



# Eficiência da pasteurização lenta do leite de cabra em diferentes binômios tempo/temperatura

## Efficiency of slow pasteurization of goat milk in the different time/temperature binomials

RIALA6/1769

Quelson Prestes COSTA<sup>1\*</sup>, Bruna Samara dos Santos REKOWSKY<sup>1</sup>, Marion Pereira COSTA<sup>1</sup>, Nelson de Carvalho DELFINO<sup>2</sup>

\*Endereço para correspondência: <sup>1</sup>Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Leite e Derivados, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, Av. Adhemar de Barros, 500, Ondina, Salvador, BA, Brasil, CEP: 40170-110. Tel: 71 3283 6700. E-mail: [quelsonpc@hotmail.com](mailto:quelsonpc@hotmail.com)

<sup>2</sup>Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia

Recebido: 27.06.2018 - Aceito para publicação: 19.03.2019

### RESUMO

O presente estudo analisou um binômio de tempo-temperatura alternativo para ser utilizado na pasteurização lenta sobre a inativação da fosfatase alcalina no leite caprino. Sua eficiência foi demonstrada pela contagem padrão em placas, e foi feita a comparação no processamento de leite refrigerado e congelado. Foram utilizados 18 tratamentos em leite caprino cru (nove em leite refrigerado e nove em leite congelado). Estes foram acondicionados em frascos de 300 mL, pasteurizados a 60, 63 e 65°C durante 10-20-30 minutos, e testadas às enzimas fosfatase alcalina e peroxidase. A contagem padrão em placas (CPP) e coliformes a 35 e 45°C foi feita nas amostras cruas e em cada tratamento, em duplicata. Após a pasteurização, todos os tratamentos apresentaram: não crescimento de microrganismos mesófilos, coliformes com <0,3 NMP/mL, prova de fosfatase negativa e peroxidase positiva. A pasteurização foi eficiente para melhorar a qualidade microbiológica do leite tanto refrigerado quanto congelado. Todos os binômios avaliados apresentaram resultados satisfatórios para alcançar os parâmetros preconizados em legislação, sugerindo-se o menor binômio (60°C por 10 min). Não houve diferença entre as formas de armazenamento das amostras: refrigerada ou congelada.

**Palavras-chave.** fosfatase alcalina, lactoperoxidase, mesófilos, coliformes, pasteurização, leite caprino.

### ABSTRACT

The objective of this study was to investigate an alternative time-temperature binomial to be used in the slow pasteurization on the alkaline phosphatase inactivation in the goat milk. Its efficiency was demonstrated with the standard counting in plates, and also refrigerated and the frozen milks processing were compared. Eighteen treatments were used in the raw goat milk (nine refrigerated milk and nine frozen milk). They were packed in 300 mL-flasks, pasteurized at 60-63-65°C for 10, 20, 30 minutes, and then tested for alkaline phosphatase and peroxidase enzymes. The standard counts in plates (CPP) and coliforms at 35°C and 45°C were performed in the raw samples and in the every treatment, in duplicate. After the pasteurization process, all of the treatments showed: no growth of mesophilic microorganisms, coliforms with <0.3 MPN / mL, negative phosphatase and positive peroxidase tests. The pasteurization was efficient to improve the microbiological quality of the milk either refrigerated or frozen. All of the evaluated binomials presented satisfactory results to reach the recommended parameters preconized in the legislation, suggesting the smaller binomial (60°C for 10 min). There was no difference between the samples storage form, either refrigerated or frozen.

**Keywords.** alkaline phosphatase, lactoperoxidase, mesophiles, coliforms, pasteurization, goat milk.

## INTRODUÇÃO

O Brasil produziu 153.659 toneladas de leite de cabra em 2014<sup>1</sup>, com destaque para a região Nordeste do país, a qual detém 92% do rebanho caprino brasileiro<sup>2</sup>. O leite caprino apresenta algumas características nutricionais e terapêuticas que o diferenciam do leite de outras espécies e que fazem desse produto uma alternativa na dieta de crianças, idosos e alérgicos ao leite bovino<sup>3-5</sup>. Tem ainda como características de destaque o teor de proteínas de alto valor nutritivo e a excelente digestibilidade, além de ser um produto hipoalergênico<sup>6</sup>. Apesar de possuir diversas características benéficas, o leite de cabra é um produto ainda pouco explorado<sup>7</sup>.

O leite de cabra é o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de animais da espécie caprina sadios, bem alimentados e descansados<sup>8</sup>. Tendo como principal beneficiamento na região Nordeste a pasteurização com direcionamento para fabricação de subprodutos, como queijo e iogurte<sup>9,10</sup>. A pasteurização é um dos tratamentos térmicos ao qual o leite pode ser submetido para eliminação da sua microbiota, a fim de destruir os microrganismos patogênicos que possam contaminar o mesmo. Quanto maior o total de contagens bacterianas, maior o risco de surto de doenças veiculadas por alimentos ou comprometimento do processo de manufatura de derivados lácteos. Assim, para que o leite não se torne um produto nocivo ao consumo humano, além de reduzir a carga bacteriana a limites aceitáveis, a pasteurização promove mínimas modificações químicas, físicas, sensoriais e nutricionais<sup>11</sup>.

O tratamento térmico do leite deve ser eficiente ao nível de atender às combinações tempo/temperatura requeridas para obter um produto com qualidade higiênica satisfatória e prolongar a vida útil do mesmo, sem causar prejuízos decorrentes do calor às suas posteriores tecnologias de beneficiamento<sup>12</sup>.

Um dos processos de pasteurização permitidos pela legislação é a pasteurização lenta, que consiste no aquecimento indireto do leite entre 63°C e 65°C pelo período de trinta minutos, mantendo-se o leite sob agitação mecânica, lenta, em aparelhagem própria<sup>8</sup>. O leite, quando devidamente pasteurizado não pode conter fosfatase alcalina, pois esta é uma enzima sensível à pasteurização e sua presença no produto

final indica a ineficiência desse processo térmico. Logo, esta enzima é pesquisada para comprovar que o tempo e a temperatura aplicados na pasteurização foram efetivos<sup>13</sup>. A verificação da atividade residual da FA como indicador da eficiência da pasteurização é amplamente utilizada no país e no mundo<sup>14</sup>, existem vários relatos na literatura que verificaram a adequação da pasteurização do leite bovino<sup>15</sup>. Contudo, não se tem estudos que demonstrem com precisão o tempo e a temperatura necessários para a inativação da atividade da fosfatase alcalina no leite de cabra, que naturalmente contém níveis diferentes da enzima quando comparado com o leite bovino. Apesar do teste de fosfatase alcalina ser bastante confiável para o leite de vaca, não se tem clareza de sua aplicação para verificar a adequação da pasteurização para o leite caprino dentro dos padrões atuais<sup>16</sup>. Sendo a atividade da fosfatase em leite caprino cerca de 2 a 5 vezes menor que no leite de vaca<sup>17</sup>.

Quanto mais se eleva a temperatura no processo térmico, mais profundas são as transformações físico-químicas no leite. Estas alterações afetam o equilíbrio das substâncias nitrogenadas e dos sais minerais, assim como do conteúdo vitamínico<sup>18</sup>. Isso faz com que o produto final da fabricação de derivados do leite caprino seja prejudicado. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar através de parâmetros microbiológicos e teste colorimétrico qualitativo a eficiência da inativação da fosfatase alcalina após pasteurização lenta no leite de cabra em diferentes temperaturas e tempos, verificar qual o melhor tratamento para o leite dessa espécie e comparar a eficiência do tratamento térmico do leite refrigerado e congelado.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Obtenção da matéria-prima

O leite foi obtido de um rebanho de cabras Saanen, situado na cidade de Camaçari, Bahia. Foram coletados 5 litros de leite refrigerado e 5 litros de leite congelado (10 litros no total). Posteriormente, o material foi acondicionado em garrafas plásticas específicas de 500 mL, dentro de isopor com gelo e mantias sob refrigeração em temperatura não superior a 7 °C e transportadas imediatamente para o Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Leite e Derivados (LaITLácteos) da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Bahia.

## Processo de pasteurização

Para realizar o tratamento térmico, as amostras foram colocadas em frascos de vidro de 300 mL, identificadas, levadas ao tanque de banho-maria e aquecidas gradativamente a 60°C (T1), 63°C (T2) e 65°C (T3). Foram utilizados dois tipos de amostras, uma contendo leite refrigerado e outra congelado, ambos pasteurizados através de nove tratamentos. Os tratamentos consistiam em variação da temperatura (T1, T2 e T3) em três períodos de tempo (10, 20 e 30 min), totalizando 18 tratamentos.

A **Tabela 1** apresenta as amostras com seus respectivos tratamentos. O experimento foi conduzido em triplicata experimental, e as análises foram realizadas em duplicata analítica.

**Tabela 1.** Amostras de leite caprino com seus respectivos tratamentos

Tratamento	Tipo de leite	
	Congelado	Refrigerado
60°C/10 min	T <sub>1</sub> C <sub>10</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>10</sub>
60°C/20 min	T <sub>1</sub> C <sub>20</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>20</sub>
60°C/30 min	T <sub>1</sub> C <sub>30</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>30</sub>
63°C/10 min	T <sub>2</sub> C <sub>10</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>10</sub>
63°C/20 min	T <sub>2</sub> C <sub>20</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>20</sub>
63°C/30 min	T <sub>2</sub> C <sub>30</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>30</sub>
65°C/10 min	T <sub>3</sub> C <sub>10</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>10</sub>
65°C/20 min	T <sub>3</sub> C <sub>20</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>20</sub>
65°C/30 min	T <sub>3</sub> C <sub>30</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>30</sub>

T<sub>1</sub>= 60°C; T<sub>2</sub>= 63°C; T<sub>3</sub>= 65°C

## Teste da fosfatase alcalina e lactoperoxidase

A determinação da fosfatase alcalina (FA) permite avaliar a eficiência do processo de pasteurização. Com essa finalidade, foi aplicado um teste colorimétrico comercial (Cap-Lab<sup>®</sup>), no qual a tira reagente determinou qualitativamente esta enzima. A técnica baseia-se na hidrólise de p-nitrofenilfosfato em p-nitrofenol e fosfato, na presença de íons magnésio e fosfatase alcalina, cujo nitrofenol formado possui coloração amarela indicando prova positiva. Logo após o tratamento térmico das amostras, foi imerso uma tira reagente em cada uma delas durante 10 segundos, posteriormente foi realizada a leitura passados dois minutos.

A determinação da lactoperoxidase permite avaliar a eficiência do processo de pasteurização.

Com essa finalidade, também foi aplicado um teste colorimétrico comercial (Cap-Lab<sup>®</sup>), no qual a tira reagente determinou qualitativamente esta enzima. A lactoperoxidase é uma enzima presente naturalmente no leite e a técnica de sua determinação baseia-se na inativação da mesma se o leite for aquecido acima de 80°C por alguns segundos. Imediatamente após a pasteurização o produto processado deve apresentar teste positivo para a peroxidase. Após o tratamento térmico das amostras, foi imerso uma tira reagente em cada uma delas durante 10 segundos e posteriormente foi realizada a leitura depois de dois minutos.

## Análises microbiológicas

As análises microbiológicas dos leites refrigerado e congelado foram realizadas seguindo a Instrução Normativa nº 62 recomendada pelo Ministério da Agricultura<sup>19</sup>. As amostras foram submetidas à determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 35°C, coliformes a 45°C e contagem padrão em placas (CPP) no leite cru refrigerado e congelado e posteriormente nos tratamentos. No entanto, a legislação brasileira estabelece padrões microbiológicos para o leite de cabra cru apenas para contagem global<sup>8</sup>.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de fosfatase alcalina mostraram que todos os tratamentos da pasteurização foram eficientes na inativação da mesma, demonstrado pela coloração da fita utilizada no teste de fosfatase. A coloração amarela intensa significa que há a presença da fosfatase, observada na análise de leite cru. Após os tratamentos térmicos em seus respectivos tempos, todas as tiras do teste apresentaram a coloração amarelo pálido, a qual resulta da inativação da FA após a pasteurização. Essa análise foi realizada em tempo zero, imediatamente após a pasteurização, segundo Rankin et al<sup>20</sup> esse tipo de conduta fornece resultados mais precisos para provas de FA. O fundamento da pasteurização está na correta utilização do binômio tempo-temperatura, a fim de provocar a eliminação da microbiota patogênica e possibilitar a segurança alimentar do produto. Durante o processo todas as partículas devem ser aquecidas até uma determinada temperatura mínima por um tempo específico<sup>21</sup>. Esse aquecimento destrói grande parte da flora microbiana e inativa sistemas enzimáticos,

esse fato pode ser observado neste trabalho através da relação dos resultados do crescimento bacteriano com a ausência da fosfatase alcalina, nos quais todos os tratamentos demonstraram o não crescimento bacteriano, ou o crescimento dentro dos padrões preconizados por legislação (Amostra T<sub>1</sub>R<sub>10</sub>). Todas as amostras foram aquecidas com temperaturas inferiores a 80°C, que é a temperatura mínima para inativação da lactoperoxidase, por esse motivo apresentaram resultados positivos para essa enzima.

Estes resultados estão de acordo com o estudo de Wilińska et al<sup>22</sup>, os quais examinaram a estabilidade térmica da FA no leite bovino e caprino na faixa de temperatura entre 54-69°C e verificaram que todas as amostras demonstraram grandes taxas de inativação. Vamvakaki et al<sup>23</sup> também encontraram redução da atividade da fosfatase alcalina mais rápida em leite caprino e ovino em comparação com o leite bovino na temperatura de 59°C. Outro binômio inferior estabelecido pela legislação brasileira foi aplicado por Lorenzen et al<sup>24</sup> em leite caprino, no qual o tratamento térmico de 62°C por 30 minutos conseguiu resultados satisfatórios para o limiar de fosfatase alcalina. Isso demonstra que o leite caprino necessita de uma menor temperatura para inativação da fosfatase que o

leite bovino, permitindo a inferência de que a temperatura de pasteurização do leite de cabra pode ser menor que a já descrita.

A determinação da atividade da enzima lactoperoxidase foi realizada para verificação de superaquecimento do leite durante a pasteurização. Nesse experimento, observou-se que o teste de peroxidase foi positivo para todos os tratamentos realizados, o que demonstra que não ocorreu temperatura excessiva durante a execução do estudo, uma vez que a enzima ainda se encontrava presente na amostra.

A contagem de mesófilos neste experimento teve 6,2 x 10<sup>4</sup> UFC/mL para o leite congelado e 9,5 x 10<sup>4</sup> UFC/mL para o leite refrigerado antes da pasteurização (**Tabela 2**). Souza et al<sup>5</sup> ao avaliar três lotes de leite cru, encontraram valores superiores ao do presente estudo, variando de 1,15 x 10<sup>5</sup> e 1,18 x 10<sup>5</sup> UFC/mL. Os resultados das análises microbiológicas de leite cru no presente estudo demonstraram uma possível falha no processo de ordenha do leite, uma vez que foi observada a presença de coliformes no leite sem a pasteurização (110 NMP), conforme a **Tabela 2**.

**Tabela 2.** Resultados das análises do leite caprino pré e pós tratamento térmico

Amostras	Coliformes (NMP.mL <sup>-1</sup> )		Mesófilos (Log UFC.mL <sup>-1</sup> )		Fosfatase		Lactoperoxidas	
	Congelado	Resfriado	Congelado	Resfriado	Congelado	Resfriado	Congelado	Resfriado
Cru	110	110	4,79	4,97	Positiva	Positiva	Positiva	Positiva
60°C/10min	<0,3	<0,3	0	2,29	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva
60°C/20min	<0,3	<0,3	0	0	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva
60°C/30min	<0,3	<0,3	0	0	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva
63°C/10min	<0,3	<0,3	0	0	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva
63°C/20min	<0,3	<0,3	0	0	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva
63°C/30min	<0,3	<0,3	0	0	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva
65°C/10min	<0,3	<0,3	0	0	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva
65°C/20min	<0,3	<0,3	0	0	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva
65°C/30min	<0,3	<0,3	0	0	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva

Ao analisar a composição microbiana do leite de cabra, Foschino et al<sup>25</sup> observaram constante presença de coliformes no leite cru. Segundo Andrade et al<sup>26</sup>, a pesquisa de bactérias do grupo dos coliformes é importante devido à sua relação com a higiene durante a produção, na qual em seu estudo foi encontrada apenas uma amostra de leite cru com coliformes termotolerantes (0,4 NMP/mL).

Em relação aos resultados microbiológicos após a pasteurização, estes foram satisfatórios para todos os tratamentos térmicos, não apresentando contagem de microrganismos mesófilos (Log UFC.mL<sup>-1</sup>) e coliformes <0,3 NMP/mL. Em todas as amostras de leite pasteurizado analisadas, não houve a detecção de coliformes totais e termotolerantes, estando de acordo ao preconizado na legislação<sup>8</sup>. Souza et al<sup>5</sup> ao utilizarem a pasteurização lenta (63-65°C por 30 min) obtiveram semelhante eficiência na redução microbiana do leite caprino. Costa et al<sup>27</sup> também observou a redução de mesófilos e coliformes no leite de cabra após o processo de pasteurização (62-65°C por 30 min), além disso, verificou ainda a redução de *Staphylococcus* coagulase positiva e a ausência de *Salmonella* spp.

Ao comparar a duplicata de leite refrigerado com o leite congelado, observou-se resultados equivalentes em todas as análises antes e após o tratamento térmico de ambos os tipos de leite. Isso mostra que o congelamento anterior à pasteurização do leite caprino não interfere no processo de inativação da fosfatase alcalina

## CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que todos os tratamentos foram suficientes para alcançar os parâmetros preconizados na Instrução Normativa nº 37 de 31/10/2000, podendo-se utilizar o menor binômio de tempo-temperatura (60°C por 10 min), não existindo diferença entre a forma de armazenamento das amostras, refrigerada ou congelada.

## REFERÊNCIAS

1. Food and Agriculture Organization – FAO. FAOSTAT; 2014. [acesso 2018 Mai 16]. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL>
2. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. IBGE. Cidades. 2014. [acesso 2018 Mai 16]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2014/default.shtm>
3. Ribeiro AC, Ribeiro SDA. Specialty products made from goat milk. *Small Rumin Res*. 2010;89(2):225-33. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.12.048>
4. Garcia RV, Travassos AER. Aspectos gerais sobre o leite de cabra: uma revisão. *Rev Inst Latic Cândido Tostes*. 2012;67(386):81-8. <https://doi.org/10.5935/2238-6416.20120039>
5. Souza AK, Fiorini JE, Moraes ALL, Oliveira NDMS, Claretto SS, Nascimento LC. Características microbiológicas e físico-químicas do leite de cabra submetido à pasteurização e ao congelamento, comercializado na cidade de Alfenas-MG. *Rev Univ Vale Rio Verde*. 2013;11(1):224-33. Disponível em: [http://periodicos.unincor.br/index.php/revistaunincor/article/view/946/pdf\\_23](http://periodicos.unincor.br/index.php/revistaunincor/article/view/946/pdf_23)
6. Santos KMO, Bomfim MAD, Vieira ADS, Benevides SD, Saad SM, Buriti FCA et al. Probiotic caprine Coalho cheese naturally enriched in conjugated linoleic acid as a vehicle for *Lactobacillus acidophilus* and beneficial fatty acids. *Int Dairy J*. 2012;24(2):107-12. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.12.001>
7. Bomfim M, Santos KMO, Queiroga RCRE, Cordeiro PC, Oliveira LS. Produção e qualidade do leite de cabra no Brasil. XXIII Congresso Brasileiro de Zootecnia; maio de 2013; Foz do Iguaçu: Zootecnia do futuro: Produção Animal Sustentável. p.4711-18.
8. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BR) – MAPA. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 37, de 31 de outubro de 2000. Aprova o Regulamento técnico de identidade e qualidade do leite de cabra. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 08 nov2000. Seção I, p.23.
9. Rohenkohl JE, Corrêa GF, Azambuja DF, Ferreira FR. O agronegócio de leite de ovinos e caprinos. *Indic Econ FEE*. 2011;39(2):97-114. Disponível em:

- <https://revistas.fee.tche.br/index.php/indicadores/article/view/2510/2975>
10. Perdigão NROF, Oliveira SL, Cordeiro AGPC. Sistemas de Produção de Caprinos Leiteiros. XIII workshop sobre produção de caprinos na região da mata atlântica; 2016; Coronel Pacheco: Embrapa Gado de Leite. p.11-35. [acesso 2018 Mai 29]. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1051053/1/CNPC2016Doc119.pdf>
  11. Raynal-Ljutovac K, Park YW, Gaucheron F, Bouhallab S. Heat stability and enzymatic modifications of goat and sheep milk. *Small Rumin Res*. 2007;68(1):207-20. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.09.006>
  12. Blel M, Guingamp MF, Gaillard JL, Humbert G. Improvement of a method for the measurement of lactoperoxidase activity in milk. *Int Dairy J*. 2001;11(10):795-9.
  13. Tamanini R, Silva LCC, Monteiro AA, Magnani DF, Barros MAF, Beloti V. Avaliação da qualidade microbiológica e dos parâmetros enzimáticos da pasteurização de leite tipo “C” produzido na região norte do Paraná. *Semina: Ciên Agrár*. 2007;28(3):449-54. Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/2968/2514>
  14. Seixas FN, Fagnani R, Rios EA, Pereira JR, Tamanini R, Beloti V. Comparação de métodos para detecção de fosfatase alcalina e peroxidase em leite. *Rev Inst Latic Cândido Tostes*. 2014;69(1):17-24. <https://doi.org/10.14295/2238-6416.v69i1.302>
  15. Ranieri ML, Boor KJ. Bacterial ecology of high-temperature, short-time pasteurized milk processed in the United States. *J Dairy Sci*. 2009;92(10):4833-40. <https://dx.doi.org/10.3168/jds.2009-2181>
  16. Klotz V, Hill A, Warriner K, Griffiths M, Odumeru J. Assessment of the colorimetric and fluorometric assays for alkaline phosphatase activity in cow's, goat's, and sheep's milk. *J Food Prot*. 2008;71(9):1884-8. <https://dx.doi.org/10.4315/0362-028X-71.9.1884>
  17. Sharma R, Kaur S, Rajput YS, Kumar R. Activity and thermal stability of indigenous enzymes in cow, buffalo and goat milk. *Milchwissenschaft*. 2009;64(2): 173.
  18. Souza AK. Características microbiológicas e físico-químicas do leite de cabra submetido à pasteurização e ao congelamento comercializado em Alfenas [dissertação de mestrado]. Alfenas (MG): Universidade José do Rosário Vellano; 2012. Disponível em: <http://tede2.unifenas.br:8080/jspui/bitstream/jspui/131/1/AlanKardecdeSouza-dissertacao.pdf>
  19. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (BR)–MAPA. Secretaria de Defesa Agropecuária. 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, DF, 18 set 2003. Seção1, p.14.
  20. Rankin SA, Christiansen A, Lee W, Banavara DS, Lopez-Hernandez A. Invited review: the application of alkaline phosphatase assays for the validation of milk product pasteurization. *J Dairy Sci*. 2010;93(12):5538-51. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3400>
  21. National Advisory Committee On Microbiological Criteria For Foods - NACMCF. Requisite scientific parameters for establishing the equivalence of alternative methods of pasteurization. *J Food Prot*. 2006;69(5):1190-1216. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-69.5.1190>
  22. Wilińska A, Bryjak J, Illeova V, Polakovič M. Kinetics of thermal inactivation of alkaline phosphatase in bovine and caprine milk and buffer. *Int Dairy J*. 2007;17(6):579-86. <https://dx.doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.08.008>
  23. Vamvakaki AN, Zoidou E, Moatsou G, Bokari M, Anifantakis E. Residual alkaline phosphatase activity after heat treatment of ovine and caprine milk. *Small Rumin Res*. 2006;65(3):237-41. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.06.025>

24. Lorenzen PC, Martin D, Clawin-Rädecker I, Barth K, Knappstein K. Activities of alkaline phosphatase,  $\gamma$ -glutamyltransferase and lactoperoxidase in cow, sheep and goat's milk in relation to heat treatment. *Small Rumin Res*. 2010;89(1):18-23. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.11.013>
25. Foschino R, Invernizzi A, Barucco R, Stradiotto K. Microbial composition, including the incidence of pathogens, of goat milk from the Bergamo region of Italy during a lactation year. *J Dairy Res*. 2002; 69(2):213-25. <https://doi.org/10.1017/S0022029902005459>
26. Andrade PVD, Souza MR, Penna CFAM, Ferreira JM. Características microbiológicas e físico-químicas do leite de cabra submetido à pasteurização lenta pós-envase e ao congelamento. *Cien Rural*. 2008;38(5):1424-30. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782008000500036>
27. Costa MP, Silva HLA, Balthazar CF, Franco RM, Cortez MAS. Economic performance and sensory analysis of probiotic “minas frescal” cheese produced using bovine and caprine milk. *Encicl Biosf*. 2013;9(17):2306-14. Disponível em: <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2013b/CIENCIAS%20AGRARIAS/RENDIMENTO%20ECONOMICO.pdf>