-prima, a fraude é evidente e o controle ainda é ineficiente na plataforma para recepção de leite cru na indústria beneficiadora. Daí a elevada incidência de amostras de leite pasteurizado tipo C que não atendem à legislação vigente (BRASIL, 2002).

O parâmetro acidez foi avaliado por meio de titulação através de graus Dornic e do teste em álcool a 72 °GL (Alizarol), os quais ainda são bastante utilizados pelas mini usinas de laticínios, principalmente devido à facilidade e rapidez na sua execução. Das amostras analisadas 8 (2,3%) apresentaram-se com instabilidade ao teste de alizarol, e 26 (7,5%) com acidez Dornic fora dos padrões exigidos pela legislação, que preconiza limite de 0,14 a 0,18 g de ácido láctico/100 mL (BRASIL, 2002). Esses resultados indicam que provavelmente não houve uma refrigeração imediata logo após a pasteurização, ou ainda devido à falta de higiene durante a produção. Segundo OLIVEIRA, NUNES e ABREU (2003), a acidez elevada no leite pode ser resultado da acidificação da lactose, provocada pela multiplicação de microrganismos deterioradores e/ou patogênicos.

Vários pesquisadores (AGNESE, 2002; DONATELE; VIEIRA; FOLLY, 2003; OLIVEIRA; NUNES; ABREU, 2003) têm avaliado as características físico-químicas de amostras de leites crus e pasteurizados comercializadas em diversos estados do nordeste, utilizando os parâmetros de acidez em graus Dornic e o teste de alizarol como indicativos de qualidade.

A densidade do leite deve apresentar-se entre 1,028 e 1,034, segundo recomendação da legislação vigente (BRASIL, 2002). Valores abaixo dessa faixa podem indicar adição de água, e valores acima, fraude por adição de outras substâncias ou desnatado do leite (POLEGATO; RUDGE, 2003). De acordo com os resultados obtidos (Figura 1), 1,4% das amostras de leite apresentaram-se fora dos padrões físico-químicos (BRASIL, 2002).

Considerando o total de amostras analisadas, 134 (38,5%) e 159 (45,7%) apresentaram-se dentro dos padrões em relação às análises microbiológicas e físico-químicas, respectivamente.

Vale ressaltar que essas amostras são destinadas ao Programa do Leite no Estado de Alagoas e, portanto, seus fornecedores têm o dever de produzir alimento seguro e com qualidade, não somente pelo valor nutricional, como também no aspecto de higiene. Este fato é de particular importância, pois o público-alvo deste programa é bastante suscetível a enfermidades transmitidas por alimentos.

A qualidade microbiológica deficiente do produto indica que este monitoramento é uma etapa importante, concomitantemente à implantação de ações corretivas. A implantação de programas de boas práticas de fabricação e análise de perigos e pontos críticos de controle irá permitir que seja assegurada a inocuidade do produto.

#### 4 Conclusões

Do total de amostras analisadas, 134 (38,5%) e 159 (45,7%) apresentaram-se dentro dos padrões quanto às análises microbiológicas e físico-químicas, respectivamente.

Dentre as características físico-químicas avaliadas, verificou-se que a falta de padronização do teor de gordura e a fraude em relação à adição de água no leite foram os principais problemas.

As amostras de leite apresentaram-se com elevada contagem de coliformes a 35 °C, coliformes a 45 °C, contagem de bactérias mesófilas e contagem de psicrotólicas em 194 (55,7%), 182 (52,3%), 87 (25,0%) e 16 (4,6%), respectivamente, indicando contaminação após o processamento ou tratamento térmico insuficiente, uma vez que estes microrganismos são eliminados ou reduzidos a um nível aceitável quando realizado tratamento térmico adequado.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem à Cooperativa de Laticínio de Alagoas, pelo fornecimento de amostras e apoio financeiro, e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas, pela concessão de bolsa de iniciação científica e auxílio à pesquisa, indispensável na execução deste trabalho.

#### Referências bibliográficas

- AGNESE, A. P. Avaliação físico-química do leite cru comercializado informalmente no município de Seropédica, Rio de Janeiro. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 94, p. 58-61, 2002.
- ANDURAND, M. D. T. B. et al. Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química de leite pasteurizado tipo "C", fornecido às creches municipais da cidade do Recife. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 19, 2004. Recife, RS **Anais...** Recife, 2004.
- BELMONTE, E. A.; LAGO, N. C. M. R. **Pesquisa de Microrganismos Indicadores em Leite Pasteurizado Integral Comercializados nas Cidades de Ribeirão Preto e Sertãozinho, SP**. Disponível em: < <http://www.cbql.com.br/congresso/trabalhos/resumos94CBQL.pdf>>. Acesso em: 15 jun. 2005.

- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA). Instituto Adolfo Lutz. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. Brasil: Ministério da Saúde, 2005. p. 819-877.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova e oficializa o Regulamento Técnico de identidade e qualidade de leite pasteurizado tipo C refrigerado. **Diário Oficial da União**, Brasília, 20 de setembro de 2002. Seção 1.
- BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (DISPOA). Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da União**, Brasília, 26 de agosto de 2003. Seção 1.
- CARDOSO, L.; ARAÚJO, W. M. C. Parâmetros de qualidade em leite comercializados no Distrito Federal, no período 1997-2001. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 114-115, p. 34-40, 2003.
- CARLOS, L. A. et al. Avaliação físico-química, microbiológica e de resíduos de pectina, em leite tipo C comercializado no município de Campos dos Goytacazes, RJ. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 123, p. 57-61, 2004.
- DONATELE, D. M.; VIEIRA, L. F. P.; FOLLY, M. M. Relação do teste de Alizarol 72% (v/v) em leite “in natura” de vaca com acidez e contagem de células somáticas: Análise Microbiológica, **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 110, p. 95-100, 2003.
- FRANCO, R. et al. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de leite e derivados. **Revista Higiene Alimentos**, São Paulo, v. 11, n. 68, p. 70-77, 2000.
- FREITAS, J. A. et al. Características físico-químicas e microbiológicas do leite fluido exposto ao consumo na cidade de Belém, Pará. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 100, p.89-95, 2002.
- GUIMARÃES, R. Importância da matéria-prima para a qualidade do leite fluido de consumo. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 102-103, p 25-34, 2002.
- HOFFMAN, F. L. et al. Microbiologia do leite pasteurizado tipo C, comercializado na região de São José do Rio Preto-SP. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 65, p. 55,1999.
- LEITE JR, A. F. S.; TORRANO, A. D. M.; GELLI, D. S. Qualidade microbiológica do leite tipo C pasteurizado, comercializado em João Pessoa, Paraíba. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 74, p. 45-49, 2000.
- MACEDO, R. E. F.; PFLANZER JR, S. B. Avaliação microbiológica do leite pasteurizado tipo “C” comercializado na região metropolitana de Curitiba. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 5, 2003, Campinas. **Anais...** Campinas, 2003.
- MARQUES, M. S.; COELHO JR, L.B.; SOARES, P. C. Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado tipo C processado no estado de Goiás. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO E VII BRASILEIRO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, 2, 2005, Búzios. **Anais...** Búzios, v. 19, n. 130, 2005.
- OLIVEIRA, M. M. A.; NUNES, I. F. Análise microbiológica e físico-química do leite pasteurizado tipo “C” comercializado em Terezina, PI. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 111, p. 92-94, 2003.
- PADILHA, M. R. F.; FERNANDES, Z. F. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária do leite tipo C comercializado no Recife-PE. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 61, p. 105-109, 1999.
- POLEGATO, E. P. S.; RUDGE, A. C. Estudo das características físico-químicas e microbiológicas dos leites produzidos por mini-usinas da região de Marília – São Paulo/ Brasil. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 110, p. 56-63, 2003.
- SILVA, Z. N. et al. Isolation and serological identification of enteropathogenic *Escherichia coli* in pasteurized milk in Brazil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 35, n. 4, p. 375-9, 2001.
- TESSARI, E. N. C.; CARDOSO, A. L. S. P. C. Qualidade microbiológica do leite tipo “A” pasteurizado, comercializado em cidade de Descalvado, SP. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 96, p. 65-68, 2002.
- TIMM, C. D. et al. Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado integral, produzido em micro-usinas da região sul do Rio Grande do Sul. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 106, p. 100-104, 2003.
- TINOCO, A. L. A. et al. Estudo microbiológico comparativo de leites pasteurizados em estabelecimentos com inspeção federal e em fazendas. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 96, p. 88-93, 2002.
- VIEIRA, T. R. L.; CARVALHO, M. G. X. Características microbiológicas e físico-químicas e condições higiênico-sanitárias do leite pasteurizado tipo “C” comercializados na cidade de Patos - PB. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 20, 2003, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Central Formulários, v. 58, n. 333, p. 201-203, 2003.