

UFRRJ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS

DISSERTAÇÃO

Monitoramento da Microbiota de Iogurtes Comerciais

Simone de Souza Fernandes

2011



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**

Monitoramento da Microbiota de Iogurtes Comerciais

SIMONE DE SOUZA FERNANDES

Sob a orientação do
Prof^a. ROSA LUCHESE

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências e Tecnologia de Alimentos**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Ciências de Alimentos

Seropédica, RJ

Maio de 2011

641.371

F363m

T

Fernandes, Simone de Souza, 1973-.
Monitoramento da microbiota de
iogurtes comerciais/Simone de Souza
Fernandes - 2011.
48 f.: il.

Orientador: Rosa Luchese.

Dissertação (Mestrado) -
Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Curso de Pós-Graduação
em Ciência e Tecnologia de
Alimentos.

Bibliografia: f. 41-45.

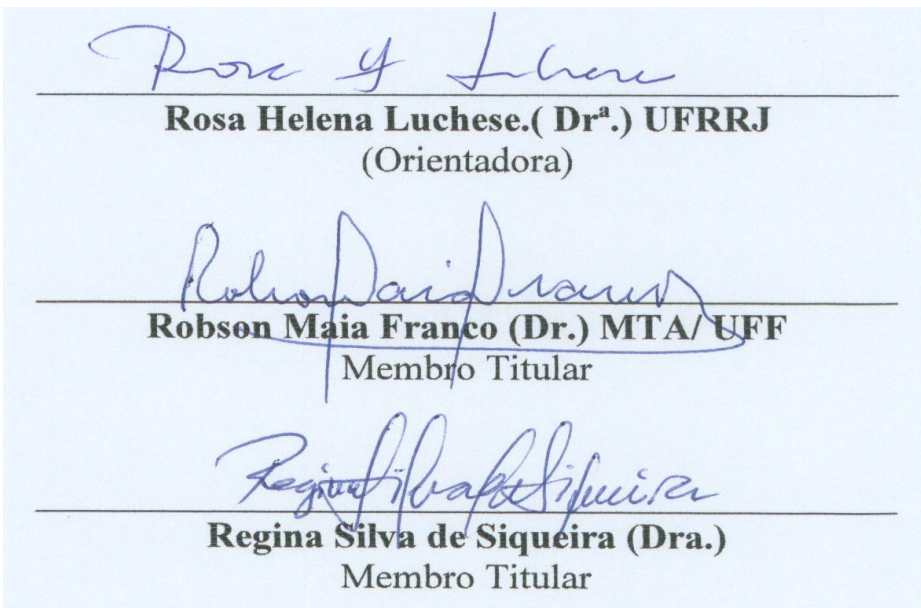
1. Leite - Bacteriologia -
Teses. 2. Leite - Microbiologia -
Teses. 3. Lactobacilo - Teses. I.
Luchese, Rosa, 1957-. II.
Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro. Curso de Pós-Graduação
em Ciência e Tecnologia de
Alimentos. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS

SIMONE DE SOUZA FERNANDES

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências e Tecnologia de Alimentos**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de Concentração em Ciências de Alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 27/05/2011



Rosa Helena Luchese.(Dr^a.) UFRRJ
(Orientadora)

Robson Maia Franco (Dr.) MTA/ UFF
Membro Titular

Regina Silva de Siqueira (Dra.)
Membro Titular

DEDICATÓRIA

Dedico, aos amores da minha vida, Ana Carolina, Leonardo (pelo sorriso mais sincero do mundo), Souza (pela confiança, incentivo e amor), Dilma (por tudo que sou).

AGRADECIMENTOS

A Deus, em primeiro lugar, por me dar força, confiança e me acolher nas horas de incerteza.

Aos meus familiares: Dilma, Souza, Carol, Leonardo, Marcelo, por me apoiarem com sorrisos, ombros amigos, conselhos, paciência e amizade.

Às minhas amigas Kelly, Elaine e Tatiana por serem pessoas de outro mundo, de bondade infinita que me fizeram chegar até aqui.

À minha Orientadora, Rosa Luchese, por acreditar e confiar na minha capacidade, e me nutrir de sabedoria, obrigada.

A todos do laboratório: Dina, Rafael, Cristiane, pela ajuda diária, paciência e tolerância que tiveram comigo durante esta caminhada.

Aos pesquisadores, Robson, Miliane por estarem sempre solícitos em ajudar com sua vasta experiência.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), especialmente ao Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA), pela oportunidade concedida para realização do curso.

Ao Laboratório de microbiologia da UFRRJ (Universidade Federal do Rio de Janeiro), pela parceria no uso de seus laboratórios

“O homem é feito de tal modo que quando alguma coisa incendeia a sua alma as impossibilidades desaparecem.”

RESUMO

FERNANDES, Simone Souza. **Monitoramento da microbiota de Iogurtes comerciais**. 2011. p.40. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

Iogurte é um leite fermentado resultante de uma interação microbiana mutualista entre as bactérias lácticas *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Para que a qualidade do iogurte seja garantida o número de células destes dois microrganismos individualmente, não deve ser inferior a 1×10^7 por grama, portanto uma proporção relativa de lactobacilos e estreptococos de 1:1 sendo a proporção 1:2 também aceita. Durante o armazenamento dos iogurtes expostos para venda podem ocorrer pós-acidificação e modificação na proporção dos dois microrganismos. Os objetivos desta pesquisa foram avaliar iogurtes de quatro diferentes fabricantes as quais foram denominados A, B, C, D quanto ao número e equilíbrio entre as duas bactérias lácticas durante o armazenamento, e ao mesmo tempo determinar as características físico-químicas (pH e acidez) e contagem de bolores e leveduras. Para tanto, adotou-se duas faixas de avaliação, faixa I (até 20 dias de fabricação) e faixa II (após 20 dias). Foi observada melhor recuperação *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *S. thermophilus*, respectivamente com os meios LB e M17 que foram usados para determinação da proporção relativa dos dois microrganismos. Foi verificado um desequilíbrio no número de lactobacilos que foi inferior ao de cocos e, considerado inadequado, em duas das quatro marcas comerciais. Nos iogurtes da marca A houve redução significativa no número de lactobacilos da faixa I para faixa II levando a um aumento na proporção de cocos relativa ao de bacilos. Nos iogurtes dos três outros fabricantes não houve diferença significativa nas contagens de cocos ou de lactobacilos de uma faixa para outra. Também não foi observada diferença significativa de acidez e pH relacionados ao tempo de prazo comercial nas faixas I e II nas quatro marcas de iogurte analisadas. A acidez dos iogurtes do fabricante D foi significativamente mais elevada ($P < 0,05$) que a dos demais, embora não tenha resultado em maior redução de pH nestes produtos. Todas as amostras analisadas estavam em conformidade com a legislação vigente no que se refere ao mínimo exigido de bactérias lácticas totais que é de 1×10^7 UFC/mL. Também estavam em conformidade com relação à acidez, pH e contagem de bolores e leveduras.

Palavras-chave: leite fermentado, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, pós-acidificação

ABSTRACT

FERNANDES, Simone Souza. **Monitoring lactic microbiota in commercial yogurts.** 2011. p.40. Dissertation in Food Science and Technology. Institute of Technology, Department of Food Technology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, 2011.

Yogurt is a fermented milk resulting from a mutual interaction between the lactic acid bacteria *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. For yoghurt quality assurance, the cell numbers of each microorganism, should not be less than 1×10^7 per gram, therefore a relative ratio lactobacilli and streptococci should be 1:1, although a 1:2 ratio is also accepted. During storage of yoghurt exposed for sale, post-acidification may occur, changing the ratio of the two microorganisms. The objectives of this research were to evaluate yoghurts of four different manufacturers named A, B, C and D, in relation to the number and balance between streptococci and lactobacilli during the storage and its relation with acidity and pH. In this way, yoghurts with up to 20 days of manufacturing (band I) and more than 20 days (band II) were evaluated. Better recovery of *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *S. thermophilus* was observed with LB and M17 media respectively, which were used to determine the relative ratio of the two microorganisms. An imbalance in the lactobacilli numbers which were lower than that of streptococci was verified and considered inadequate, in two out of four commercial brands. In yoghurts from the manufacturer A, there was a significant reduction in the number of lactobacilli from band I to band II leading to an increase in the relative ratio of streptococci to lactobacilli. There was no significant difference in the counts of streptococci or bacilli from one band to another with the other three brands of yoghurts. The acidity of yoghurts from manufacturer D revealed significantly higher ($P < 0.05$) than the others, although it did not result in an increased pH reduction. All samples attended the legislation in relation to total lactic acid bacteria counts, acidity, pH and mould and yeast count.

Keywords: fermented milk, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, post-acidification

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Médias das contagens e teste de Newman-Keuls (SNK) para análise de diferenças na capacidade de recuperação dos microrganismos do iogurte nos diferentes meios. 19
- Tabela 2.** Contagem e proporção de lactobacilos e estreptococos nos meios LB e M17 nas faixas A e B . 23
- .
- Tabela 3.** Médias de pH e Acidez expressa em (% g/mL) 24

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fermentação láctica	3
Figura 2. Metabólicos principais na fermentação da glicose por bactérias do ácido láctico homofermentativas e heterofermentativas	4
Figura 3. Etapas de Processamento geral de iogurte e leites fermentados.	8
Figura 4. Preparo de diluições decimais seriadas	16
Figura 5. Contagem de colônias usando o contador de colônia Quebec	17
Figura 6. Determinação de Acidez dos iogurtes	18
Figura 7. Contagem de microbiota láctica de iogurtes com até 20 dias de fabricação(Faixa I) e mais de 20 dias de fabricação(Faixa II) dos fabricantes A,B,C e D.	20
Figura 8. Medias Gerais das Contagens em diferentes meios observados em iogurtes dos fabricantes A,B,C e D.	21
Figura 9. Morfologia celular de esfregaços corados pelo método de Gram mostrando formas bacilares em meio LB (A) e em agar Lee (B) formas bacilares alongadas em meio MRSacidificado (C) e formas cocoides em cadeia no agar M17(D).	22

LISTA DE ABREVIações E SÍMBOLOS

EMPBRAPA	Empresa Brasileira de Produtos Agropecuários
CO ₂	Gás carbono
UFMA	Universidade Federal do Mato Grosso
DNA	Ácido desoxiribonucleico
pH	Potencial Hidrogeniônico
ZERS	Índice Refratométrico
CCS	Contagem de Células Somáticas
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
EPI	Equipamento de Proteção Individual
MG	Miligrama
mL	Militro
µg	Micrograma
Prof.	Professor
Dr.	Doutor
Dr ^a	Doutora
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Meio ABD	Ágar Batata Dextrose
Meio LB	Ágar <i>Lactobacilos bulgaricus</i>
Meio ST	Ágar <i>Streptococcus Thermophilus</i>
MeioMRSácido	Ágar de Man Rogosa Sharpe (pH 5,2)
UFC/g	Unidade Formadora de Colônia

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO _____	1
2	OBJETIVOS _____	2
2.1	Objetivo geral _____	2
2.2	Objetivos específicos _____	2
3	REVISÃO DE LITERATURA _____	2
3.1	Leite _____	2
3.2	Fermentação Lática _____	2
3.2.1	Controle _____	4
3.3	Leites Fermentados _____	5
3.4	Iogurtes _____	6
3.4.1	Processamento básico do Iogurte _____	7
3.4.1.1	Tipos de culturas tradicionais utilizadas no processo de fermentação _____	9
3.4.2	Tipos de iogurtes _____	10
3.4.3	Composição, valor nutritivo e terapêutico _____	10
3.5	Alterações Durante O Armazenamento _____	12
3.6	Qualidade Do Iogurte _____	13
4	MATERIAL E MÉTODOS _____	16
4.1	Aquisição das amostras _____	16
4.2	Preparação de amostras para análise _____	16
4.3	Contagem de estreptococos e lactobacilos nos iogurtes _____	16
4.4	Contagem de bolores e leveduras _____	17
4.5	Avaliação da Morfologia Celular _____	17
4.6	Determinação de pH _____	18
4.7	Determinação da acidez titulável _____	18
4.8	Análises estatísticas _____	18
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO _____	19
5.1	Contagem de bactérias lácticas específicas do iogurte _____	19
5.2	Proporção entre bacilos / cocos e evolução do pH e acidez dos iogurtes _____	21
5.2.1	Características Químicas do Iogurte: pH e Acidez _____	23
5.3	População de bolores e leveduras e nos iogurtes _____	26
6	CONCLUSÕES _____	27
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS _____	28

	xiii
ANEXO 1 _____	38
ANEXO 2 _____	39
ANEXO 3 _____	40

1 INTRODUÇÃO

O iogurte é o mais antigo produto lácteo fermentado, estando presente na alimentação humana desde os tempos mais remotos, quando a fermentação era utilizada unicamente na conservação do leite.

Devido ao grande número de novos produtos alimentícios e a tendência atual de ingerir produtos naturais, a produção e o consumo mundial de iogurte têm crescido. A elaboração do iogurte é uma técnica que se expande cada vez mais no mundo inteiro, do preparo simples, que atualmente vem se transformando em um processo bastante sofisticado. Este produto é classificado como leite fermentado sendo definido pelo Regulamento da Inspeção Industrial de Produtos de Origem Animal – Instrução Normativa N°46 (BRASIL, 2007), como sendo o produto adicionado ou não de outras substâncias, obtido por coagulação e diminuição do pH do leite ou outros produtos lácteos, por fermentação láctica mediante a ação proto-simbiótica de *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, aos quais podem ou não acompanhar, de forma complementar outras bactérias ácido-lácticas.

Lactobacillus delbrueckii subsp *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* exibem uma relação mutualista durante o processo fermentativo de produção do iogurte, produzindo, portanto, mais ácido láctico na forma de cultura mista, do que isoladamente e maior desenvolvimento de sabor e aroma, importantes para a produção de iogurtes.

Este produto requer o controle adequado de uma série de condições desde o seu processamento até sua comercialização, para que se tenha assegurada a qualidade do iogurte e consequentemente a saúde do consumidor.

É de suma importância que exista um balanço adequado entre as contagens de lactobacilos e estreptococos, pois a predominância de qualquer uma das espécies pode acarretar em defeitos no produto final. O monitoramento da contaminação por bolores e leveduras também é importante, pois podem causar alterações de sabor, cor e estufamento das embalagens nas prateleiras.

Outro fator importante para a qualidade de iogurtes está relacionado à sua acidez, que se altera durante o armazenamento, dependendo da acidez inicial e da temperatura de produção e estocagem.

Qualquer produto comercial alimentício deve, por legislação, ser armazenado em condições adequadas que garantam a manutenção das características originais do produto. Portanto, a qualidade passou a ser considerada a chave para o sucesso em qualquer ramo da atividade como forma de manter a competitividade. E, o consumidor tem se mostrado cada vez mais exigente e consciente ao adquirir um produto, no que diz respeito à embalagem, a composição e valor nutricional da matriz alimentícia.

Considerando-se que, o iogurte requer condições adequadas de armazenamento, para manutenção das propriedades nutricionais, sensoriais e microbiológicas, justifica-se a importância deste trabalho.

A presente pesquisa teve como objetivo verificar a proporção de *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, em iogurtes naturais e integrais de quatro diferentes fabricantes no decorrer do armazenamento nas gôndolas dos supermercados correlacionando com suas características físico-químicas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o número e o equilíbrio entre *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* em iogurtes de diferentes fabricantes no decorrer do armazenamento correlacionando com suas características físico-químicas.

2.2 Objetivos específicos

- Analisar amostras de quatro marcas de iogurtes, em diferentes tempos de fabricação classificados em faixa I (até 20 dias) e faixa II (mais de 20 dias)
- Realizar a contagem diferenciada de lactobacilos e estreptococos presentes nas amostras durante a validade comercial do produto, em diferentes meios de cultura.
- Verificar a presença de bolores e leveduras nas amostras de iogurtes analisadas.
- Avaliar a acidez e pH das amostras.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Leite

Conforme o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA, 1952), entende-se por leite como o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas, sendo que o leite de outros animais deve ser especificado de acordo com a sua espécie.

O Brasil apresenta produção e exportação significativa de leite, atingindo em 2002 a margem de 20.400 milhões de litros de leite produzidos com exportações de cerca de 184,8 milhões de litros (EMBRAPA, 2002), além de ser o quinto país em consumo de leite fluido, com cerca de 70 Kg/ pessoa em 2004 (LÁCTEA BRASIL, 2011).

Segundo Fernandes (2005), leite é a principal matéria prima utilizada pela indústria de laticínios, apresentando excelentes qualidades nutricionais devido a sua constituição rica em proteínas, cálcio, fósforo, magnésio e vitaminas A, riboflavina e niacina, sendo considerado o “alimento mais próximo da perfeição”.

Os derivados lácteos são distribuídos em vários segmentos englobando as bebidas lácteas, leites fermentados, queijos processados, queijos *petit suisse* e iogurtes (RÉVELLION, 2011).

3.2 Fermentação Láctica

A fermentação láctica é realizada pelas bactérias pertencentes ao grupo láctico ou bactérias lácticas. Fazem parte deste grupo os seguintes gêneros bacterianos: *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Carnobacterium* e *Vagococcus*. Nessa fermentação há produção de ácido láctico, podendo ser do tipo homoláctica, com maior quantidade desse componente em relação aos demais produtos formados, como o diacetil, etanol e CO₂, ou heteroláctica, quando as proporções desses produtos são,

praticamente, as mesmas. As bactérias homofermentadoras, quando metabolizam pentoses podem mudar o padrão de fermentação produzindo além de ácido lático, também ácido acético, Figura 1 (FRANCO, 2007).

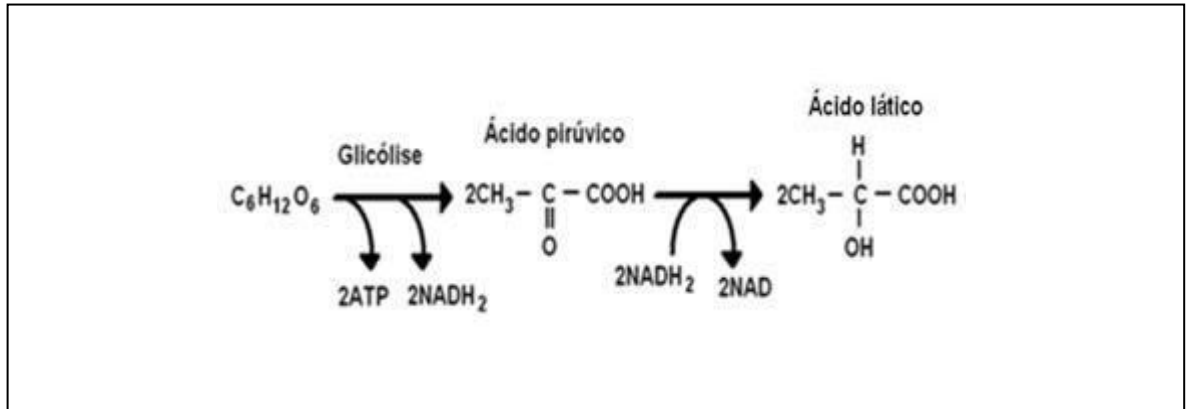


Figura 1. Fermentação láctica (MURRAY,2006)

A maioria das bactérias do ácido lático pertence ao gênero *Lactobacillus*, que é heterogêneo, com variedades fenotípicas e propriedades bioquímicas e fisiológicas diferenciadas. Esta heterogeneidade é conseqüência da relação da porcentagem das bases nitrogenadas, guanina (G) e citosina (C) do DNA, que varia de 32 a 53%, ou seja, a espécie de lactobacilos estudada pode ser identificada de acordo com a porcentagem de guanina-citosina encontrada (COPPOLA ; GIL-TURNES, 2004).

As vias clássicas para distinguir as diferentes espécies deste grupo têm sido a capacidade de fermentação de diferentes carboidratos, a configuração do ácido lático produzido e a capacidade de hidrolisar a arginina num meio de crescimento de composição específica. Ainda podem ser utilizadas análises de peptídeoglicanos, e a porcentagem e G+C do DNA, e estudos de homologia de DNA-DNA (NEVES, 2005).

As bactérias lácticas podem utilizar duas vias fermentativas de açúcares para a produção de metabólitos. Uma delas é a via glicolítica, que realiza a glicólise anaeróbica (via Embden-Meyerhof-Parnas) e tem como produto final o ácido lático, com rendimento de 1,8 mol de ácido lático/mol de glucose, assim conhecida como fermentação homolática. A outra é a via metabólica do 6- fosfogluconato/fosfocetolase, que produz quantidades significativas de outros produtos, como o etanol, o acetato, e o CO₂, juntamente com o ácido lático, por isso, este metabolismo é denominado de fermentação heterolática (NEVES, 2005). Na Figura 2 consta o resumo esquemático da produção de metabólitos de acordo com o tipo de bactéria láctea presente no alimento.

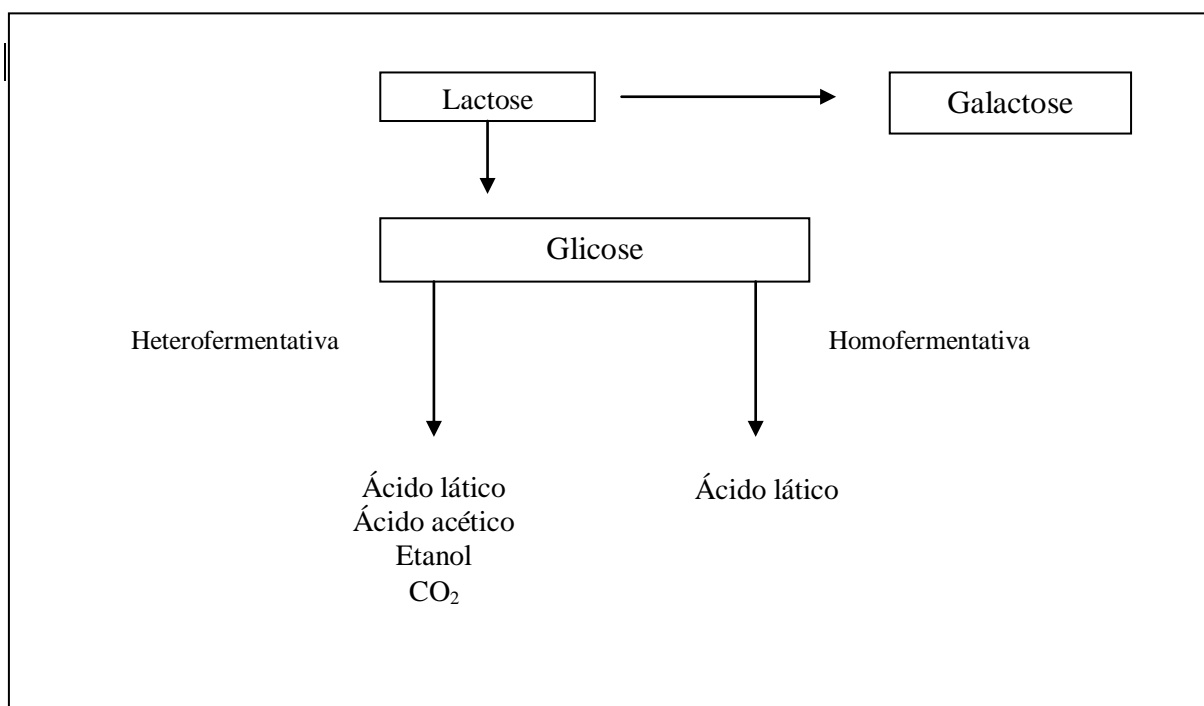


Figura 2. Esquema da produção de metabólitos principais na fermentação da glicose por bactérias do ácido láctico homofermentativas e heterofermentativas (FERREIRA, 2005).

Todos os membros dos gêneros *Pediococcus*, *Streptococcus* e *Vagococcus* são homofermentadores, juntamente com algumas espécies de *Lactobacillus*. O gênero *Leuconostoc* e algumas espécies de *Lactobacillus* são heterofermentadores. As diferenças entre homofermentadores e heterofermentadores têm base genética e fisiológica. Os homoláticos apresentam as enzimas aldolase e hexose-isomerase, mas não apresentam a fosfoctalose. Já os heteroláticos apresentam a fosfoctalase, mas não a aldose e a hexose-isomerase (FRANCO, 2007).

A enzima lactase age sobre a lactose presente no leite, quebrando suas ligações e produzindo D-glicose e D-galactose, que são açúcares mais solúveis e de mais rápida absorção. Durante a reação uma molécula de água é usada. Na hidrólise da lactose, especial atenção deve ser dispensada para a influência da temperatura, do pH, do tempo de reação e da concentração da enzima, pois esses fatores determinam a velocidade da reação (EVANGELISTA, 2005; PROZYN, 2004).

3.2.1 Controle

Microrganismos deteriorantes podem causar alterações na aparência, sabor e aroma dos alimentos, quando encontrarem condições favoráveis para o seu crescimento. O controle do desenvolvimento microbiano indesejável em produtos como o iogurte, pode ser conseguido através do estímulo do desenvolvimento de microrganismos responsáveis por fermentações desejáveis (GAVA; SILVA; FARIAS, 2008), monitorando elementos importantes tais como:

- pH – o leite em seu estado natural tem um pH próximo ao valor de 6,4. Como na fermentação láctica há formação de ácidos, o crescimento de microrganismos

pode ser controlado pela acidez no meio, que no leite em especial é estabelecida em poucas horas.

- Fonte de energia - a maioria dos microrganismos ataca primeiro os carboidratos, depois as proteínas e as gorduras. O leite é facilmente fermentado porque a lactose é um açúcar simples.
- Disponibilidade de oxigênio - o oxigênio é um fator que limita bastante o crescimento de microrganismos.
- Temperatura – cada grupo de microrganismos possui uma temperatura ótima de crescimento e, portanto, a temperatura do substrato exerce um controle efetivo no crescimento microbiano. Pelo controle de temperatura, pode-se favorecer o desenvolvimento dos microrganismos necessários para determinada fermentação.
- Ação de cloreto de sódio – o cloreto de sódio, dependendo da sua concentração, é um fator negativo para a maioria dos microrganismos. Muitas bactérias lácticas conseguem crescer em determinadas concentrações de sal, produzindo ácido láctico, que também desfavorece o crescimento de microrganismos responsáveis pelas alterações dos alimentos.

3.3 Leites Fermentados

Entende-se por leites fermentados os produtos adicionados ou não de outras substâncias alimentícias, obtidas por coagulação e diminuição do pH do leite, ou leite reconstituído, adicionado ou não de outros produtos lácteos, por fermentação láctica mediante ação de cultivos de microrganismos específicos (BRASIL, 2007).

O consumo de produtos lácteos fermentados ocorre desde os tempos mais remotos, sendo consumido em especial pelos orientais (VEISSEYRE, 1988).

Segundo Moreira et al., (1999), os leites fermentados são importantes para o tratamento e prevenção de diversos distúrbios orgânicos, como desordens do estômago, fígado e intestinos.

De acordo com Soroa (1980), o consumo de leites fermentados estimula a produção de ácido láctico sobre as glândulas digestivas e intestinais, e reconstituem a flora intestinal.

A Instrução Normativa n° 46 (BRASIL, 2007), do Ministério da agricultura, classifica os leites fermentados em:

- Iogurte -produto cuja fermentação foi obtida com cultivos protosimbióticos de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* aos quais podem-se acompanhar, de forma complementar, outras bactérias ácido-lácticas que, por sua atividade contribuem para a determinação das características do produto final.
- Bebidas lácteas: além de iogurte, contém soro de queijo e por isso não podem ser denominadas iogurtes, pois o teor de sólidos não gordurosos do leite não atende à especificação mínima.
- Leite Fermentado ou Cultivado - produto cuja fermentação se realiza com um ou vários dos seguintes cultivos: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium* spp. *Streptococcus thermophilus* e/ou outras bactérias acidolácticas que por sua atividade contribuem para a determinação das características do produto final.
- Kefir - produto cuja fermentação resulta do cultivo de acidolácticos elaborados com grãos de Kefir, *Lactobacillus kefir*, espécies dos gêneros *Leuconostoc*, *Lactococcus* e *Acetobacter* com produção de ácido láctico, etanol

e dióxido de carbono. Os grãos de Kefir são constituídos por leveduras fermentadoras de lactose (*Kluyveromyces marxianus*) e leveduras não fermentadoras de lactose (*Saccharomyces omnisporus* e *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces exiguus*), *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium* ssp e *Streptococcus thermophilus*.

- Kumys - produto cuja fermentação se realiza com cultivos de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Kluyveromyces marxianus*.
- Coalhada - produto resultante da ação de fermentos lácticos mesofílicos individuais ou mistos produtores de ácido láctico sobre o leite pasteurizado ou esterilizado.

O processamento tecnológico dos diferentes tipos de leite fermentado é distinto, no entanto, as características mais apreciáveis e mais importantes destes produtos são o sabor e a textura. Essas propriedades estão relacionadas com pré-aquecimento da matéria prima e com o crescimento das cepas microbianas e perfeitamente controladas (AMIOT, 1991).

3.4 Iogurtes

O iogurte surgiu na Europa oriental, especialmente na Bulgária com os nômades (SÁ; BARBOSA, 1990). No passado, os nômades carregavam pelo deserto leite acondicionado em vasilhames feito de estômago de bezerros, com o balançar durante o percurso este leite se transformava em uma massa semi-sólida, pela ação da microbiota do leite, que encontrava no vasilhame condições ideais de incubação. As baixas temperaturas durante a noite paralisavam o processo de multiplicação dos microrganismos e ao amanhecer sem outra alternativa os nômades consumiam o produto e apreciando o seu sabor (AZEVEDO, 2004).

No Brasil, o iogurte foi introduzido nos anos 30, com a imigração européia, a partir de um pequeno grupo de consumidores; entretanto, o consumo só foi considerado significativo a partir de 1970 (KROLON, 2008).

Em 1910, um médico chamado Metchnikoff relacionou o consumo elevado de iogurte com a longevidade dos habitantes das montanhas da Bulgária. Descobriu que, em uma população com pouco mais de um milhão de habitantes, cerca de 1600 pessoas ultrapassavam os 100 anos de idade, com ótimas condições de saúde. Atribuiu a causa da longevidade ao iogurte, que continha bactérias capazes de converter o açúcar do leite em ácido láctico. Prosseguindo as suas investigações, isolou o bacilo e dedicou todos os seus esforços a estudar as propriedades deste microrganismo, que chamou de *Bacillus bulgaricus*, sendo mais tarde denominado *Lactobacillus bulgaricus*. No início do século XX, o iogurte era, portanto, considerado medicinal.

Para Machado et al. (2011), o iogurte, que era considerado um medicamento no início do século XX, hoje é consumido no mundo todo, em função de um modo de vida, cada vez mais ativo e urbano.

Estes microrganismos, após fermentarem o leite, fornecem uma melhor digestão prévia dos seus principais componentes, favorecendo uma melhor assimilação, pelo organismo de certos componentes do leite, principalmente a lactose e proteínas (BRANDÃO, 1995).

A composição do iogurte é similar à do leite, embora se reconheça que existem algumas diferenças devido a mudanças ocorridas pela fermentação bacteriana sobre a lactose e pela adição de leite em pó, normalmente feita para aumentar os sólidos do leite, o que permite maior conteúdo protéico, além da presença de aditivos e flavorizantes (BRANDÃO, 1995).

Segundo apuração feita pelo jornal “O Estado de S. Paulo”, houve um aumento nos rendimentos da população, que se refletiu no maior consumo de bebidas a base de soja (27%), leites aromatizados (26%), leites fermentados (21%) e sobremesas prontas (20%). De acordo com o estudo de mercado realizado por Machado et al. (2011), o consumo de iogurte no Brasil deve crescer entre 10 e 15%.

A Tribuna do Brasil (2011) destaca que a fabricação de iogurtes no Brasil cresceu consideravelmente nos últimos 20 anos registrando, atualmente, uma produção média de 400 mil toneladas/ano, representando 76% o total de produtos lácteos. Em 2007, o consumo de iogurte aumentou 32% em relação a 2006.

No entanto, o consumo de iogurtes pelos brasileiros ainda é pequeno (3,0 kg/ano), quando comparado a países como a França, Uruguai e Argentina, onde o consumo per capita do produto é de 7 a 19 kg/ano (SANTANA et al., 2006).

Segundo OLIVEIRA (1993), o iogurte consumido diariamente exerce, efeitos benéficos principais no auxílio da digestão no funcionamento geral do aparelho digestivo, na redução da incidência da intolerância à lactose, de doenças gastrointestinais e ação contra microrganismos indesejáveis ou patogênicos.

3.4.1 Processamento básico do Iogurte

Segundo ORDÓÑEZ et al. (2007), as etapas de processamento do iogurte estão descritas na Figura 3.

Primeiramente, a matéria prima deve ser enriquecida com os sólidos lácteos, para a padronização da gordura, filtrada, desaerada e homogeneizada, o que reduz o tamanho dos glóbulos de gordura e impede sua coalescência e a formação da linha de nata. Em seguida, o leite é tratado termicamente com o objetivo de destruir microrganismos que possam competir com o fermento do iogurte. Devem ser rigorosamente observados no aquecimento a temperatura e o tempo que a matéria-prima deve permanecer sob esse binômio tempo-temperatura, podendo variar de 75°C durante 15 minutos até um tratamento UHT a 133°C durante 1 segundo (ORDÓÑEZ et al., 2007).

Após aquecimento do leite, deve-se resfriá-lo à temperatura de 42 - 43°C. Isso pode ser feito pela substituição da água quente do banho-maria por água fria. Para não haver contaminação nessa fase, o recipiente do leite deve estar sempre fechado, sendo controlado por termopares (LOBATO, 2000).

Depois do leite resfriado (42-45°C), adiciona-se de 2 a 3% de fermento (cultura ou isca) apropriado, bem homogeneizado, quebrando-se todos os grumos e, após a adição do fermento, homogeneizado novamente por cerca de 2 minutos, para a sua distribuição completa (ORDÓÑEZ et al., 2007).

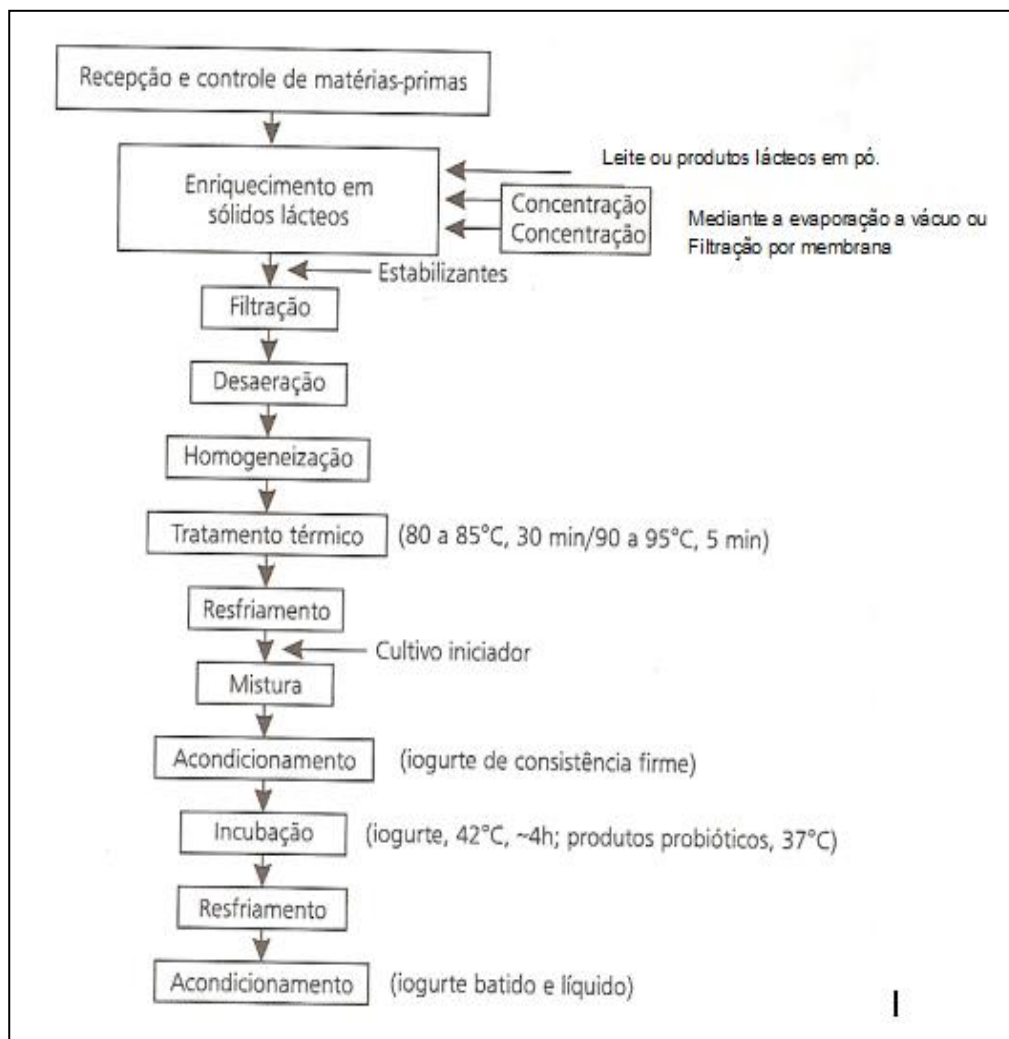


Figura 3. Etapas de processamento de iogurte e leites fermentados.

Fonte: ORDÓÑEZ et al. (2007).

O leite deve permanecer em completo repouso por aproximadamente 4-6 horas, mantido a uma temperatura de 42 a 45°C, após a inoculação dos microrganismos. Ao final da fermentação, o coágulo deve apresentar pH ente 4,5 e 4,7 ou acidez de 70°D a 72°D. O gel formado deve ser liso, brilhante, sem desprendimento de soro ou gases, com cheiro e sabor próprios (TAMIME; ROBINSON, 1991).

A etapa posterior é o resfriamento, que objetiva inibir o desenvolvimento das bactérias e, conseqüentemente, interromper a produção de ácido; é recomendado que se faça em duas etapas para evitar o choque térmico, o que provocaria um encolhimento da massa e danos ao coágulo, pois o resfriamento muito rápido pode provocar a separação de soro no iogurte (ORDÓÑEZ et al., 2005; TAMIME ; DEETH, 1980).

Segundo Ordóñez et al. (2007), a primeira etapa consiste em abaixar a temperatura a 18-20°C em, no máximo, 30 minutos, o que pode ser feito com água a temperatura ambiente. Enquanto que na segunda etapa deve-se fazer o resfriamento a 10°C.

A temperatura de armazenamento deve ser de 2 a 5°C para conservar e melhorar a consistência do iogurte, que deve ser consumido a temperatura de 10 a 12°C, na qual o sabor torna-se mais apreciável (LOBATO, 2000).

A utilização de edulcorantes no processamento de iogurtes tem o objetivo de diminuir a acidez proveniente da fermentação e/ou da adição de frutas mais ácidas, os adoçantes mais utilizados são a sacarose e frutose, no entanto, pode-se adicionar maltose, galactose e frutose (EARLY, 2000). Quando o iogurte é adicionado de frutas, o conteúdo de açúcares é de aproximadamente 50% (ALFA-LAVAL, 1990).

3.4.1.1 Tipos de culturas tradicionais utilizadas no processo de fermentação

As bactérias lácticas tradicionalmente utilizadas na fabricação de iogurtes são *Streptococcus thermophilus* (cocos unidos, geralmente em cadeias curtas) e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (bastonetes unidos em cadeias longas). Esses microrganismos são termofílicos e homofermentativos utilizando a lactose como substrato energético com liberação de ácido láctico. O crescimento associado destas duas culturas resulta em menor tempo de coagulação do leite, maior produção de ácido láctico e um maior desenvolvimento de sabor e aroma no iogurte (TAMIME; DEETH, 1980; SABOYA; OETTERER; OLIVEIRA, 1997).

Para a obtenção de um iogurte de qualidade, o bom desenvolvimento durante o processo de fermentação do leite deve-se à capacidade simbiótica das bactérias inoculadas. Os bacilos possuem atividade proteolítica promovendo a liberação de pequenos peptídeos e aminoácidos, especialmente valina, que favorecem o crescimento dos cocos. Por outro lado, o desenvolvimento dos cocos estimula o crescimento dos bacilos devido à produção de ácido fórmico e a redução da quantidade de oxigênio disponível no meio (SHAH, 2000; DRIESSEN et al., 1982; TAMIME; DEETH, 1980).

No início da fermentação, o pH do leite favorece o desenvolvimento de *S. thermophilus*, e com o aumento da acidificação, crescem *L. bulgaricus*. Estes são proteolíticos, obtêm aminoácidos a partir da caseína e ativam o crescimento dos estreptococos que, por sua vez, estimulam o crescimento dos lactobacilos, estabelecendo uma relação de simbiose (VARNAM, 1995). No entanto, quando uma grande quantidade de ácido láctico é acumulada no meio e o pH é extremamente reduzido, a inibição do desenvolvimento de *S. thermophilus* é iniciada, enquanto que *L. bulgaricus*, por ser mais resistente à acidez, aumenta e sobrepuja o primeiro, indicando uma relação de antibiose. Entretanto, em condições de pH 4,3, o crescimento de ambas as bactérias é inibido (FERREIRA, 2005).

Segundo Tamime e Deeth (1980) e Tamime e Robinson (1999), a relação ótima entre cocos e bacilos para o desenvolvimento do sabor e aroma característicos do produto é dependente das propriedades das linhagens utilizadas e a proporção entre os dois deve ser de aproximadamente 1:1. Este balanço adequado da cultura é importante para a obtenção de um iogurte com boas características sensoriais e conseqüentemente comerciais.

Lucey e Singh (1998) descreveram que a temperatura ótima de crescimento de *S. thermophilus* situa-se entre 40 - 45°C, atingindo um mínimo a 20°C e um máximo a 50°C. Para *L. delbrueckii* subsp *bulgaricus*, a temperatura ótima do crescimento situa-se entre 40 - 43°C, atingindo um mínimo a 22°C e um máximo a 52,5°C. Quando ocorre uma associação entre *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* subsp *bulgaricus* a temperatura ótima de crescimento fica entre 40 - 45°C e a coagulação pode demorar mais que quatro horas, dependendo da porcentagem de inóculo adicionada.

Souza (1996) afirmou que os estreptococos e os lactobacilos apresentam, ainda, resistência a degeneração, poder acidificante médio, e produzem substâncias responsáveis pela viscosidade, sabor e aroma característicos do iogurte.

3.4.2 Tipos de iogurtes

Existem, hoje no mercado, vários tipos de iogurte, classificados de acordo com o processo de elaboração, adição de ingredientes, composição, consistência e textura, sendo classificados segundo BRANDÃO,1995 em :

- Iogurte tradicional: o processo de fermentação ocorre dentro da própria embalagem; não sofre homogeneização e seu resultado é um produto firme, mais ou menos consistente;
- Iogurte batido: o processo de fermentação ocorre em fermentadeiras ou incubadoras com posterior quebra do coágulo;
- Iogurte líquido: o processo de fermentação é realizado em tanques e é comercializado em embalagens plásticas, tipo garrafa ou tipo “longa vida”.
- Bebidas lácteas: além de iogurte, contém soro de queijo e por isso não podem ser denominadas iogurtes, pois o teor de sólidos não gordurosos do leite não atende à especificação mínima.

Para Salado e Andrade (1989), os iogurtes são classificados conforme o aroma em: Iogurte natural: é o iogurte com típico sabor ácido; Iogurte com frutas: é produzido pela adição de frutas; Iogurte aromatizado: preparado por adição de açúcar, e/ou edulcorantes, saborizantes e corantes sintéticos, ao iogurte natural.

Os mesmos autores relatam que a incubação posterior ao processamento pode resultar em diferentes tipos de iogurte: iogurte pasteurizado, iogurte concentrado, iogurte congelado e iogurte em pó.

As propriedades físicas do iogurte, como consistência/ viscosidade do coágulo, são de suma importância, pois quanto maior o conteúdo em sólidos da mistura destinada elaboração do iogurte, maior a consistência e viscosidade do produto final. A prática utilizada nas indústrias é a adição de leite em pó (integral, semi-desnatado ou desnatado), com o objetivo de alcançar a concentração de sólidos necessária para a melhor consistência do iogurte (TAMIME; ROBINSON, 1991).

Segundo Blumer (1989) o padrão legal da FAO para a composição química do iogurte, em vários países está baseado no teor de gordura contido no produto.

3.4.3 Composição, valor nutritivo e terapêutico

Iogurte é um produto biológico e de alto valor nutritivo, não sendo permitido a utilização de conservantes ou inibidores (químicos) de fermentação, pois estes vêm eliminar o seu valor terapêutico e torná-lo um produto de difícil digestão (BISCAIA et al., 2004). O valor nutritivo do iogurte depende da sua composição, ou seja, da matéria prima utilizada, dos ingredientes adicionados e o processo de fabricação (EARLY,2000).

A composição do iogurte é semelhante à do leite, embora existam algumas diferenças decorrentes do processo de fermentação bacteriana sobre a lactose e pela adição de leite em pó, normalmente feita para aumentar os sólidos do leite, o que permite maior conteúdo protéico, além da presença de aditivos e flavorizantes (NEIROTTI; OLIVEIRA, 1988).

De acordo com Brandão (1995), os componentes normalmente presentes no iogurte de frutas são os seguintes: lipídeos: 1,5%; lactose: 3 - 4,5%; estabilizantes: 0,3 0,5% e sólidos totais: 12 - 16%. Este autor também relatou que os estabilizantes comumente usados nos iogurtes são gelatina, pectina e ágar-ágar. E a adição de leite em pó ou de concentrados protéicos, como os caseinatos com objetivos sensoriais, também contribui na melhoria do valor nutricional do iogurte, por aumentar o conteúdo protéico do mesmo.

O iogurte possui 10 vezes mais ácido fólico que o leite utilizado na elaboração. As principais vitaminas, em mg/100g, presentes no iogurte de leite desnatado são: vitamina A,

70; vitamina B₁, 42; vitamina B₂, 200; vitamina B₆, 46; vitamina B₁₂, 0,23; vitamina C, 0,7; ácido fólico, 4,1; ácido nicotínico, 125; ácido pantotênico, 381; biotina, 2,6; e colina, 0,6 (TAMIME; ROBISON, 1985).

Salado e Andrade (1989) consideraram que durante a acidificação biológica do leite, o ácido cítrico diminui de 25 a 350%, o ácido láctico aumenta cerca de 60% e o ácido acético aumenta cerca de 5%.

Tamime e Deeth, (1980) relataram que o iogurte é um alimento altamente nutritivo, rico em proteínas, cálcio e fósforo, recomendado para gestantes e lactantes, além de pessoas idosas, que necessitam da reposição de cálcio. Seu valor nutritivo é semelhante ao do leite utilizado em seu preparo, adicionado dos nutrientes metabolizados pelos microrganismos envolvidos no processo de fermentação.

Sá et al. (2007) afirmaram que o iogurte não deve possuir menos que 3,0% de gordura, enquanto o semi-desnatado contém não mais que 2,9%, e o desnatado menos de 0,5% da gordura do leite. Todos os tipos de iogurte citados devem possuir não menos que 15% - 16% de sólidos não gordurosos e acidez titulável entre 0,5 a 2,5% expressa em ácido láctico.

Pombo et al, (1983) destacaram que o iogurte baseia-se num gel firme e fino, resultante da fermentação da lactose em ácido láctico, o que ocasiona queda do pH e causa progressiva solubilização do fosfato-citrato de cálcio e agregação da caseína.

Para Souza (2006), o iogurte é mais digerível e apresenta uma concentração maior de proteínas, sais minerais, vitamina A, vitamina B12, cálcio e fósforo do que o leite.

Sá et al (2007) explicaram que o iogurte, além das qualidades nutricionais, possui a capacidade na melhoria da digestibilidade e aumento da capacidade de defesa do organismo; além disso, outros benefícios como níveis elevados do complexo B e de alguns aminoácidos, melhor utilização da lactose, níveis reduzidos de lactose no produto e maior disponibilidade de lactase.

Kleinman (1990) relataram que indivíduos podem aumentar sua tolerância a produtos lácteos por ingestão de produtos fermentados como o iogurte. A lactose ingerida no iogurte é mais efetivamente digerida que a lactose do leite, ainda que o iogurte tenha quantidade equivalente em lactose. Lin et al, (1991) atribuem esse fato à hidrólise intestinal, pela ação da β -galactosidase microbiana dos organismos presentes no iogurte, durante a passagem através do trato gastrointestinal.

A lactose presente no iogurte é mais facilmente digerível, pois cerca de 50% de sua concentração original já foi hidrolisada durante a fermentação e, quando as células bacterianas, durante o processo de metabolismo do organismo humano, sob condições de digestão gástrica, sofrem "lise", liberam lactase (BRANDÃO, 1995).

A homogeneização do leite para o preparo do iogurte quebra os glóbulos de gordura em partículas menores, o que facilita sua digestão, assim as lípases bacterianas hidrolisam as gorduras, resultando em ácidos graxos livres, o que facilita a sua absorção (GURGEL, 1994; SABOYA et al, 1997).

Blumer (1989) destacou alguns estudos que comparam a digestibilidade do iogurte e a do leite e esclarecem que: 32% do leite é digerido em uma hora; 36% do mesmo é digerido em duas horas; 44% é digerido em três horas. No caso do iogurte: 91% é digerido em uma hora; 92% é digerido em duas horas; 96,5% é digerido em três horas.

Brandão (1995) considerara que diferenças na digestibilidade entre leite e iogurte são atribuídas às mudanças químicas da proteína, durante a fermentação e que a digestibilidade das proteínas no iogurte é aumentada devido a diversos fatores como: tratamento térmico mais intenso; alta acidez e conseqüente menor coagulação das proteínas; secreção de enzimas digestivas das glândulas salivares, estimulada pelas partículas de proteínas coaguladas; homogeneização; aumento do teor de peptídeos e aminoácidos livres.

Salado e Andrade (1989) ressaltaram que as bactérias que produzem ácido láctico têm efeito antagônico sobre o crescimento de vários microrganismos devido aos produtos resultantes do metabolismo e das diferentes atividades bioquímicas. O ácido produzido pelas bactérias lácticas apresenta efeito bacteriostático e bactericida contra microrganismos sensíveis, principalmente bactérias esporogênicas.

Brandão (1995) relacionou a inibição do crescimento de tumores em ratos que ingeriram iogurte a fatores anticarcinogênicos produzidos por *Lactobacillus bulgaricus*. Saboya (1997) descreveu que as propriedades anticarcinogênicas de microrganismos do iogurte e de outras microbiotas lácticas podem estar relacionadas à eliminação de pró-carcinógenos, modulação de enzimas pró-carcinogênicas e supressão de tumor.

3.5 Alterações Durante o Armazenamento

Segundo Coelho et al. (2009) o iogurte, por estar sujeito a alterações microbiológicas e físico-químicas, deve ser submetido a análises periódicas, de forma a estabelecer o período em que o produto pode ser mantido no comércio em condições compatíveis com o consumo humano. Há vantagens econômicas na extensão da validade comercial do produto, entretanto, durante a validade comercial, o alimento deve atender às exigências de qualidade determinadas pela legislação vigente.

O produto deve ser conservado em frigorífico à temperatura máxima de 10°C, não sendo permitida a adição de substâncias conservadoras. O recipiente deve ser de material resistente à ação do iogurte e ser hermeticamente fechado e esterilizado industrialmente. As características sensoriais e a composição do produto não devem ser alteradas pelo material do recipiente, cujo espaço livre não deverá exceder 5% do seu volume (NUTRI, 2010).

Reddy et al. (1972) observou alterações químicas e físicas além das perdas nutricionais, durante o armazenamento a 5°C por 16 dias, como a perda de vitaminas em especial a B12 (28,6%) e ácido fólico (59,9%). A perda de outras vitaminas como niacina, ácido pantotênico e biotina não foram significantes.

Com a hidrólise das proteínas presentes no iogurte por ação microbiana, ocorre a formação do sabor amargo devido a formação de polipeptídeos a qual está diretamente relacionada ao pH, temperatura e tempo de armazenamento do produto. Uma oscilação considerável de temperatura durante o armazenamento propicia o desenvolvimento de microrganismos psicrótrófos, ou seja, aqueles que se desenvolvem em temperaturas de refrigeração levando a alterações indesejáveis no iogurte (MORENO; KOSIKOWISK, 1973).

Segundo Tamime e Robison (1988) os produtos resultantes das proteólises causadas por microrganismos vão depender dos componentes da fração protéica do leite e do tipo de enzimas proteolíticas presentes em maior proporção no iogurte, podendo liberar mais polipeptídeos na presença de polipeptidases ou aminoácidos livres quando em maior concentração de peptidases. No caso da hidrólise de peptídeos é possível observar que essa reação ocorre mais intensamente na fase logarítmica e que a proporção entre as culturas pode afetar o nível de aminoácidos presentes no iogurte podendo levar a uma acidez indesejável, causado pelo excesso de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Observa-se também, que após 24 horas de armazenamento, o espectro de aminoácidos no iogurte varia em relação a proporção de cocos e bacilos, onde na proporção de (1:1) ocorre a formação de 56% de tirosina, fenilalanina e leucina, já na proporção de (3:1), forma-se 71% de prolina e outros aminoácidos livres.

Tamime e Robison (1988) ainda ressaltam que na hidrólise de proteínas do leite o conteúdo de nitrogênio não protéico diminui quando a proporção de *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, diminui e relatam que a quantidade de ácidos graxos livres

podem alterar a atividade proteolítica da cultura láctica e afetar a textura do coágulo. Comentam também que a atividade proteolítica aumenta durante a hidrólise da lactose e que leite com bactérias psicotróficos se usado para a produção de iogurte, acarretará, no aumento significativo da atividade proteolítica das culturas, desenvolvendo sabores e aromas inaceitáveis.

Estudando a liberação de tirosinas e acetaldéidos, Shing e Sharma (1982) e Garcia e Valle (1986), constataram que culturas puras de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* apresentam maior atividade proteolítica quando comparados a culturas puras de *S. thermophilus*.

Segundo Gassem e Frank (1990) o iogurte elaborado com leite sem tratamento térmico apresenta um aumento significativo da proteólise, provavelmente devido às proteinases produzidas por psicotróficos presentes no leite e, por consequência, um produto de qualidade inferior após 15 dias de armazenamento.

Juffs (1975) realizou um estudo onde analisou a atividade proteolítica com liberação de tirosina, dos microrganismos presentes no leite armazenado em laboratório à 5°C por 7-8 dias, e a qualidade sensorial dos produtos, concluindo que a quantidade de tirosina pode ser usada para identificar a atividade proteolítica microbiana que ocorre durante o armazenamento de produtos lácteos.

3.6 Qualidade do Iogurte

Para avaliação da qualidade do iogurte, são utilizados alguns parâmetros como: avaliação microbiológica, de bactérias, coliformes, bolores, leveduras, teste de produção de acetaldéido, aspectos legais, conformidade quanto ao tipo e testes de validade comercial e de segurança (SOUZA, 1991). As avaliações sensoriais como sabor, aparência, consistência e textura são comumente observadas (PENNA et al., 1997).

Quanto à qualidade, o iogurte pode ser avaliado através de análises como: acidez titulável, pH, determinação da composição, validade comercial. Ajustes da escala de produção pelo controle da quantidade de cultivos iniciadores (starter), nivelando a concentração e observando um controle no tempo gasto na elaboração do produto, resulta em maior uniformidade entre os lotes com relação a produção de compostos responsáveis pelo aroma, atividade proteolítica e lipolítica e de substâncias, tais como; álcool, CO₂ e agentes texturizantes como exopolissacarídeos (FERREIRA, 2001).

Segundo Arcuri et al. (2006), na produção de iogurte, avaliações de pH e acidez do produto final, são tão importantes quanto ao aroma e sabor, pois um elevado teor de acetaldéido influencia diretamente nas características organolépticas do produto final.

De acordo com a legislação para leites fermentados (BRASIL, 2006), através da Instrução Normativa Nº 46, de 23 de outubro de 2007, o iogurte deve apresentar de 0,6 a 1,5g de ácido láctico/100g.

Segundo Early (2000), para a obtenção de um produto final de qualidade é necessário controlar rigorosamente fatores como características físicas e químicas da matéria-prima, os ingredientes adicionais, o tratamento térmico utilizado, a emulsificação ou homogeneização e a preparação da cultura e do substrato que está sendo usado para fermentação.

O teor de sólidos do leite exerce grande influência na acidez titulável, e por isso, o pH é o melhor critério para se expressar a acidez do iogurte. A acidez do iogurte é variável e, o ideal é que esteja na faixa de 0,7 a 0,9% de ácido láctico, ou pH de 4,4 a 4,0. Nestas faixas de pH e acidez, o iogurte não é insípido, nem amargo ou excessivamente ácido (SOUZA, 1991).

Pós-acidificação é a acidez produzida após o período de incubação, ou seja, no decorrer do resfriamento, armazenamento, e distribuição até o consumo do produto (TAMIME e ROBINSON, 1991). A consistência do iogurte está relacionada com sua acidez,

que se altera no período de armazenamento, em maior ou menor grau, dependendo da acidez inicial e da temperatura de estocagem do produto. O índice de acidez mínimo de 0,7% de ácido láctico (p/p) para o iogurte no decorrer de sua validade comercial é determinado pela Federação Internacional de Laticínios (IDF) (MARTIN, 2002).

O açúcar do leite é representado pela lactose e responde por cerca de 4,6% dos sólidos do leite. Este carboidrato é um dos principais responsáveis pelo sabor e acidez agradável dos produtos lácteos (LOBATO, 2000).

A redução da viscosidade do iogurte pode ocorrer em diferentes etapas após a incubação: no bombeamento e transporte, resfriamento e na distribuição e acondicionamento. Para que o iogurte tenha boa consistência, o leite deve ter 15% de extrato seco desengordurado e para aumentar o teor de sólidos, pode-se adicionar leite em pó ou leite concentrado (EQA:UFSC, 2011).

A avaliação sensorial é uma ferramenta importante para estabelecer a vida útil dos alimentos. A consistência final do iogurte depende em parte de fatores de fabricação, porém as bactérias lácticas também exercem papel importante na obtenção de boa textura, suave e viscosa, por produção de substâncias mucilaginosas. Estas substâncias são importantes porque diminuem a necessidade de estabilizantes, favorecem a retenção de aromas e conferem aspecto brilhante ao produto (VARNAN; SHERLAND, 1995, *apud* SOUZA, 2006).

Souza (1991) relatou que o ácido láctico produzido pelas bactérias não tem odor e não influi no aroma do produto, mas é responsável pelo sabor ácido e fresco, sobretudo, outros pesquisadores demonstraram que o sabor e aroma do iogurte são provenientes do ácido láctico e também das pequenas quantidades de acetaldeído, diacetil e ácido acético.

3.6.1 Qualidade do leite utilizado como matéria prima para a produção de iogurte

Lobato (2000) ressaltou que a higiene na hora da ordenha é um fator muito relevante, pois de uma matéria-prima contaminada jamais se obterá um produto de boa qualidade. O leite para fabricar o iogurte deve ser fresco, produzido em condições sanitárias adequadas, com baixa contagem total de bactérias, ausência de microrganismos patogênicos e de substâncias inibidoras. O leite deve ser padronizado quanto ao teor de gordura, de 3 a 4%, esta deve ocorrer antes do processo de fermentação, resultando em um produto uniforme, além de influenciar na consistência e textura do iogurte (REIS et al, 2007).

Segundo Medeiros et al. (2005), os cuidados para a produção de um leite com boa qualidade é de suma importância na fabricação do iogurte. Alguns pontos como instalações, pessoal, utensílios, conservação (refrigeração), sanidade animal, uso de antimicrobianos devem ser observados.

Arashiro et al. (2007), afirmaram que o leite com alta contagem de células somáticas também influencia o processo de fabricação e a qualidade final do iogurte. Apresenta ainda menores concentrações de lactose, interferindo de maneira negativa no crescimento das culturas lácticas.

A presença de resíduos de antimicrobianos no leite é determinada como fraudado, representando riscos para a saúde pública e para a indústria de laticínios (AGROPORAL, 2002).

Lacaz (1992) considerou que a presença de antimicrobianos, mesmo em pequenas concentrações no leite utilizado como matéria-prima para o iogurte, é capaz de inibir a fermentação láctica.

Para Figueiredo e Porto (2002), a qualidade dos produtos lácteos está relacionada à qualidade da matéria-prima, ou seja, dos leites crus que chegam à plataforma de recepção e os

parâmetros de qualidade do leite comercial são muito utilizados a fim de identificar problemas nas práticas de produção e para determinar o valor do leite.

Na produção do iogurte, a seleção do leite deve preencher algumas condições como aroma e sabor normais, alto teor de sólidos totais, acidez inferior a 20° D, ausência de substâncias inibidoras de enzimas, ausência de microrganismos patogênicos e teor de gordura padronizado (EQA:UFSC, 2011). Acidez alta ou muito baixa, sabor amargo, sabor de ranço, oxidação, leite salgado, com odor desagradável, gomoso, leite com resíduo de antibióticos, pesticidas e sanitizantes são alguns defeitos no leite que impedem o uso na fabricação de iogurtes (ARCURI et al, 2006).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Nestes tópicos serão descritos os materiais e reagentes utilizados na pesquisa, a metodologia utilizada para amostragem e os procedimentos analíticos laboratoriais com objetivo de obtenção, preparo e determinação das amostras.

4.1 Aquisição das amostras

Iogurtes tipo natural e integral de quatro fabricantes denominados A, B, C e D, foram adquiridos no comércio da cidade de Nova Iguaçu, Rio de Janeiro, no período de novembro de 2010 a março de 2011. Considerando o tempo de fabricação, as amostras foram enquadradas como pertencentes a faixa I (até 20 dias de fabricação) e faixa II (mais de 20 dias de fabricação). Os iogurtes foram transportados em caixas isotérmicas até o laboratório de Microbiologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) – Instituto de Tecnologia, Seropédica, onde foram analisados imediatamente.

Os produtos adquiridos tinham prazo comercial de 45 dias, estabelecido pelos fabricantes. No total foram avaliadas 77 amostras distribuídas entre as marcas denominadas A,B,C ,D e entre as faixas I e II, sendo 18 unidades da marca A (9 da faixa I e 9 da faixa II), 19 unidades da marca B (9 da faixa I e 10 da faixa II), 20 unidades da marca C (10 de cada faixa), e 20 unidades da marca D (10 de cada faixa).

4.2 Preparação de amostras para análise

As amostras foram homogeneizadas com bastão de vidro esterilizado, por 15 segundos (BRASIL, 1981), observando-se a aparência do produto.

Foram retirados asepticamente 25g de iogurte com auxílio de uma espátula esterilizada, transferidos para um frasco estéril com 225 mL de diluente (água peptonada 0,1%), obtendo-se a diluição 10^{-1} . Sucessivamente a partir desta diluição realizaram-se diluições seriadas até 10^{-7} , através da transferência de 1 mL de cada diluição para tubos contendo 9 mL da solução diluente (Figura 4). Alíquotas destas diluições foram semeadas em diferentes meios, seja para determinação de bactérias lácticas ou bolores e leveduras.

4.3 Contagem de estreptococos e lactobacilos nos iogurtes

A partir da diluição 10^{-4} semeou-se pelo método de semeadura por espalhamento em superfície, volumes de 0,1 mL em placas duplicatas nos meios: ágar Lee, meio diferencial que permite o crescimento tanto de lactobacilos como de estreptococos; ágar MRS acidificado a pH 5,2 e ágar LB para avaliação seletiva da população de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; Ágar ST e M17 para avaliação seletiva da população de *S. thermophilus*. Os meios foram preparados conforme descrito por Downes e Ito (2001).

Após a inoculação, as placas de Petri foram incubadas invertidas em jarras contendo gerador de anaerobiose Anaerobac (PROBAC) a 37°C por 72 horas (IDF, 1997).



Figura 4: Preparo de diluições decimais seriadas

4.4 Contagem de bolores e leveduras

Para a enumeração de bolores e leveduras, foi empregado o meio Agar Batata Dextrose (ABD), ajustado a pH 3,5 com solução 10% de ácido tartárico. Para o procedimento analítico inoculou-se 1 mL das diluições 10^{-1} a 10^{-4} em placas em duplicata. As placas foram então incubadas a 28°C por 72hrs.

A contagem de bolores e leveduras foi realizada de acordo com os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal – MAPA (BRASIL, 2003).



Figura 5. Contagem de colônias usando o contador de colônia Quebec.

4.5 Avaliação da Morfologia Celular

Para confirmar a presença de cocos ou de bacilos Gram positivos, as colônias observadas nos diferentes meios foram submetidas à esfregaço e coradas pelo método de Gram. As lâminas foram observadas em microscópio óptico com objetiva de imersão.

Posteriormente também foi realizada a prova de catalase.

4.6 Determinação de pH

A determinação dos valores de pH foi realizada em triplicata em pHmetro digital, marca Tecnozon (Piracicaba, SP) calibrando-se o aparelho com soluções tampão, de acordo com a metodologia estabelecida pelo Instituto Adolfo Lutz (SÃO PAULO, 2008),

4.7 Determinação da acidez titulável

A acidez expressa ácido láctico, foi determinada em triplicata, através do método de titulométrico (Figura 6) com solução de NaOH 0,1N, usando como indicador a solução de fenolftaleína 1,0%, conforme a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).



Figura 6. Determinação de acidez dos iogurtes

4.8 Análises estatísticas

Os resultados obtidos nas determinações físico-químicas (pH e acidez) e na contagem do número de células viáveis de *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* e *S. thermophilus*, das amostras de iogurtes, avaliados por marca e por tempo de fabricação (Faixas I e II), foram tratados estatisticamente pelo teste de comparação de médias de Newman-Keuls (SNK), utilizando-se o programa computadorizado XLSTAT versão 7.5.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram avaliados quatro marcas de iogurte adquiridas no comércio entre os meses de novembro de 2010 a fevereiro de 2011, totalizando 77 amostras, entre as quais 45% estavam com até 20 dias de fabricação (faixa I) e 54% com mais de 20 dias de produção (faixa II).

5.1 Contagem de bactérias lácticas específicas do iogurte

Na contagem total de bactérias lácticas foi empregado o Ágar Lee, enquanto para determinação seletiva de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* os meios Ágar LB e Ágar MRS acidificado a pH 5,2 e para *S. thermophilus* os meios Ágar ST e Ágar M17.

Os valores médios de contagem nos diferentes meios encontram-se na Tabela 1 e Figura 7. Foram detectadas diferenças significativas ($P < 0,05$) entre as médias das contagens nos diferentes meios pelo teste de Newman-Keuls. No meio Lee foi observada o maior número de células, pois não sendo um meio seletivo, permite uma melhor recuperação das bactérias, especialmente as que sofreram alguma injúria, enquanto que os menores números foram observados no meio MRS acidificado. A capacidade de recuperação celular nos meios ST e LB não diferiram entre si (Tabela 1).

O meio Ágar M17 apresentou melhor recuperação de cocos que o meio ST. Além disso, mostrou-se bastante seletivo, não sendo detectado crescimento de lactobacilos neste meio.

Tabela 1. Médias das contagens e teste de Newman-Keuls (SNK) para análise de diferenças na capacidade de recuperação dos microrganismos do iogurte nos diferentes meios.

MEIOS	MÉDIA
LEE	8,643 ^A
M17	8,097 ^B
ST	7,770 ^C
LB	7,505 ^C
MRSac	6,926 ^D

Letras iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença significativa pelo teste de Student-Newman-Keuls ($P < 0,05$).

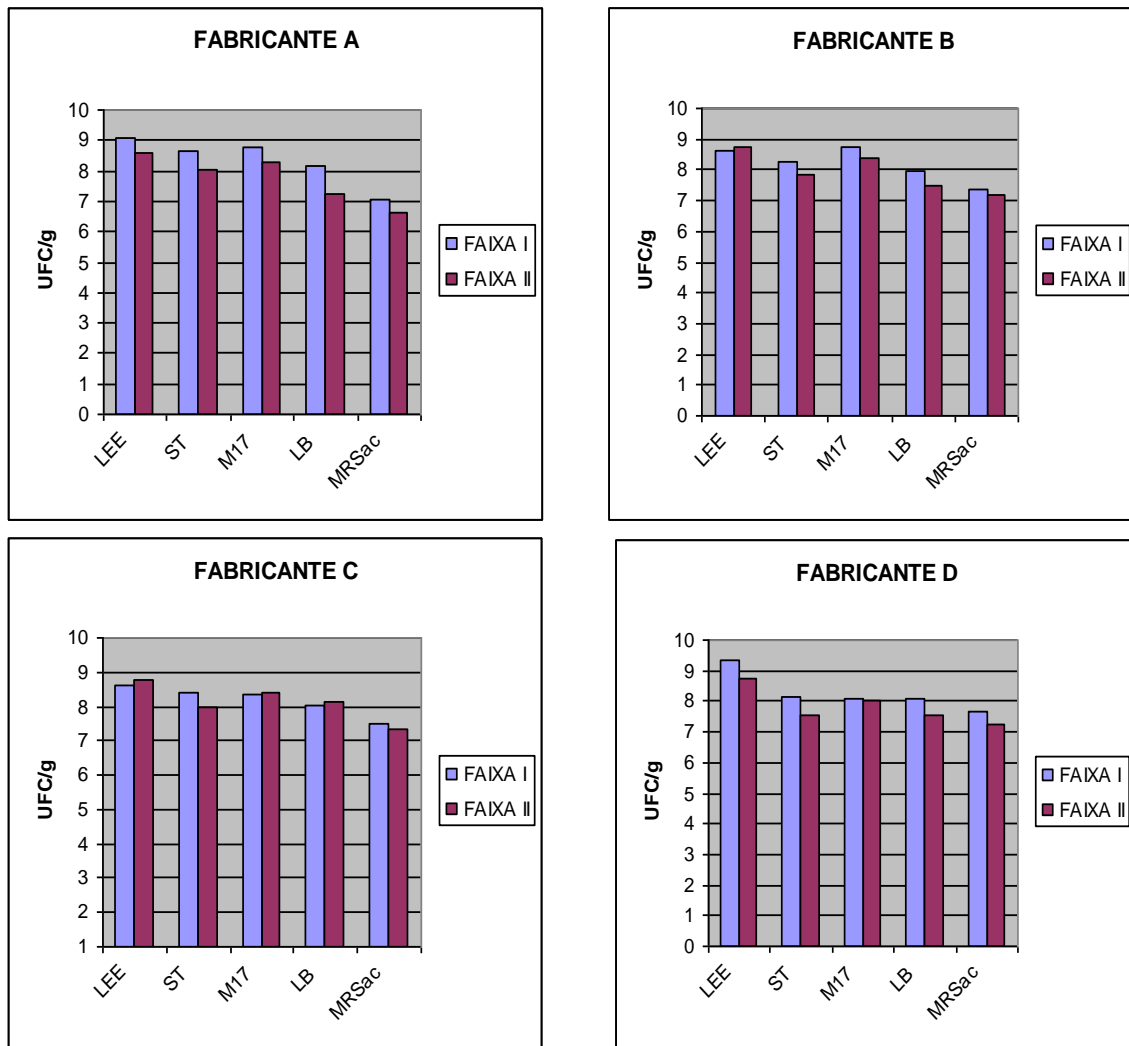


Figura 7: Contagem da microbiota láctica de iogurtes com até 20 dias de fabricação (Faixa I) e mais de 20 dias de fabricação (Faixa II) dos fabricantes A, B, C e D nos diferentes meios de cultura (Lee,ST,M17,LB e MRSac).

Ao avaliar o crescimento das bactérias lácticas totais nas diferentes marcas de iogurte, verifica-se que não foi encontrada diferença significativa entre as quatro marcas avaliadas, sendo os valores médios muito próximos (Figura 8)

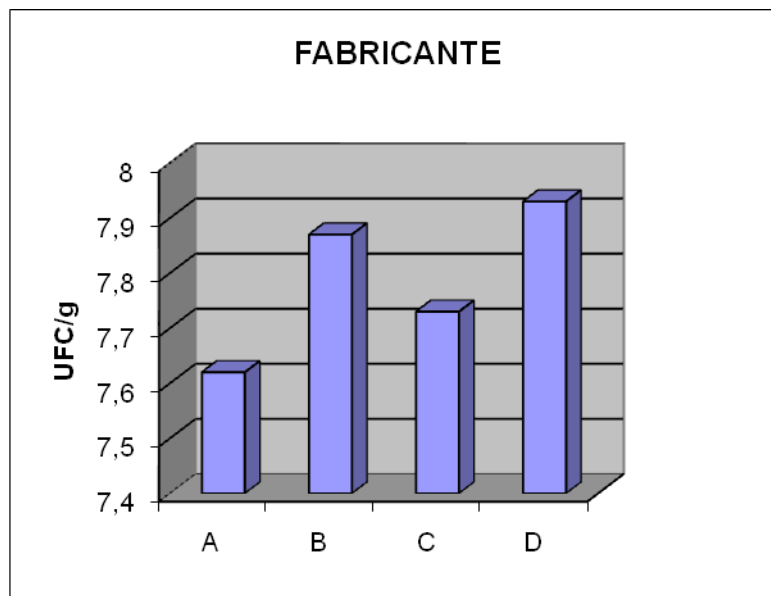


Figura 8. Médias gerais das contagens obtidas nos cinco meios avaliados (Lee, ST, M17, LB e MRSac.) para os fabricantes A, B, C e D.

A Instrução Normativa 46 do MAPA (BRASIL, 2007) estabelece um limite mínimo para as bactérias lácticas totais como sendo de 10^7 UFC/g, determinando que esses microrganismos específicos devam estar viáveis, ativos e abundantes no produto final e durante seu prazo comercial. Sendo assim, as amostras analisadas atenderam a legislação vigente no que se refere ao mínimo exigido de bactérias lácticas totais (Tabela 1; Figura 7).

5.2 Proporção entre bacilos / cocos e evolução do pH e acidez dos iogurtes

Foram adotados os meios Ágar LB para contagem de lactobacilos e o meio Ágar M17 para contagem de estreptococos, visto serem os meios que apresentaram maior contagem para os respectivos microrganismos. Em cada uma das amostras do iogurte foram observadas as proporções de cocos e bacilos pela diferença morfológica celular das bactérias e as contagens das colônias nos meios LB e M17.

A identificação dos cocos e bacilos tem importância uma vez que a indústria deve produzir e comercializar iogurtes com níveis aceitáveis de estreptococos e lactobacilos para obtenção de produto com características desejáveis.

A morfologia das células de esfregaços de colônias nos diferentes meios de cultura empregados e corados pelo método de Gram foi visualizada por microscopia óptica. Foram encontradas estruturas em forma de cocos na totalidade dos esfregaços das colônias do meio Ágar M17, sendo que no meio Ágar ST alguns bacilos foram encontrados. No meio Ágar MRS acidificado a totalidade dos esfregaços das colônias observadas foi de bacilos alongados, enquanto que no meio Ágar LB, células bacilares mais curtas foram observadas (Figura 9).

Embora todas as amostras analisadas tenham atendido a legislação vigente no que se refere ao mínimo exigido de bactérias lácticas totais, foi verificado um desequilíbrio na proporção relativa de bacilos e cocos recomendada que deveria ser de 1:1 até 1:4, conforme afirmações de Lee et al. (1974).

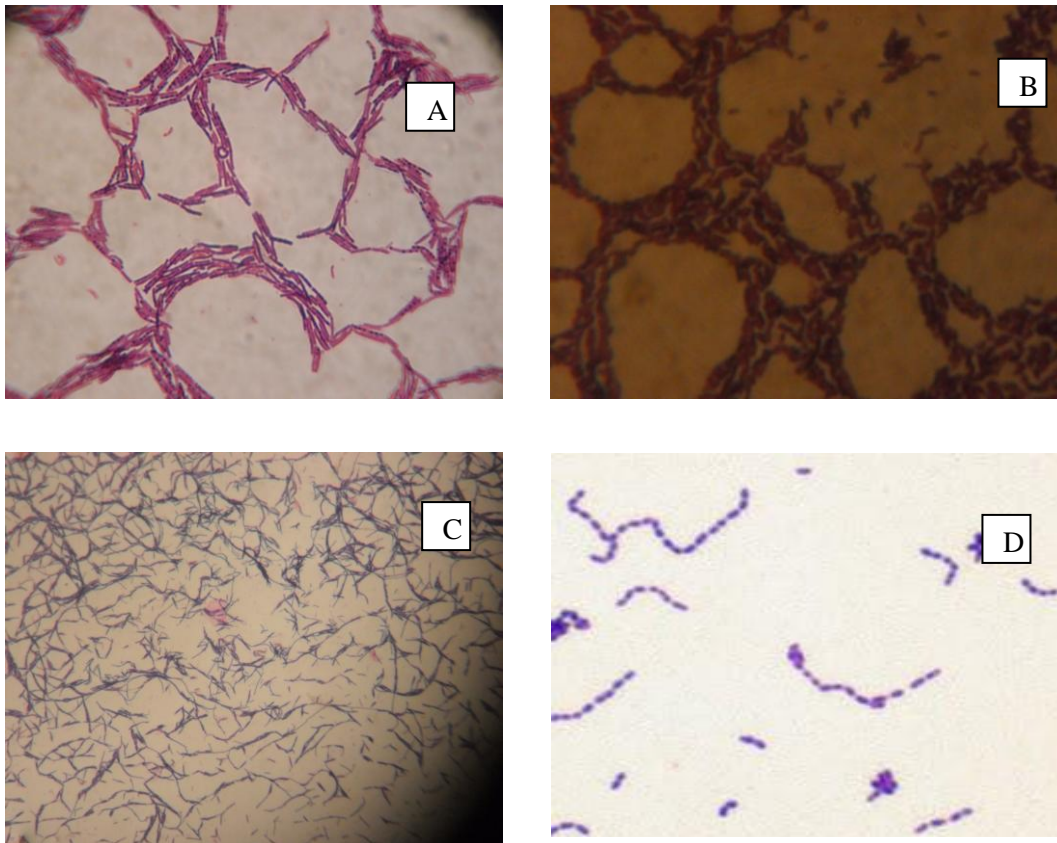


Figura 9: Morfologia celular de esfregaços corados pelo método de Gram mostrando formas bacilares em meio ágar LB (A) e em ágar Lee (B) formas bacilares alongadas em meio ágar MRSacidificado (C) e formas cocoides em cadeia no meio ágar M17 (D).

As médias das contagens de lactobacilos e estreptococos observados nos meios LB e M17 respectivamente são inseridas na Tabela 2.

Observou-se redução de 1 ciclo logarítmico na população de lactobacilos e de 0,6 na de estreptococos da faixa I para II nos iogurtes da marca A. Aparentemente a linhagem de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* usada por esta empresa perdeu a viabilidade durante o armazenamento. Houve redução significativa no número de unidades formadoras de colônia (UFC/g) de lactobacilos com o tempo de armazenamento, mas não no número de estreptococos. Como consequência, a proporção de cocos em relação ao de bacilos aumentou 8,9 vezes da faixa I para II passando de 3,9 para 12,8. Segundo Anderson, (1992) para que a qualidade do iogurte seja garantida, o número de células de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *S. thermophilus*, individualmente, não deve ser inferior a 10^7 /mL.

De acordo com Tamime e Robinson (1985) em um processo que empregasse proporções de 1:1 de *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* seria esperado uma concentração maior de *L. bulgaricus*, uma vez que o coco é inibido pela acidez produzida (em pH abaixo de 5,0) e lactobacilos continuam a se multiplicar, embora mais lentamente. No entanto, os resultados encontrados nesta pesquisa foram diferentes, já que houve redução no número de UFC/g de lactobacilos nos iogurtes do fabricante A durante o armazenamento e não houve diferenças significativas nas contagens de cocos e de bacilos nos iogurtes dos outros fabricantes (Tabela 2).

De acordo com Moreira (1999) as variações encontradas entre diferentes fabricantes se devem a vários fatores, como controle inadequado da cultura, pontos falhos na fabricação

ou deficiência na manipulação e condições de estocagem incorretas durante a fabricação e comercialização.

Já nos iogurtes do fabricante B, tanto na faixa I como na faixa II o número de estreptococos foi significativamente superior ao de lactobacilos. De uma faixa para outra não houve aumento significativo no número de cocos ou de bacilos. Desta forma a proporção de bacilos e cocos não foi alterada significativamente na comparação entre as faixas.

As contagens de lactobacilos e estreptococos das marcas C e D não diferiram significativamente entre si e de uma faixa para outra. A proporção relativa de bacilos foi maior quando comparada aos iogurtes de outras marcas. Portanto, os iogurtes destas marcas foram os que apresentaram o melhor balanço relativo entre os dois microrganismos, uma vez que a quantificação dos dois microrganismos não diferiu significativamente.

Tabela 2. Contagem e proporção de lactobacilos e estreptococos nos meios LB e M17 nas faixas A e B.

MARCA	FAIXA I (ATÉ 20 DIAS)			FAIXA II (APÓS 21 DIAS)		
	lactobacilos	estreptococos	bacilo/coco	lactobacilos	estreptococos	bacilo/coco
A	1,48x10 ⁸ Aa	5,72x10 ⁸ Aab	1:3,9	1,48x10 ⁷ Bb	1,90x10 ⁸ Aa	1:12,8
B	9,72x10 ⁷ Ba	5,49x10 ⁸ Aa	1:5,6	4,69x10 ⁷ Bab	2,91x10 ⁸ Aa	1:6,20
C	1,02x10 ⁸ Aa	2,15x10 ⁸ Ab	1:2,1	1,51x10 ⁸ Aa	2,46x10 ⁸ Aa	1:1,60
D	1,24x10 ⁸ Aa	4,30x10 ⁸ Aab	1:3,2	1,09x10 ⁸ Aa	2,30x10 ⁸ Aa	1:2,10

Médias de tratamentos com letras maiúsculas diferentes nas linhas e com letras minúsculas diferentes nas colunas em cada faixa, diferindo significativamente entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls (P<0,05).

A proporção de cocos e bacilos na cultura do iogurte é normalmente de 1:1 ou 2:1 e é evidente que o equilíbrio entre estes pode ser quebrado com facilidade, a menos que variáveis como as quantidades inoculadas, tempo e temperatura de armazenamento se mantenham sob estrito controle (BRANDÃO, 1995). Stocklin (1969) recomenda que esta proporção seja de 1:1 ou 1:2. Contudo Lee et al. (1974), Platt (1969), Tamime e Robinson (1991), afirmaram que a razão de 1:1 no iogurte produz uma quantidade substancialmente maior de aminoácidos livres, do que quando a razão 1:3 é utilizada. Segundo estes autores 70 µg% são liberados na razão 1:1, seguida de 50 µg% na proporção 1:2 e 41 µg% na proporção 2:1. Contudo a acidez destes iogurtes foi um pouco mais elevada atingindo 1,9% de ácido láctico na proporção 1:1.

5.2.1 Características Químicas do Iogurte: pH e Acidez

Com a finalidade de acompanhar a acidez do produto, e seus efeitos sobre os atributos de qualidade do iogurte, procedeu-se a titulação de cada amostra de iogurte, uma vez que a acidez é um dos fatores que limita uma aceitação do produto.

Os resultados obtidos nas determinações físico-químicas (pH e acidez) das amostras nas quatro diferentes marcas avaliados em diferentes tempos de validade comercial, faixas A (até 20 dias) e faixa II (após 20 dias), encontram-se na Tabela 3 e Figura 8 onde os valores representam a média das amostras de cada fabricante.

Tabela 3. Médias de pH e Acidez (% g/mL de ácido láctico)

Marca	Acidez		pH	
	Faixa I	Faixa II	Faixa I	Faixa II
A	0,70 Ab	0,75 Ab	4,09 Aa	3,95 Aa
B	0,75 Ab	0,72 Ab	3,99 Aa	3,90 Aa
C	0,76 Ab	0,83 Ab	4,01 Aa	4,01 Aa
D	1,00 Aa	0,94 Aa	4,00 Aa	4,02 Aa

Médias seguidas de mesma letra maiúscula em cada linha e da mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente ao nível de 0,05%

Interpretando-se os valores expostos na Tabela 3, observa-se que não houve diferença significativa de acidez e pH relacionados ao tempo de vida de prateleira, isto é, faixas I e II. Também não foi observada diferença significativa nos valores de pH das diferentes marcas de iogurte.

Com relação à acidez os iogurtes do fabricante D foram significativamente mais elevados ($P < 0,05$) quando comparado aos demais iogurtes (Tabela 3). Entretanto a acidez mais elevada dos iogurtes do fabricante D não resultou em um menor pH nestes produtos. Desta forma, estes iogurtes possuíam maior resistência à redução do pH, possivelmente devido a um teor de sólidos mais elevado que propiciou um sistema tampão às mudanças de pH. Outra possibilidade seria a capacidade proteolítica da linhagem de lactobacilos empregada pela empresa D em hidrolisar a caseína liberando produtos capazes de elevar o pH do iogurte de maneira semelhante ao relatado por Suriyarachch e Fleet (1981) com espécies proteolíticas de leveduras.

É amplamente aceito por vários autores que lactobacilos resistem melhor a valores de pH baixos e tendem a superar a população de estreptococos quando o pH é inferior a 4,0, que frequentemente é atingindo por pós acidificação durante a validade comercial destes leites fermentados. Ao término do período fermentativo os iogurtes apresentam um pH em torno de 4,2-4,5 e a proporção esperada de lactobacilos e estreptococos é de 1:1. *S. thermophilus* tem seu crescimento inibido em pH 4,2-4,4 ou abaixo, sendo que *L. bulgaricus* pode tolerar pH 3,5-3,8 (ARNOTT et al., 1974 ; MOREIRA et al., 1999).

A intensidade da pós-acidificação em iogurtes depende da capacidade de acidificação das culturas, da etapa de fermentação nos tanques, do resfriamento, da temperatura de armazenamento e do valor de pH inicial (SHAH e RAVULA, 2000; TAMIME e ROBSON, 1975).

Com relação aos iogurtes da marca D nos quais foi registrada a maior acidez (Tabela 3), também foi encontrada uma proporção de lactobacilos em relação a cocos mais elevada que nos iogurtes dos fabricantes A e B (Tabela 3).

Longo et al. (2006), analisando a acidez de iogurtes naturais no Paraná, obtiveram resultados semelhantes aos do presente trabalho e consideraram a pós-acidificação como a possível causa do aumento da acidez titulável de algumas amostras analisadas

De acordo com Lourens-Hatting e Vijoen (2001), uma excessiva pós-acidificação ocorre, principalmente, devido o crescimento incontrolável de *L. bulgaricus* nas temperaturas de refrigeração pode ser prevenida através do controle do pH, da aplicação de Boas Práticas

de Fabricação. Entretanto isto não foi observado nos iogurtes estudados, pois mesmo os do fabricante D que apresentaram uma maior acidificação ainda continham um número maior de estreptococos relativo ao de lactobacilos.

Segundo Veisseyre (1988), o iogurte pode atingir um pH final entre 3,6 a 4,3 no qual as bactérias lácticas desenvolvem-se normalmente. Os valores de pH das amostras de iogurtes da marca B variaram de 3,5 a 4,2 representando a maior variação encontrada. Esta variação maior nos valores de pH dos diferentes lotes podem estar relacionados à deficiências na manutenção da qualidade como condições de temperatura de armazenagem não controladas.

De acordo com Dave Shah (1998) e Gueimonde et al. (2004) entre os fatores que influenciam no pH estão temperatura de armazenagem, a concentração de oxigênio contida no produto e permeabilidade do oxigênio através da embalagem, presença de conservantes e de outros microrganismos, aumento da acidez durante a armazenagem, o ácido e o peróxido de hidrogênio produzidos pela bactéria do iogurte alteram no valor do pH. Assim alguns destes fatores provavelmente terão contribuído para uma maior acidez encontrada em algumas destas amostras.

Os valores médios de acidez oscilaram entre 0,70 a 1,00 (Tabela 3), atendendo a legislação que considera aceitável uma acidez entre 0,6 a 1,5 gramas de ácido láctico/100g de acordo com FIL150:1991 e Instrução Normativa nº 46 (BRASIL, 2007).

Tealdo (1989) verificou uma menor aceitação do produto quando este atingiu valores a partir de 1,12% de ácido láctico, durante o armazenamento.

Para Tamime e Robinson (1991), o desenvolvimento de acidez no iogurte não deve ultrapassar valores de 1,17%, após o armazenamento, valores estes maiores que os encontrados nesta pesquisa.

Não existe uma concordância entre os autores no que diz respeito aos valores adequados de acidez do iogurte. Para Humphrey e Plunkett (1969), a acidez inicial deve ser de 1,0 a 1,25% enquanto para Ginslov (1970) a acidez deve ser menor que 1,2%. Segundo Brandão (1995) imediatamente após sua produção, o iogurte deve apresentar uma acidez de 0,9 a 1,0%.

Souza (1991) afirma que acidez entre 0,7 e 1,25% são comuns, sendo ideal a faixa de acidez entre 0,7 e 0,9%. Entretanto, para Tamime e Robinson (1991), o desejável para iogurte é apresentar uma acidez em torno de 0,72-1,17% de ácido láctico.

O problema da pós-acidificação pode ser reduzido e até solucionado, com uma adequada manutenção das condições ideais de temperatura, durante o armazenamento do produto, evitando assim, outras modificações no iogurte como desenvolvimento de microrganismos tolerantes à acidez, e alterações sensoriais que comprometem a qualidade e comercialização do produto. Em experimentos verificando a qualidade de iogurtes, Salinas (1986) relatou que o aumento de acidez titulável é diretamente proporcional ao tempo de armazenamento.

Salji e Ismail(1983) concluíram que as mudanças na acidez do produto ocorreram em maior ou menor grau, dependendo do valor inicial da temperatura de refrigeração, do tempo de armazenamento e do poder de pós-acidificação das culturas utilizadas, nas amostras analisadas. A acidez excessiva em iogurtes favoreceu o rigor no cumprimento da data de validade destes produtos. Isto obrigaria a sua retirada do mercado, uma vez que esta variação de acidez pode favorecer ao desenvolvimento de outros microrganismos mais resistentes a acidez como fungos além de causar alterações sensoriais indesejadas no produto

Moreira (1999) analisou diferentes tipos de iogurte fabricados na região de Lavras-MG e encontrou, em sua pesquisa, acidez em torno de 1%, e em dois tratamentos a acidez atingiu concentração de até 1,2% de ácido láctico, embora o desejável seja apresentar acidez em torno de 0,70-0,72% de ácido láctico segundo Abreu (1997).

Para Bellucci (1991) o aumento de acidez titulável, em seu experimento, foi diretamente proporcional à temperatura de armazenamento. À temperatura de 12°C todos os tratamentos produziram valores maiores de acidez titulável do que a temperatura de 3°C.

5.3 População de bolores e leveduras e nos iogurtes

A presença de leveduras e bolores em iogurte é um indicativo de práticas sanitárias insatisfatórias na fabricação. Iogurtes com açúcar ou frutas adicionados são especialmente susceptíveis ao crescimento de leveduras. Para Arnott, Duitschaever e Bullock (1974), contagens de leveduras menores que 10 UFC/g e de bolores menores que 1 UFC/g são ideais. São consideradas insatisfatórias contagens de leveduras maiores que 100 UFC/g e maiores que 10 UFC/g de bolores.

Não foram detectados bolores e leveduras nos iogurtes da faixa I como II, sendo os valores de todas as amostras menores que 10 UFC/g. Portanto os iogurtes nos lotes dos quatro fabricantes analisados encontram-se dentro do valor máximo de 200 UFC/g permitido pela legislação brasileira (BRASIL, 2007) e conforme as especificações sugeridas por Arnott, Duitschaever e Bullock (1974).

Em 1997, Hoffmann e colaboradores fizeram um estudo em São José do Rio Preto, com 26 amostras de iogurte sendo que destas, 22,2% se mostraram em desacordo com a legislação brasileira e, portanto, não deveriam ser ingeridas, visto que poderiam acarretar dano à saúde pública. Algumas espécies de bolores e leveduras utilizam ácido láctico, elevando, conseqüentemente, o valor de pH do meio conforme (FRANCO; LANDGRAF, 2003). De outra forma, Suriyarachch e Fleet (1981) isolaram de iogurtes espécies proteolíticas de leveduras capazes de elevar o pH do produto através da hidrólise da caseína.

6 CONCLUSÕES

Todas as amostras analisadas atenderam a legislação vigente no que se refere ao mínimo exigido de bactérias lácticas totais que é de 1×10^7 UFC/g. Também estavam de acordo com relação à acidez, pH e contagem de bolores e leveduras contaminantes.

Foi verificado um desequilíbrio no número de lactobacilos que foi inferior ao de cocos e, considerado inadequado, em duas das quatro marcas comerciais estudadas, provavelmente, devido perda de viabilidade durante o armazenamento.

Nos iogurtes da marca A houve redução significativa no número de lactobacilos da faixa I (até 20 dias) para faixa II (após 20 dias) levando a um aumento na proporção de cocos relativa ao de bacilos. Nos iogurtes dos três outros fabricantes não houve diferença significativa nas contagens de cocos ou de bacilos da faixa I para II.

Não houve diferença significativa de acidez e pH relacionados ao tempo de vida de prateleira, isto é, faixas I e II nas quatro marcas de iogurte analisadas.

Com relação à acidez os iogurtes do fabricante D os valores encontrados foram significativamente mais elevados ($P < 0,05$) quando comparado aos demais iogurtes. Entretanto a acidez mais elevada dos iogurtes do fabricante D não resultou em um menor pH nestes produtos, possivelmente devido a um teor de sólidos mais elevado, que propiciou um sistema tampão às mudanças de pH.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, M. D. R. P. **Microbiologia Alimentaria-Metodologia Analítica para Alimentos y Bebidas**. Ed. Diaz de Santos, Espana, p.222-224, 1992.

ARNOTT, D. R; DITSCHAEVER, C. L; BULLOCK, D. H. Microbiological evaluation of yogurt produced commercially in Ontario. **Journal Milk, Food Technology**. Ames. V. 37, n.1, p. 11-13, Aug, 1974.

AGROPORTAL - Segurança Alimentar. Pesquisa de resíduos de antibióticos em leite. 2002. ALFA-LAVAL, FOOD. **Manual de indústrias lácteas**. 2. Ed. Bardala: AMV Ediciones, Mundi-Prensa, 1990. 33p

AMIOT, J. **Ciencia y tecnología de la leche: principios y aplicaciones**. Zaragoza: Acribia, 1991. 547p.

ARNOTT, D. R; DITSCHAEVER, C. L; BULLOCK, D. H. Microbiological evaluation of yogurt produced commercially in Ontario. **Journal Milk, Food Technology**. Ames. V. 37, n.1, p. 11-13, Aug, 1974.

ARASHIRO, E. K. N.; TEODORO, V. A. M.; MIGUEL, E. M.. Mastite Bovina: Importância Econômica e Tecnológica. **Revista Ciência do leite**. 2007, 12p.

ARCURI, E. F.; BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P.; Como Preservar. **Revista Ciência do leite. Sabor e Aroma**, 2006.

ASPERGER, H.; Applicability of Analytical methods for the assesement of yogurt quality. **Dairy Science Abstract**, v.5 n.9 p.123-145, 1977.

AZEVEDO, P. R. A de; MORAIS, M.V.T. Os leites fermentados e a importância de seus microrganismos. **Revista Leite e Derivados**. São Paulo/SP, Ano XIII, nº 79, p. 36-41. 2004

BEHMER, M. L. A. **Tecnologia do leite**, São Paulo: Nobel, 1984.
BISCAIA, I. M. F.; STADLER, C. C.; PILATTI, L. A.; **Avaliação das alterações físico-químicas em iogurtes adicionados de culturas probióticas**. XI SIMPEP. Bauru, SP. 2004.

BLUMER E. **Iogurte: Obtenção e aspectos microbiológicos**. Piracicaba: ESALQ. Departamento de Tecnologia Rural, 1989. 20p.

BONNAS, D. S. **Bioquímica dos alimentos**, v. 2. Escola Agrotécnica Federal de Uberlândia. Uberlândia: Apostila de Bioquímica, parte 2, 2003. Disponível em: <<http://www.eafud.gov.br/eaf/Mural/Download/Agroind/deborah/apostbioqII.doc>>. Acesso em: 15 jun. 2004.

BRANDÃO S.C.C.; Tecnologia da produção industrial de iogurte. **Leites e Derivados**. v.4 n.25 p24-38, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007. REGULAMENTO TÉCNICO DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE LEITES FERMENTADOS. Instrução Normativa. Diário Oficial da União, Brasília, 24 de outubro de 2007.

BRASIL. Leis, decretos, etc.; Nova legislação de produtos lácteos e de alimentos especiais, diet e enriquecidos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, São Paulo: Fonte, 1998. 212p.

_____. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Defesa Animal - LANARA. Portaria nº 1 de 7 de outubro de 1981. Aprova os métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. I. Métodos microbiológicos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, p. 19381, 13 out. 1981a, seção 1

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Padrões de Identidade e Qualidade de leites fermentados. Resolução nº 5, de 13 de novembro de 2000. Brasília: D.O.U.- **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**; 27 de novembro de 2000, Seção 1, Página 9.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria 71 de 21 de setembro de 2004. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil** de 23/09/2004, Seção 1, Página 18, Brasília, DF, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução Normativa nº62, de 26 de Agosto de 2003**. Dispõe sobre os métodos analíticos para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Diário Oficial da União, Brasília, 18 de Setembro de 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução Normativa nº46, de 23 de Outubro de 2007**. Adota o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade Leites Fermentados, anexo à presente Instrução Normativa. Diário Oficial da União, Brasília, 24 de Outubro de 2007.

BROWN,R.B.,MAEDA,M.Produção de Iogurte Batido por Fermentação contínua.Industria de laticínios.São Paulo /SP,p.63-66,Jan/Fev 2003.CARMINATTI, C. A. **Ensaio de hidrólise enzimática da lactose em reator a membrana utilizando beta-galactosidase *Kluyveromyces lactis***. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001. 79p.

CARMATTI,C.A.**Ensaio de hidrólise enzimática da lactose em reator a membrana utilizando beta-galactosidase *Kluyveromyces lactis***.Dissertação(Mestrado em engenharia química).Universidade Federal de Santa Catarina,Florianópolis,2001.79p.

COELHO F.J.O. , QUEVEDO P.S., MENIN A., TIMM C.D; Avaliação do prazo de validade do iogurte. **Ciência Animal Brasileira**. v.10, n.4, 2009.

COPPOLA, M. M.; GIL-TURNES, C. Probióticos e resposta imune. **Ciência. Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 4, p. 1297-1303, 2004.

DAVE, R. I.; SHAH, N. P Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 11, p. 2804-2816, 1998.

DOWNES, F.P. & ITO, K. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4th ed. Washington, D.C.: American Public Health Association (APHA), 2001.

DRIESSEN F.M.; KINGMA F.; STANDHOUDERS J., Hol yogurt bacterien alkaar helpen groeien, **Zuivelicht**, v. 74, p.176-178, 1982.

EQA:UFSC. **Historia do Iogurte**. Disponível no site <http://ufsc.br/>. Acesso em 04 de janeiro de 2011.

EARLY,Ralph.**Tecnologia de los productos lácteos**.Zaragoza:Acribia,2000 459p.

EMBRAPA GADO DE LEITE, **Informe Econômico do Leite**,ano 2,nº2,outubro/2002.

EVANGELISTA, José. **Tecnologia de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2005. P 652.

FERNANDES, A. R.; SILVA, C. A. B.; MOSQUIM, M. C. A. **Resfriamento de leite na propriedade rural**. In: SILVA, C. A. B; FERNANDES, A. R.(ed.) Projetos de Empreendimentos Agroindustriais: produtos de origem animal. 2ª ed., v. 1, Viçosa: UFV, 2005. 308 p.

FERREIRA, C. L. L. F. **Produtos lácteos fermentados: aspectos bioquímicos e tecnológicos**. Universidade Federal de Viçosa, Imprensa Universitária; Viçosa - Minas Gerais, 2005.

FERREIRA, C.L.L.F.; CHAVES, J.B.P.; Caracterização do iogurte comercializado na zona da mata de Minas Gerais. **Revista do instituto de Laticínios Cândido Tostes**. v.36 n. 218 p27-32, 1981.

FERREIRA,C.L.L.F.**Produtos lácteos fermentados** - aspectos bioquímicos e tecnológicos.Viçosa: Editora UFV,Minas Gerais,2001.

FIGUEIREDO, M. G.; PORTO, E. Avaliação do Impacto da Qualidade da Matéria-Prima no processamento industrial do iogurte natural. **Caderno Fazer Melhor**. Set/Out, 2002.

FIL – Identidad de los Cultivos Productores de Ácido Láctico. **Bulletin of the internacional Dairy Federation**. Bélgica, n.149, p.29, 1991.

FIL – Detection and enumeration of Lactobacillus acidophilus. **Bulletin of the internacional Dairy Federation**. Bélgica, n.306, p.23-33, 1993.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2007. p182.

GARCIA, S.; VALLE, J. L. E. Obtenção de fermentos lácticos termófilos para utilização em iogurte. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 3 n.1 p.61-85, 1986.

GASSEM, M.; FRANK, J. F. Effect of protein degradation of milk on the physical and chemical properties of yogurt. **Journal of Dairy Science**, v.3 n.1 p.114-119, 1990.

GAVA;SILVA;FARIAS . **Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações**. São Paulo: Nobel, 2008.

GUEIMONDE M.;DELGADO S.; BALTASAR, M.;MADIEDO-RUAS,P.;MARGOLLES A.; REYES-GAVILÁN,C.G.Viability and diversity of probiotic Lactobacillus and Bifidobacterium populations included in commercial fermented milks.Food Research International,v.37,p.839-850,2004.

GINSLÖV,B.O.Modern tends in yogurt manufacture in South African.Journal of Dairy Technology,v.2,p.70-83,1970.

GUKZEL-SEYDIM, Z. B.; SEYDIM A. C.; GREENE A. K. , BODLINE A.B. Determination of Organic Acids and Volatile Flavor Substances in Kefir during Fermentation. **Journal of Food Composition and Analysis**, [S.l.], v. 13, p. 35-43, 2000.

GURGEL, M.S.C.C.A. **Teor de Tirosina como parâmetros de alterações físico-químicos em iogurtes**. 1994. Dissertação de (Mestrado). Escola superior de Agricultura “Luis de Queiroz” Universidade de São Paulo. Piracicaba, 1994, 82p.

GURGEL, M.S.C.C.A.; OLIVEIRA, A.J.; CAMARGO, R.; Microbiologia do iogurte. Piracicaba: **ESALQ**. Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos. 1992.

HOFFMANN, F. L; GARCIA-CRUZ, C. H; VINTURIM, T. M; FÁZIO, M. L. S; CARMELLO, M. T. **Ocorrência de bolores e leveduras em iogurtes**. In: Congresso Brasileiro de Microbiologia, Rio de Janeiro, Hotel Glória, novembro, 1997.

HUMPHREYS,C.L.;PLUNKETT,M. Yourt: a revie of its manufacture. **Dairy Science Abstract**,v.2,n.31,p.607-22,1969.

JUFFS, H. S.; Proteolysis detection in milk. **Journal of Dairy Research**, v.42 n.6 p.31-41 , 1975.

KLEINMAN R.E.; Pratical significance of lactose intolerance in children: supplement. **Pediatric.**, v.86 n.4 p.643-644, 1990.

KROLON, A. C. R. Iogurte integral. Dezembro, 2008. Pelotas, RS. (Comunicado Técnico). Disponível em: <http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/download/comunicados/comunicado_193.pdf/>. Acesso em 07 mai. 2011.

LONGO,G;MARTIM,N.S.P.P;FREITAS,R.J.S;FONTOURA,P.S.G.Avaliação da qualidade físico-química de iogurtes naturais comercializados na cidade de curitiba,Paraná.**Higiene Alimentar**,v.20,n138,p.56-59,2006.

LACAZ, R. R. **Microbiologia Zootécnica**. Ed. Roca, São Paulo, 1992.

LÁCTEA BRASIL. **Consumo de per capita mundial de leite fluido**. Disponível em: <http://www.lactea.org.br/pagina.asp?idS=15eidN=70> Acesso em: 10 mai 2011.

LEE,S.Y.;VEDAMUTHU,E.R.;WASHAM,C.J.et al.An agar médium for the differential enumeration of yogurt starter bacteria.Journal of Milk and Food Technology,v.37,n.5,p.272-276,1974.

LIN M.; SAVIANO D.; HARLANDER S.; Influence of nonfermented dairy products containing bacterial starter cultures on lactose maldigestions in humans. **Journal of Dairy Sciences**. v.74, p87-55, 1990.

LIN, H.C.; VISEK, W.J. Large intestinal pH and ammonia in rats: dietary fat and protein interactions. **J. Nutr.**, v. 121, p. 832-843, 1991.

LIMA,U.A.,AQUARONE,E.,BORZANI,W. Biotecnologia Industrial -Engenharia Bioquímica.vol2.Editora Edgard Blucher Ltda.São Paulo.2003,241p

LOBATO, V.; **Fabricação de derivados do leite na propriedade rural**. Lavras – MG. Editora: UFLA, 2000. (Boletim Técnico).

LOURENS-HATTINGH,A.;VILJOEN,B.C.Yogurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**.v.11,n.1,p.1-17,2001.

LUCEY, J. A.; SINGH, H. Formation and physical properties of acid milk gels: a review. **Food Research International**, v. 30, n. 7, p. 529-539, 1998.

MACHADO, C.R.; ZENI, D.W.;ANDRADE, H.C. NETO, L.C.; SILVA, P.Q. TÚLIO, S.L. **Estudo de viabilidade econômica e financeira para a implantação de uma empresa industrial de alimento – iogurte**. Disponível em <http://www.fae.edu/publicacoes/pdf/tccs_2004/empreendedorismo/industria/uma_empresa_industrial_de_alimento_iogurte.pdf/>. Acesso em 07 mai 2011.

MARTIN, A. F.; **Armazenamento de iogurte comercial e o efeito na proporção das bactérias lácticas**. 2002. Dissertação de mestrado. Escola Superior de Agricultura“Luiz de Queiroz” – USP, Piracicaba, 2002. 105f.

MEDEIROS, A. P.; DIENSTHANN, F.; BITTARELLO, K. P. **História do iogurte**, 2005. Disponível em: <http://www.enq.ufsc.br/>. Acessado em: 25 mar 2011.

MOREIRA, S. R.; SCHWAN, R. F.; CARVALHO, E. P.; FERREIRA, C. Microbiological and chemical analysis of yoghurts marketed in Lavras – MG. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 19, n. 1, p. 147-152. Jan./Apr. 1999.

MORENO, V.; KOSIKOWISK, F. V.; Peptides, aminoacids and amines liberated from B-casein by micrococcal cell-free preparations. **Journal of Dairy Science**, v.56 n.19 p.39, 1973.

NEIROTTI, E.; OLIVEIRA, A J.; Produção de iogurtes pelo emprego de culturas lácticas mistas. **SBCTA**, v.22, n.1/2, p.1-16, 1988.

NEVES, Luciana de Souza. **Fermentado probiótico de suco de maçã**. Tese de Doutorado em Processos Biotecnológicos Agroindustriais .2005. Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Curitiba, 2005. 106f.

NUTRI. **Iogurte Saúde e Qualidade de Vida - Saúde e Nutrição**. Disponível em: <<http://www.rgnutri.com.br/>>. Acesso em 21 set 2010.

ORDÓNEZ, JUAN A. Tecnologia de Alimentos. Volume 2. Artmed, 2005. 77p. SILVA, Sabrina V. da. **Desenvolvimento de iogurte probiótico com prebiótico**. et al. **Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Artmed, 2007. 107f. Dissertação (Mestrado)-programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, 2007.

PENNA, A. L. B.; OLIVEIRA, M.; BARUFFALDI, R. Análise de consistência de iogurte: correlação entre medida sensorial e instrumental. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 2, p. 98-101, 1997.

OLIVEIRA, J.S. Produção e Conservação de iogurte. *Revista Leites e Derivados*, São Paulo, n.10, p.35-38, mai/jun, 1993.

PHILPOT, W. N. **Importância da Contagem de células Somáticas e Outros Fatores que Afetam a Qualidade do Leite**. I Simpósio Internacional sobre Qualidade do Leite, 08 -11 de Novembro de 1998, Curitiba – PR. Anais. Curitiba: UFPR, 1998 - 87p. p. 28-35.

PLATT, D. Processing and merchandising of yogurt. **Cultured of Dairy Products Journal**, v.4, n.3, p.16-17, 1969.

PROZYN. **Prozyn Lactase**. São Paulo, 2004. 4p. Informação técnica.

POMBO, A.F.W.; GRANZINOLLI, G.G.; FERNANDES, R.M. Sólidos totais do leite, acidez, pH e viscosidade do iogurte. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.38, n.227, p.19-24, 1983.

REDDY G.V.; VEDAMUTHU E.; WASHAN C.J.; et al.; Associative Growth studies in three strain mixtures of lactic streptococci. **Applied Microbiology**, v.24, n.6, p 953-957, 1972.

REIS, J. S. et al.; **Fabricação de derivados do leite como uma alternativa de renda ao produtor rural**. Editora UFLA, 2007 (Boletim Técnico).

REVELLION, J.P. **Laticínios**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/alimentus/laticinios/bebida_lactea/blactea_classificacao.htm>. Acesso em: 09 mai 2011.

RICHARD, H. **Enzimologia e biocatálise**. In: SCRIBAN, R. (Coord.). Biotecnologia. São Paulo: Manole, 1985. Parte 3: Engenharia enzimática, cap. 1, p. 179-207.

RISPOA. Decreto 3.691 de 29.03.1952. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Título VIII – Inspeção Industrial e Sanitária de Leites e Derivados. **Diário Oficial da União**. 1952

MURRAY, R .K.;GRANNER,D.K.;MAYES,P.A.RODWELL, V.W. **Harper: Bioquímica Ilustrada**, 26ªedição, editora Atheneu-SP, 2006.

SÁ, P. et al.; **Processamento do Iogurte Gordo Sólido**. Escola Superior Agrária De Coimbra. Coimbra, 2007. 155p.

SÁ,Fernando Vieira de;BARBOSA,Manuela.**O leite e os seus produtos**. 5.ed.Lisboa:Clássica,1990.520p.

SABOYA, L. V.; OETTERER, M.; OLIVEIRA, A. J. Propriedades profiláticas e terapêuticas de leites fermentados: uma revisão. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 2, p. 176-185, 1997.

SALADO, G. A.; ANDRADE, M. O. Processamento e qualidade nutricional do iogurte. **Boletim Cultural**, v.7, p. 1-35, 1989.

SANTANA, L. R. R. et al. Perfil sensorial de iogurte light sabor pêssego. **Revista Ciência Tecnologia. Alimentos**.,Campinas, v. 26, n. 3, p. 619-625, jul.-set. 2006.

SURIYARACHCHI, V. R.; FLEET, G. H. Occurrence and growth of yeasts in yogurts. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 42, n. 3, p. 574-579, 1981.

STOCKLIN,P. Production and hardling of yogurt on a commercial scale. **Cultured dairy Products Journal**, v.4,n.3,p.6-10,1969.

SÃO PAULO. **Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. p. 1020.

SALINAS, R. J. Higiene quality of commercial yoghurts. **Alimentaria**, Madrid, v.178, p.27-30, 1986.

[SALJI, J. P; ISMAIL, A. A. Effect of initial acidity of plain yogurt on acidity changes during refrigerated storage. **Journal of Food Science**, Chicago, v.48, n.1, p. 258-259, Jan/Feb., 1983.

SAÚDE e QUALIDADE DE VIDA – **Curiosidades. Informações Técnicas Sobre o Iogurte.** Disponível em: <http://www.rgnutri.com.br/sqv/curiosidades/itsi.php>. (2011). Acessado em: 30 mar. 2011.

SHAH, N. P.; FEDORAK, R.N.; JELEN, P. J. Food consistency effects of quarg in lactose malabsorption. **International Dairy Journal**, n. 2, p. 257-269, 1992. foods. **Journal of Dairy Science**, V.83,P.894-907,2000.

SHAH,N.P.Probiotico bacteria:Enumeration and survival in dairy.

SINGH, J.; SHARMA, D. K.; Yogurt starts in skim milk-1-acid flavor production and proteolytic activity by yogurt starters. **Cultured Dairy Products Journal**, v.11 n.2 p.22-25, 1982.

SOROA, J. M. **Indústrias lácteas**, 5 ed. Lisboa: Litexa, 1980. 376p.

SOUZA, A. R. M.; **Importância Nutricional e Características Terapêuticas do Iogurte.** Escola de Medicina Veterinária – UFBA, Salvador, 2006.

SOUZA, G. Iogurte: tecnologia, consumo e produção em alta. **Leites e derivados**, n. 28, p. 44-54, 1996.

SOUZA, G. Fatores de qualidade de iogurte. **Coletânea do ITAL**, v.21, n.1, p. 20-7, 1991.

SURIYARACHCHIV.R.;FLEET,G.H.Occurrence and growth of yeasts in yogurts. **Applies and Environmental Microbiology**,v.42,n.3,p.574-579,1981.

TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. **Yoghurt science and technology.** Inglaterra: Ed. Woodhead Publishing Ltd., 1999. 619 p.

TAMIME, A. Y.; ROBISON, R. K.; Fermented milk and their future trends. Part II. Technological aspects. **Journal of Dairy Research**, v.55, n.2, p.281-307, 1988.

TAMIME, A.Y.; ROBINSON, R.K. **Yoghurt: science and technology**. Oxford: Pergamon, 1985. 431 p.

TAMINE, A. Y.; DEETH, H. C.; Yogurt: technology and Biochemistry. **Journal of Food Protection**, v. 43, n.12, p. 939-977, 1980.

TAMINE, A.Y.; ROBINSON, R. K.; **Yogur ciência y tecnologia**. Zaragoza: Acríbia, 1991. 386p.

TEALDO,E.Caratterizzazione Chimico-fisica ed organolettica dello yogurt.**Istituto da Técnica e Sperimentazione Lattiero Caseria**,v.18,n.30,p.122-141,1989.

TRIBUNA DO BRASIL, Perfil de consumo da população brasileira(2008). Disponível em: <http://www.tribunadobrasil.com.br/>>. Acesso 08 mai 2011.

VARNAN, A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Leche y productos lácteos**. Tecnología, Química y Microbiología, Zaragoza: Acribia,1995xi,476p.:(Alimentos básicos;1)

VEISSEYRE R.; Lactologia Técnica. **Composición, recogida, tratamiento y transformación y La leche**. Espanha (saragoza) Editorial Acribia. 1988. p. 288-291.

WOLFSCHOON-POMBO, A . F.; GRANZINOLLI, G. G. M.; FERNANDES, R M.; Sólidos totais do leite, acidez, pH e viscosidade do iogurte. **Revista do ILCT**, Juiz de Fora, v.38, n.2, p.19-24,1983.

ANEXO 1

COMPOSIÇÃO DOS MEIOS DE CULTIVO UTILIZADOS EM g/mL

MEIOS					
MRS pH 5,2	M17	ABD	LB	ST	Agar Lee
g/L	g/L	g/L	g/L	g/L	g/L
Peptona - 10			Triptona - 10	Triptona - 10	Triptona - 10
Extrato de carne - 8	Triptona 5,0 g; Peptona de soja 5,0 g; Extrato de carne 5,0 g; Extrato de levedura 2,5 ; Ácido Ascórbico 0,5; Sulfato de magnésio 0,25; Glicerofsfato dissódio 19; Agar 11,0; Água destilada 1 L; pH final 6,9	Extrato de batata 4,0 g Dextrose 20,0 g Agar 15,0 g Água destilada 1 L pH final 5,6	Extrato de carne - 10	-	Carbonato de cálcio - 3g
Extrato de levedura - 4			Extrato de levedura - 5	Extrato de levedura - 5	Extrato de levedura - 10
Glicose (dextrose) - 20			Glicose (dextrose) - 20	Sacarose - 10	Lactose - 5g
Mono-oleato de sorbitol (Tween 80) - 1			Tween 80 - 1	-	Sacarose - 5g
Fosfato dipotássico - 2			Dipotássio Fosfato K_2HPO_4 - 2	Dipotássio Fosfato K_2HPO_4 - 2	Dipotássio Fosfato K_2HPO_4 - 2
Acetado de sódio - 5			Suco de tomate filtrado - 40 mL	Agar - 15	Agar - 18
Citrato triamoniaco - 0,2			Agar - 20		Solução Púrpura
Sulfato de magnésio - 0,05					
Sulfato de manganês - 10					
Agar - 15					''

ANEXO 2

IOGURTES FAIXA I: COM ATÉ 20 DIAS DE FABRICAÇÃO

Marcas	Meios				
	LEE	ST	M17	LB	MRSac
A1	2.80E+08	1.40E+07	2.10E+07	1.50E+07	1.90E+06
A2	4.20E+07	2.50E+07	2.00E+07	7.20E+05	1.10E+05
A3	3.10E+09	2.20E+09	2.50E+09	9.70E+07	1.50E+07
A4	2.90E+08	2.00E+08	2.40E+08	8.60E+08	1.00E+07
A5	3.30E+09	5.80E+08	8.10E+08	6.40E+07	2.90E+07
A6	2.40E+09	4.30E+08	7.10E+08	5.40E+07	1.20E+07
A7	2.30E+08	1.50E+08	2.60E+08	7.20E+07	1.00E+07
A8	1.00E+08	1.10E+07	1.40E+07	2.50E+07	1.90E+07
B1	6.90E+08	4.00E+07	5.90E+08	4.90E+07	3.60E+07
B2	4.30E+08	5.70E+08	5.80E+08	1.80E+07	1.30E+07
B3	3.50E+08	4.10E+07	4.10E+08	2.40E+07	1.40E+07
B4	4.80E+08	3.80E+08	4.10E+08	1.80E+08	1.60E+07
B5	3.90E+08	2.10E+07	4.60E+08	2.70E+08	2.60E+07
B6	3.20E+08	4.10E+07	7.20E+08	3.20E+07	2.50E+07
B7	2.60E+08	1.50E+08	9.70E+08	2.50E+08	2.20E+07
B8	4.10E+08	2.90E+08	6.40E+08	5.10E+07	5.80E+07
C1	1.90E+08	2.70E+06	2.50E+06	1.40E+06	2.50E+05
C2	2.30E+08	2.90E+08	2.60E+08	1.50E+08	8.40E+07
C3	3.60E+08	1.60E+08	2.30E+08	7.10E+07	6.20E+07
C4	2.90E+08	8.10E+07	3.00E+07	1.10E+08	1.00E+07
C5	3.10E+08	2.80E+08	1.10E+07	4.00E+06	1.00E+06
C6	2.30E+08	2.90E+08	2.60E+08	1.50E+08	8.40E+07
C7	2.10E+08	1.40E+08	1.00E+07	2.00E+07	1.20E+06
C8	9.50E+07	3.10E+07	2.70E+07	7.10E+07	2.80E+07
P1	5.30E+08	2.50E+07	6.90E+07	3.00E+07	1.40E+07
P2	4.60E+09	2.60E+07	7.60E+08	1.40E+07	1.20E+07
P3	3.50E+09	1.40E+08	6.20E+08	5.00E+08	2.00E+07
P4	2.60E+09	1.00E+07	7.80E+08	3.40E+07	2.10E+07
P5	2.80E+09	2.60E+08	6.20E+08	3.30E+07	2.10E+07
P6	2.00E+08	1.90E+08	1.40E+08	2.60E+08	2.60E+08
P7	2.90E+09	2.00E+07	5.00E+07	1.40E+08	1.20E+07
P8	9.60E+08	2.10E+08	3.40E+08	1.00E+08	4.00E+07

ANEXO 3

IOGURTES FAIXA I: COM 21 – 45 DIAS DE FABRICAÇÃO

Marcas	Meios				
	LEE	ST	M17	LB	MRSac
A1	3.20E+08	1.90E+07	3.50E+07	2.70E+07	1.00E+06
A2	4.60E+08	3.30E+07	2.70E+07	3.30E+06	3.50E+06
A3	5.20E+08	5.00E+07	3.20E+07	1.50E+06	1.30E+06
A4	4.10E+08	3.90E+07	1.90E+07	2.10E+07	1.00E+06
A5	3.80E+08	3.30E+07	1.00E+07	1.60E+06	1.30E+06
A6	3.10E+08	2.00E+07	2.10E+07	2.00E+06	2.10E+06
A7	8.10E+07	3.20E+07	1.80E+07	1.00E+06	3.00E+06
A8	1.10E+08	7.40E+07	9.70E+08	2.80E+07	2.70E+07
A9	8.30E+08	7.50E+08	8.90E+08	7.50E+07	1.00E+06
A10	2.40E+08	2.50E+07	3.10E+07	1.60E+06	1.20E+06
A11	4.20E+08	5.10E+07	3.20E+07	1.30E+06	1.00E+06
B2	3.10E+08	1.20E+07	3.30E+08	1.60E+08	2.30E+08
B3	4.60E+08	3.30E+07	5.30E+08	3.30E+07	3.50E+06
B4	5.20E+08	5.00E+07	5.10E+08	1.50E+06	1.30E+06
B5	4.10E+09	3.90E+07	3.90E+08	2.10E+07	1.00E+06
B6	3.80E+08	3.30E+07	3.90E+08	1.60E+07	1.30E+06
B7	3.10E+08	1.20E+07	3.30E+08	1.60E+08	2.30E+07
B8	7.30E+08	3.00E+07	2.40E+07	1.00E+07	1.00E+06
B9	2.20E+08	9.20E+07	7.10E+07	1.00E+06	1.00E+06
B10	3.10E+08	2.00E+07	4.10E+07	2.00E+07	2.10E+06
C1	7.60E+07	3.50E+08	4.50E+08	2.60E+08	7.30E+07
C2	3.60E+08	2.10E+07	3.20E+07	2.10E+07	3.10E+06
C3	2.20E+08	2.20E+07	1.90E+07	3.00E+07	6.80E+06
C4	2.90E+08	2.10E+08	2.10E+08	1.80E+07	1.80E+07
C5	3.30E+08	5.10E+07	4.30E+07	2.60E+08	2.30E+07
C6	3.10E+08	3.80E+07	3.70E+06	3.20E+07	2.70E+07
C7	2.90E+08	3.90E+07	3.30E+07	2.10E+08	2.00E+07
C8	3.90E+08	1.20E+06	3.90E+07	1.10E+07	1.00E+07
C9	3.10E+09	3.20E+08	1.40E+09	2.40E+08	1.90E+07
C10	7.50E+08	1.00E+07	4.50E+08	5.70E+08	2.20E+07
C11	4.90E+08	4.80E+07	3.10E+07	5.60E+06	3.40E+06
D1	2.80E+08	2.70E+07	2.80E+07	3.05E+07	1.10E+07
D2	2.80E+09	1.10E+07	2.00E+08	2.70E+07	1.20E+07
D3	3.20E+08	2.10E+07	2.40E+08	1.40E+07	1.30E+06
D4	4.90E+08	1.90E+07	1.20E+08	4.60E+08	1.90E+07
D5	2.80E+08	1.10E+07	1.00E+08	2.40E+08	2.00E+07
D6	5.80E+07	4.00E+07	5.60E+08	2.50E+07	4.10E+06
D7	3.90E+08	3.00E+07	7.60E+08	1.20E+07	1.00E+07
D8	2.80E+08	2.90E+07	3.15E+06	1.30E+08	9.50E+07