

**BACTÉRIAS PSICROTRÓFICAS EM LEITE CRU REFRIGERADO**  
**Psychrotrophic bacteria in raw milk refrigerated**

Fabíola Fonseca ÂNGELO<sup>1</sup>  
Cláudia de Souza RIBEIRO<sup>2</sup>  
Larissa de OLIVEIRA<sup>2</sup>  
Tatiane Ferreira de ARAUJO<sup>3</sup>  
Haissa Roberta CARDARELLI<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Médica Veterinária, Professora Adjunta I da Universidade Federal da Paraíba. [fabiolangelo@yahoo.com.br](mailto:fabiolangelo@yahoo.com.br). Distrito Industrial de Mangabeira, Via Local, s/n. Quadra 252, Lote 501 58055-000-João Pessoa, PB-Brasil. Email:

<sup>2</sup> Biomédica Autônoma.

<sup>3</sup> Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos. [tatiane\\_bio@yahoo.com.br](mailto:tatiane_bio@yahoo.com.br)

<sup>4</sup> Professora Adjunta I da Universidade Federal da Paraíba. [hrcarda@gmail.com](mailto:hrcarda@gmail.com)



## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi verificar a qualidade microbiológica de amostras de leite cru de tanques refrigerados recebidos por uma Cooperativa localizada no Estado de Minas Gerais. Amostras de quatro tanques de refrigeração coletivos e quatro tanques de refrigeração individuais foram coletadas e analisadas para a presença de bactérias psicrotóficas. Coletaram-se duas amostras de cada um dos tanques, sendo as mesmas em seguida plaqueadas em duplicata em Ágar Padrão para Contagem (PCA) utilizando-se a metodologia de *pour plate*. Após dez dias de incubação a 7°C as placas foram analisadas. Na análise dos tanques comunitários as contagens variaram de  $10^3$  a  $10^5$  Unidades Formadoras de Colônias (UFC)  $\text{mL}^{-1}$ , enquanto que para os tanques individuais a variação foi de  $10^1$  a  $10^4$  UFC  $\text{mL}^{-1}$ . Embora alguns estudos demonstrem que as contagens acima de  $10^6$  UFC  $\text{mL}^{-1}$  é que podem interferir com a qualidade do leite e derivados, um monitoramento contínuo de boas práticas para prevenir a contaminação e multiplicação microbiana no leite deve ser implementado a fim de garantir a produção de leite de maior qualidade e evitar perdas para os produtores. Termos de indexação: refrigeração; Instrução Normativa 62; qualidade microbiológica; temperatura.

## ABSTRACT

The objective of this work involved to monitoring microbiological quality of raw milk samples from refrigerated tanks received at a Minas Gerais state`s cooperative. Milk samples were collected from four collective and four individuals refrigerated containers and psychrotrophic bacteria were enumerated. Two samples of each tank were collected and pour plated in duplicate using Plate Count Agar (PCA). After 10 days of incubation at 7°C the plates were counted. Psychrotrophic bacterial numbers varied from  $10^3$  to  $10^5$  colony forming units (CFU)  $\text{mL}^{-1}$  and from  $10^1$  to  $10^4$  CFU  $\text{mL}^{-1}$  for collectives and individuals tanks, respectively. Although some studies demonstrated that more than  $10^6$  CFU  $\text{mL}^{-1}$  are need to altering the quality of milk and milk products, it is suggested a continuous monitoring of good manufacturing practices in order to prevent the psychrotrophic bacterial contamination and multiplication in milk, therefore, to



guarantee the microbiological quality of milk and to avoid significant farmers' economic losses.

Index terms: refrigeration; Normative Instruction 62; microbiology quality; temperature.



## 1. INTRODUÇÃO

A Instrução Normativa 62/2011 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, estabelece a refrigeração do leite a 4 °C e seu armazenamento na propriedade rural por um período máximo de 48 horas. Essa exigência visa à diminuição da multiplicação de micro-organismos mesófilos. No entanto, as bactérias psicrotóxicas, caracterizadas pela capacidade de desenvolver-se à temperaturas de refrigeração podem estar presentes e serem as responsáveis pela deterioração do leite cru refrigerado e de seus derivados (ARCURI et al., 2008; BRASIL, 2011)

A granelização, embora tenha possibilitado a melhoria da qualidade do leite recebido pela indústria, pela diminuição da multiplicação de micro-organismos mesófilos, os quais aumentam a acidez do leite, prejudicando seu beneficiamento, a estocagem do leite a temperaturas de refrigeração tem substituído a microbiota de bactérias deteriorantes mesofílicas por uma microbiota de bactérias psicrotóxicas, já que esta temperatura não é capaz de controlar o desenvolvimento desses micro-organismos (ALMEIDA, 1999; SANTANA et al., 2001; SANTOS e FONSECA, 2001; ARCURI, 2003).

Os psicrotóxicos são micro-organismos capazes de se multiplicarem a baixas temperaturas (< 7°C), embora sua temperatura ótima de crescimento seja maior. Não constituem um grupo taxonômico específico, pois estão distribuídos em aproximadamente 15 gêneros distintos. São encontrados no leite em decorrência de falhas nos procedimentos de limpeza e sanitização durante a produção e são na maioria bactérias Gram negativas dos gêneros *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, embora algumas Gram positivas como as pertencentes aos gêneros *Micrococcus*, *Bacillus*, *Lactobacillus* e *Arthrobacter* também façam parte desse grupo (THOMAS e THOMAS, 1973; COUSIN, 1982; SUHREN, 1989; BRITO et al., 2000; SANTOS e FONSECA, 2001; HANTSIS-ZACHAROV e HALPERN, 2007; ARCURI et al., 2008). Segundo Stulova et al. (2010), 50% das bactérias psicrotóxicas presentes em



leite cru refrigerado pertencem ao gênero *Pseudomonas*, sendo *Pseudomonas fluorescens* a espécie predominante.

Embora represente menos de 10% da microbiota inicial, em condições adequadas de higiene, a população de psicotróficos pode alcançar níveis elevados com uma condição higiênica precária e/ou com um elevado número de células somáticas. Por esta razão, a contagem de psicotróficos em leite cru pode atingir mais de 90% da população bacteriana total (SAMARŽIJA et al., 2012; GARGOURI et al., 2013).

Além da capacidade de desenvolver-se às temperaturas de refrigeração, bactérias psicotróficas possuem habilidade de produzir enzimas hidrolíticas termorresistentes, as quais retêm de 30 a 100% de sua atividade enzimática após tratamento térmico de pasteurização e de Ultra Alta Temperatura (UAT) (COUSIN, 1982; SORHAUG e STEPANIAK, 1997; NORBERG et al., 2009; SAMARŽIJA et al., 2012).

As enzimas termorresistentes, principalmente lipases e proteases, são a grande preocupação, pois reduzem rendimento de fabricação de queijos, limitam a vida de prateleira, alteram sabores, odores e aparência. As proteases possuem atividade hidrolítica em várias frações de caseína, sendo a caseína facilmente degradada, devido sua estrutura não helicoidal. A k-caseína localizada na superfície da micela de caseína quando hidrolisada causa desestabilização da micela, podendo levar a coagulação e alterações nas características organolépticas do leite. Já as lipases, podem hidrolisar os fosfolipídios presentes na camada dos glóbulos de gordura, havendo a formação de ácidos graxos livres, mono e diglicerídios, resultando em altos níveis de ácido butírico e capríco, causando o sabor de ranço no leite e seus derivados. Além disso, estima-se perda de aproximadamente 10% de proteína e gordura do leite pela presença de psicotrófico (BRITO et al., 2000; HANTSIS-ZACHAROV e HALPERN, 2007).

Com isso, torna-se imprescindível assegurar a adoção de boas práticas de produção para limitar a contaminação (CHAMPAGNE et al., 2000; BRITO e PORTUGAL, 2003; MIGUEL et al., 2007). Desse modo, os micro-organismos indicadores ideais para avaliação da qualidade microbiológica de leite refrigerado são os psicotróficos, já que a contagem de mesófilos quando não há boas prática implantadas, pode subestimar o número real de micro-organismos presentes no leite (SANTANA et al., 2001; ARCURI et al., 2008).



O objetivo desse trabalho foi de quantificar bactérias psicotróficas de leite cru refrigerado em tanques de refrigeração coletivos e tanques de refrigeração individuais.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de leite cru foram coletadas de quatro tanques individuais (A, B, C e D) e quatro tanques coletivos (E, F, G e H) em propriedades de Associados da indústria de laticínio - Cooperativa Agropecuária de São João Nepomuceno no município de São João Nepomuceno, MG. Após agitação do leite no tanque coletaram-se cerca de 500 mL de leite utilizando-se coletor de aço inoxidável e frascos estéreis. Em seguida as amostras foram transportadas em caixas isotérmicas a uma temperatura média de 5 °C para o Laboratório de Microbiologia da Universidade Presidente Antônio Carlos, Campus VI e imediatamente analisadas. Para todos os tanques as amostras foram coletadas em duplicata.

A contagem foi realizada após as amostras serem submetidas a diluições seriadas até  $10^{-4}$  em água peptonada estéril (0,1%). De cada diluição retirou-se uma alíquota de 0,1 mL plaqueando-a, por meio da técnica de *pour plate* em placas contendo meio de cultura Ágar Padrão para Contagem (PCA). As análises foram feitas em duplicata, seguindo sua incubação à 7°C por 10 dias. Os resultados foram expressos em UFC mL<sup>-1</sup>, considerando as diluições com número de colônias entre 25 e 250 (SILVA et al., 2007).

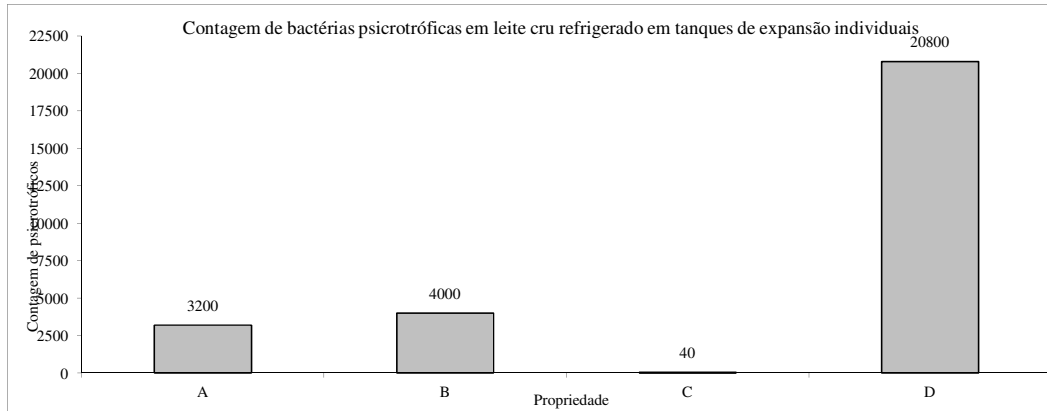
## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As contagens de bactérias psicotróficas foram diferentes para os dois grupos de tanques comunitários, sendo esses classificados de acordo com o número de bactérias psicotróficas em tanques com baixa contaminação (<50.000 UFC mL<sup>-1</sup>) ou tanques com alta contaminação (>50.000 UFC mL<sup>-1</sup>), de acordo com Molineri et al. (2012).

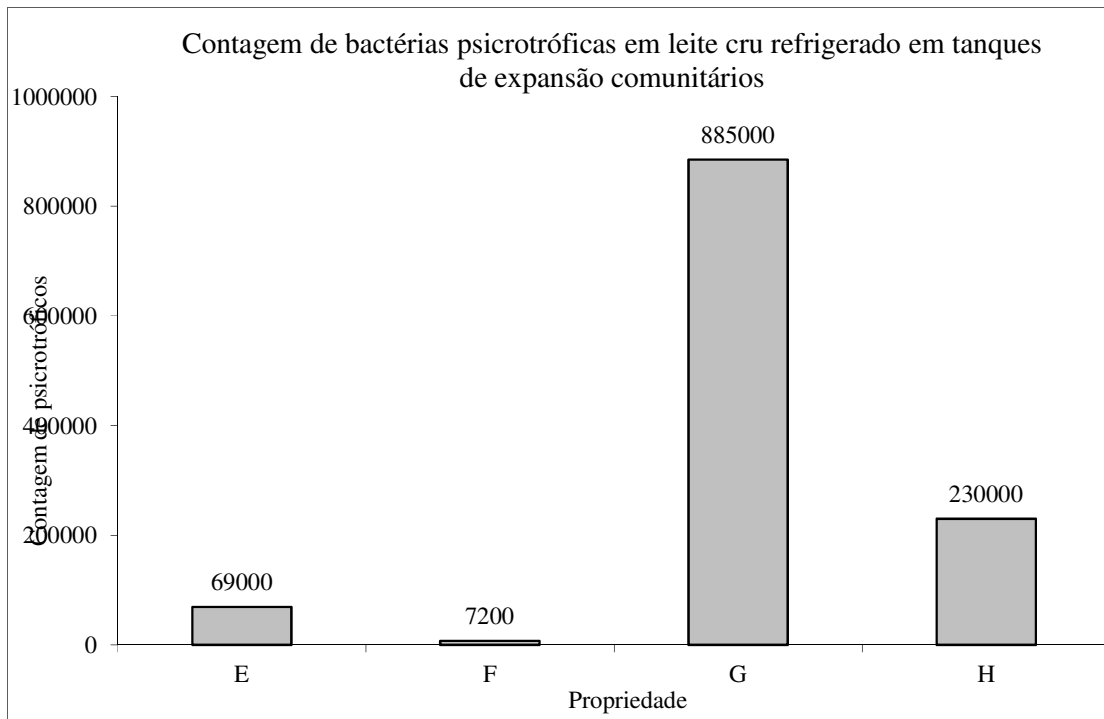
Enquanto a média de cada um dos tanques individuais não atingiu 50.000 (5,0 X 10<sup>4</sup>) UFC mL<sup>-1</sup>, classificando-os como de baixa contaminação, para dois dos tanques



comunitários observaram-se contagens acima de  $5,0 \times 10^5$  UFC mL<sup>-1</sup>, sendo esses considerados de elevada contaminação (Figuras 1 e 2).



**Figura 1** – Contagem de bactérias psicrotróficas em leite cru refrigerado em tanques de expansão individuais.



**Figura 2** - Contagem de bactérias psicrotróficas em leite cru refrigerado em tanques de expansão comunitários.

De acordo com Hantsis-Zacharov e Halpern (2007) e Gaucher et al. (2008), o limite máximo de psicrotófos no leite cru que não interferiria na sua qualidade seria de até  $10^6$  UFC mL<sup>-1</sup>, enquanto para Cempírkova e Mikulová (2009) o limite



considerado como de segurança o de  $5,0 \times 10^5$  UFC mL<sup>-1</sup>. Embora não haja na legislação brasileira limites para a presença desse grupo microbiano no leite, estudos têm demonstrado que as proteases termoestáveis produzidas mesmo por baixo número de *Pseudomonas fluorescens* podem ativar o sistema plasmina no leite e acelerar a proteólise em queijos (STULOVA et al., 2010; DE JONGHE et al., 2011).

No presente trabalho observou-se que as contagens de bactérias psicrófilas no leite de tanques de refrigeração individuais variaram de  $4,0 \times 10^1$  UFC mL<sup>-1</sup> a  $2,1 \times 10^4$  UFC mL<sup>-1</sup>, sendo que apenas uma amostra encontrou-se na ordem de  $10^4$  UFC mL<sup>-1</sup> (Amostra D). Para os tanques de refrigeração comunitários, a variação foi de  $7,2 \times 10^3$  UFC mL<sup>-1</sup> a  $8,8 \times 10^5$  UFC mL<sup>-1</sup>, tendo dois tanques obtendo contagens na ordem de  $10^5$  UFC mL<sup>-1</sup>.

Stulova et al. (2010) ao analisarem leite cru refrigerado de tanques comunitários, encontraram resultados semelhantes ao do presente estudo, entre  $10^3$  a  $10^4$  UFC mL<sup>-1</sup>. Por outro lado, Pinto et al. (2006), ao realizarem contagens de psicrófilas em leite cru refrigerado de tanques individuais verificaram contagens na ordem de  $10^7$  UFC mL<sup>-1</sup> e de cerca de  $10^6$  UFC mL<sup>-1</sup> para os tanques coletivos.

Arcuri et al. (2008) apesar de terem encontrado contagens para os dois tipos de tanques (individuais e coletivos), entre  $10^2$  e  $10^7$  UFC mL<sup>-1</sup>, observaram que a maioria dos tanques individuais apresentaram contagens abaixo de  $10^5$  UFC mL<sup>-1</sup> (baixa contaminação) e que os tanques coletivos apresentaram contagens acima de  $10^5$  UFC mL<sup>-1</sup> (elevada contaminação).

Os resultados apresentados pelo presente trabalho e por Arcuri et al. (2008) indicam que o leite de tanques de refrigeração comunitários apresentam contagens mais elevadas que o leite de tanques individuais, sendo aqueles, normalmente, classificados como de elevada contaminação. Ainda, observam-se nesses trabalhos, que o número de bactérias psicrófilas quantificadas variam entre si.

Bactérias psicrófilas são, normalmente, encontradas em água contaminada, solo e vegetação. Assim, as variações de contagens encontradas para as diferentes propriedades, assim como para os dois grupos de tanque, podem estar relacionadas às condições de ordenha, de manejo, de higiene e de armazenamento do leite cru de cada propriedade, havendo nos tanques de expansão comunitários um somatório das falhas





individuais, comprometendo a qualidade final do produto (BUENO et al., 2004; MARTINS et al., 2008, ARCURI et al., 2008; MOLINERI et al., 2012).

O armazenamento do leite cru sob refrigeração, possibilita a redução de custos operacionais de produção e evita perdas dessa matéria-prima pela atividade acidificante de bactérias mesofílicas. Entretanto, as temperaturas baixas e o armazenamento por períodos prolongados podem resultar em queda de qualidade dos produtos lácteos e redução significativa na vida de prateleira dos derivados lácteos, especialmente quando as contagens iniciais são elevadas (COUSIN e BRAMLEY, 1981; SANTOS e BERGMAN, 2003; MARTINS et al., 2005; CORRÊA et al., 2011; IZIDORO et al., 2013)).

A baixa contagem de psicotróficos no leite é de fundamental importância para sua qualidade, visto que a produção de enzimas termorresistentes, como proteases e lipases, e a atividade metabólica desses micro-organismos e das enzimas levam a alterações bioquímicas nos constituintes do leite (NADER FILHO et al., 1982; AMIOT, 1991; HAYES, 1993; GERMANO e GERMANO, 2001).

#### 4. CONCLUSÃO

O leite cru refrigerado em tanques de expansão individuais apresentaram contagens de psicotróficos menores que em tanques de expansão comunitários e, variaram entre si. Essas variações de contagens entre as amostras podem estar relacionadas às condições de ordenha e armazenamento do leite cru de cada propriedade, havendo nos tanques de expansão comunitários um somatório das falhas individuais. Contagens elevadas de psicotróficos podem interferir diretamente na qualidade do leite e dos produtos finais, devendo haver um controle rigoroso da limpeza e higienização dos tetos dos animais, pessoal, ambiente, equipamentos e utensílios, afim de reduzir a contaminação do leite.



## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA et al. Avaliação da qualidade do leite pasteurizado comercializado em Juiz de Fora. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v.54, n.311, p.9-13, 1999.

AMIOT, J. *Ciencia y tecnologia de La leche*. Zaragoza: Acríbia, 1991.

ARCURI, E. F. Influencia de bactérias psicrotróficas na qualidade do leite e produtos lácteos. In: \_\_\_\_\_. *Diagnostico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos*. Juiz de fora: Templo Gráfica e Editora Ltda, 2003. p.105-115.

ARCURI, E.F. et al. Contagem, isolamento e caracterização de bactérias psicrotróficas contaminantes de leite cru refrigerado. *Ciência Rural*, v.38, n.8, p.2250-2255, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº62. De 29 de Dezembro de 2011. Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. *Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil*, seção 1, 2011.

BRITO, M.A.V.P., ARCURI, E.F., BRITO, J.R.F. Testando a qualidade do leite. In: DURÃES, M.C.; MARTINS, C.E.; DERESZ, F.; BRITO, J.R.F.; FREITAS, A.F.; PORTUGAL, J.A.B.; COSTA, C.N. *MINAS LEITE. 2.*, 2000, Juiz de Fora. Avanços tecnológicos para o aumento da produtividade leiteira. *Anais...Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite*, 2000. p.83-94.

BRITO, J. R. F.; PORTUGAL, J. A. B. Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos, EPAMIG/CT/ILCT, Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, p.9-11 e 105-107, 2003.



BUENO, V.F.F.; MESQUITA, A.J.; OLIVEIRA, J.P. et al. Influência da temperatura de armazenamento e o sistema de utilização de tanque de expansão sobre a qualidade microbiológica do leite cru. *Revista Higiene Alimentar*, v.18, n.124, p.62-67, 2004.

CEMPÍRKOVÁ, R.; MIKULOVÁ, M. Incidence of psychrotrophic lipolytic bacteria in cow's raw milk. *Czech J Anim Sci*, v. 54, n. 2, p. 65–73, 2009.

CHAMPAGNE, C. P.; LAING, R. P.; ROY D.; MAFU, A. A.; GRIFFITHS, M. W. Psychrotrophs in Dairy Products: Their effect and Their Control. *Food Science and Nutrition*, v.45, n.34, p.1-30, 2000.

CORREA, A. P. F.; DAROIT, D. J.; VELHO, R. V.; BRANDELLI, A. Hydrolytic potential of a psychrotrophic pseudomonas isolated from refrigerated Raw milk. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.42, p. 1479-1484, 2011.

COUSIN, M.A.; BRAMLEY, A.J. The microbiology of raw Milk. In: ROBINSON, R. K. *Dairy Microbiology*. New York: Applied Science, v.1, p.119-163, 1981.

COUSIN, M.A. Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: a review. *Journal of Food Protection*, v.45, n.2, p.172–207, 1982.

DE JONGHE, V., COOREVITS, A., VAN HOORDE, K., MESSENS, W., LANDSHOOT, A., DE VOS, P., et al. Influence of storage conditions on the growth of *Pseudomonas* species in refrigerated raw milk. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 77, p. 460-470, 2011.

GARGOURI, A.; HAMED, H.; ELFEKI, A. Analysis of Raw Milk Quality at Reception and During Cold Storage: Combined Effects of Somatic Cell Counts and Psychrotrophic Bacteria on Lipolysis. *Journal of food Science*, v.78, n. 9, p.1405-1411, 2013.



GAUCHER, I.; MOLLÉ, D.; GAGNAIRE, V.; GAUCHERON, F. Effects of storage temperature on physico-chemical characteristics of semi-skimmed UHT milk. *Food Hydrocolloids*, v.22, p.130-143, 2008.

GERMANO, P. M. L. GERMANO, M. I. S. *Higiene e vigilância sanitária de alimentos*. São Paulo: Varela, 2001.

HANTSIS-ZACHAROV, E.; HALPERN, M. Culturable psychrotrophic bacterial communities in raw milk and their proteolytic and lipolytic traits. *Applied and Environmental Microbiology*, v.73, p.7162-7168, 2007.

HAYES, P. R. *Microbiologia e higiene dos alimentos*, Zaragoza: Acribia, 1993.

IZIDORO, T. B.; PEREIRA, J.G.; SOARES, V. M.; PINTO, J., P. A. N. Effect of Psychrotrophic Growth on the Milk Fat Fraction at Different Temperatures of Storage. *Journal of Food Science*, v. 78, n. 4, p. 615-618, 2013

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

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

MIGUEL, E.M.; TEODORO, V.A.M.; AHASHIRO, E.K.N. Microrganismos psicrotróficos em leite. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, n.355, p.38-42, 2007.

MOLINERI, A. I.; SIGNORINI, M. L.; CUATRÍN, A. L.; CANAVESIO, V. R.; NEDER, V. E.; RUSSI, N. B.; BONAZZA, J. C.; CALVINHO, L. F. Association



between milking practices and psychrotrophic bacterial counts in bulk tank milk. *Revista Argentina de Microbiología*, v. 44, p. 187-194, 2012.

NADER FILHO, A.; SCHOCKEN-ITURRINO R. P.; ÁVILA F. A.; MONTANHOLI R. A. Efeito de várias medidas higiênico-sanitárias durante a ordenha na contagem microbiana do leite. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v.37, p.13-15, 1982.

NORNBERG, M. L. B. F.; TONDO, E.C.; BRANDELLI, A. Bactérias psicotróficas e atividade proteolítica no leite cru refrigerado. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 37, n. 2, p. 157-163, 2009.

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

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

SANTANA, E.H.W.; BELOTI, V.; BARROS, M.A.F. et al. Contaminação do leite em diferentes pontos do processo de produção: microrganismos aeróbios mesófilos e psicotróficos. *Ciências Agrárias*, v.22, n.2, p.145-154, 2001.

SANTOS, D.; BERGMANN, G.P. Influência da temperatura durante o transporte, sobre a qualidade microbiológica do leite cru. III - Psicotróficos. *Revista Higiene Alimentar*, v.17, p.86-91, 2003.

SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. Importância e efeito de bactérias psicotróficas sobre a qualidade do leite. *Revista Higiene Alimentar*, v.15, n.82, p.13-19, 2001.



SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. et al. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007. 536p.

SORHAUG, T.; STEPANIAK, L. Psychrotrophs and their enzymes in Milk and dairy products: quality aspects. *Trends in Food Science & Technology*, v.8, p.35-41, 1997.

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

SUHREN, G. Producer microorganism. In: MCKELLER, R.C. *Ezymes of psychrotrophs in raw food*. Boca Raton: CRC, 1989, 310p.

THOMAS, S. B.; THOMAS, B. F. Psychrotrophic bacteria in refrigerated bulk-collected raw milk: Part 1. *Dairy Industries*, v.38, n.1, p.11-15, 1973.

