



AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DAS BACTÉRIAS LÁTICAS E ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DE IOGURTES COMERCIAIS SABOR MORANGO

Evaluation of the feasibility of lactic bacteria and physical and chemical analysis of commercial strawberry yogurts

Jucenir dos SANTOS^{1*}, Jucelir dos SANTOS², Cantídio Francisco L. FILHO³, Irinaldo D. B. JUNIOR⁴, Alessandra A. C. PAGANI⁵

RESUMO: O iogurte é o leite fermentado mais consumido no mundo, sendo reconhecido pelo seu valor nutricional e efeito benéfico à saúde. Durante o armazenamento dos produtos lácteos alguns cuidados são observados como, por exemplo, a manutenção da cadeia do frio e o controle da qualidade, que são de fundamental importância para assegurar que as propriedades dos produtos não sejam alteradas, acarretando em problemas relativos à segurança alimentar dos consumidores. O objetivo deste trabalho foi verificar a conformidade de diferentes marcas de iogurtes sabor morango, encontrados no comércio de Maceió – AL, com relação aos requisitos de qualidade e contagem de bactérias ácido láticas totais. Foram coletadas 4 diferentes marcas de iogurte de morango e foram realizadas análises de pH acidez titulável e contagem de bactérias láticas (*Streptococcus termophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*). Estas análises foram realizadas em triplicata, sendo os resultados expostos com média \pm desvio padrão, e as médias comparadas pelo teste de Tukey com o programa estatístico SISVAS 5.6. Todas as amostras avaliadas apresentaram valores de pH e de ácido láctico dentro do estabelecido pela legislação. Quanto a classificação como iogurte, 3 das 4 marcas avaliadas estavam de acordo com o que preconiza a legislação. Os resultados sugerem maior atenção quanto à produção, transporte e armazenamento de iogurtes para garantir a segurança alimentar e a conscientização da população quanto ao produto que está sendo consumido.

Palavras-chave: Leite fermentado; Controle de qualidade; Análise microbiológica.

ABSTRACT: Yogurt is the most consumed fermented milk in the world, being recognized for its nutritional value and beneficial health effect. During the storage of dairy products, some precautions are observed, such as, for example, maintaining the cold chain and quality control, which are of fundamental importance to ensure that the properties of the products are not altered, resulting in problems related to food safety. consumers. The objective of this work was to verify the conformity of different brands of strawberry flavored yoghurts, found in the trade of Maceió - AL, in relation to the quality requirements and total lactic acid bacteria count. Four different brands of strawberry yogurt were collected and analyzes of pH, titratable acidity and counting of lactic bacteria (*Streptococcus termophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*) were performed. These analyzes were performed in triplicate, with the results exposed with mean \pm standard deviation, and the means compared by the Tukey test with the SISVAS 5.6 statistical program. All samples evaluated showed values of pH and lactic acid within the established by the legislation. As for the classification as yogurt, 3 of the 4 brands evaluated were in accordance with what the legislation advocates. The results suggest greater attention to the production, transport and storage of yoghurts to ensure food security and the population's awareness of the product being consumed.

Key words: Fermented milk; Quality control; Microbiological analysis.

*Autor para correspondência

Recebido para publicação em 20/04/2021; aprovado em 05/06/2021

¹Mestranda em ciência e tecnologia de alimentos, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão-SE; (82) 998246194, E-mail: jucenir@hotmial.com.

²Graduanda em Nutrição, Universidade Federal de Sergipe, E-mail: jucelir.lili@gmail.com

³Graduando em Tecnologia de Laticínios, Instituto Federal de Alagoas, E-mail: cantid.filho3@gmail.com

⁴Docente do Instituto de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alagoas, E-mail: irinaldo.junior@icf.ufal.br

⁵Docente do Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Sergipe, E-mail: alespagani@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

O iogurte é o leite fermentado mais consumido no mundo, sendo reconhecido pelo seu valor nutricional e efeito benéfico à saúde. No Brasil, ele é responsável por 76% do total de produtos lácteos produzidos e a ampliação do mercado deste laticínio nos últimos 20 anos se deve, em parte, à adição de polpas de frutas (OLIVEIRA et al., 2013).

Segundo a instrução normativa nº 46 de 23 de outubro de 2007, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), entende-se por iogurte o leite fermentado cuja fermentação se realiza com cultivos protossimbóticos de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*, podendo ser acompanhado de outras bactérias ácido-lácticas. Esta instrução normativa preconiza ainda que estes microrganismos específicos devem ser viáveis, ativos e abundantes no produto final durante seu prazo de validade (BRASIL, 2007).

As principais etapas na produção de iogurte são: verificação das características gerais do leite, padronização dos teores de sólidos e gordura, tratamento térmico e homogeneização da mistura, adição de culturas lácticas, fermentação até pH na faixa de $4,7 \pm 0,1$, refrigeração, envase e armazenamento refrigerado do produto final. Outras etapas, como a adição de frutas e açúcar, podem ser incluídas dependendo da característica do produto final (LUCEY, 2004).

Durante o armazenamento dos produtos lácteos alguns cuidados são observados como, por exemplo, o controle da temperatura, a velocidade do ar, a disposição dos produtos dentro da câmara de refrigeração, a identificação e o armazenamento. A manutenção da cadeia do frio e o controle da qualidade são de fundamental importância para assegurar que as propriedades dos produtos não sejam alteradas, acarretando em problemas relativos à segurança alimentar dos consumidores (SPAGNOL, 2018).

O iogurte é um alimento funcional, rico em proteínas, ácido fólico, vitamina A, vitaminas do complexo B e sais minerais, cujo consumo pode trazer diversos benefícios para a saúde e, em razão da busca por uma alimentação mais saudável, o consumo de iogurtes tem tido aumentos consideráveis (POSSA, et al., 2017).

Ferreira et al. (2016) afirmam que esse consumo também pode ser atribuído à preocupação crescente das pessoas em consumirem produtos naturais e os benefícios que o iogurte traz, tais como: facilitar a ação das proteínas e enzimas digestivas no organismo humano, facilitar a absorção de cálcio, fósforo e ferro, ser fonte de galactose (importante na síntese de tecidos nervosos e cerebrosídeos em crianças), bem como ser uma forma indireta de se consumir leite.

Além da alta densidade nutricional, estudos revelam que o consumo frequente de iogurte (≥ 3 vezes por semana) contribui para a perda de peso e redução da circunferência da cintura (WANG et al., 2014).

Do ponto de vista tecnológico, cada constituinte do leite tem influência nas características do iogurte; um alto teor de lipídios produz um iogurte cremoso, a lactose influencia na acidez e as proteínas conferem firmeza e a consistência do produto. (SILVA et al., 2016)

O teor de extrato seco desengordurado (ESD) do leite, que inclui principalmente lactose, proteína e minerais, é de significativa importância para as propriedades físicas do

iogurte; quanto maior o conteúdo de ESD da mistura destinada à sua elaboração, melhor a consistência do produto final e menor a tendência de sinerese. O ajuste do ESD pode ser realizado através da concentração do leite por evaporação ou então pela adição de produtos como leite em pó e concentrado protéico (CARNEIRO et al., 2012).

A composição do iogurte é bastante variável, dependendo da composição do leite utilizado no processo. O conhecimento da composição química do leite é um fator importante na fabricação de produtos lácteos fermentados, interferindo nas características do produto final. As análises físico-químicas e microbiológicas devem ser realizadas a atender padrões mínimos exigidos pelo MAPA (BRASIL, 2007; SILVA et al., 2016)

Segundo Carvalho et al. (2017), o aumento dos sólidos totais resulta no aumento da acidez titulável. Isso está relacionado ao efeito tamponante de proteínas, fosfatos, citratos e entre outras substâncias presentes no leite, além disso, a consistência está relacionada com a acidez que se altera no decorrer do tempo em maior ou menor grau dependendo da acidez inicial e das condições de temperatura e armazenamento do produto.

O iogurte está sujeito ao decréscimo do pH e aumento da acidez devido a constante atividade metabólica das bactérias lácticas, mesmo em baixas temperaturas. Embora a acidez seja uma característica do iogurte, uma alta acidificação conduz as alterações no sabor, consistência e a deterioração do produto (CARNEIRO et al., 2012).

Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar a conformidade de diferentes marcas de iogurtes sabor morango, encontrados no comércio de Maceió – AL, com relação aos requisitos de acidez titulável, pH e contagem de bactérias ácido lácticas totais.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas amostras de 4 diferentes marcas de iogurte de morango comercializadas na cidade de Maceió-AL. As amostras foram retiradas diretamente da gôndola do supermercado em embalagem original de fabricação (placas com 6 unidades) e transportadas até o laboratório de microbiologia de alimentos do departamento de Nutrição da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

Foi observado como parâmetro de exclusão no momento da coleta a data de fabricação, sendo coletadas amostras entre 5 e 11 dias a partir da data de fabricação.

Inicialmente foi realizada a diluição seriada das amostras pesando 10g do iogurte e adicionando 90 mL de água peptonada 0,1% (m/v), essa foi a primeira diluição (10^{-1}). Em seguida foi retirada uma alíquota de 1 mL da diluição 10^{-1} e adicionado em um tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada 0,1% (m/v), obtendo assim a diluição 10^{-2} . De igual forma foram preparadas sucessivas diluições até a diluição 10^{-7} , a fim de se garantir que após a incubação das placas o número de UFC/g estivesse entre 25-250 UFC/g.

As análises de contagem de bactérias lácticas foram realizadas através de semeadura por profundidade com sobrecamada, em duplicata de placas, os meios de cultivo utilizados foram o M17 Agar base (33,25 g/l, HIMEDIA) e o MRS (67,15 g/L, HIMEDIA) acidificado com ácido acético até pH 5, para determinação de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*, respectivamente.

Na determinação de *Streptococcus thermophilus* as placas com M17 foram incubadas em estufa a 37°C por 48h sob aerobiose, para *Lactobacillus bulgaricus* as placas com MRS acidificado foram incubadas a 37°C por 72h sob aerobiose (APHA, 2001).

Foi determinado o percentual de acidez em ácido láctico para as 4 amostras de iogurte. Inicialmente foi pesado 10g da amostra em um béquer de 50 mL, adicionado com pipeta graduada aproximadamente 10 mL de água isenta de gás carbônico. Em seguida, foi adicionado 5 gotas da solução de fenolftaleína e realizada a titulação com uma solução de hidróxido de sódio 0,1 M, utilizando bureta de 25 mL, até o aparecimento de uma coloração rósea (IAL, 2008).

A análise de pH foi realizada pelo método potenciométrico, introduzindo-se o eletrodo diretamente nas amostras com pHmetro digital DEL LAB, modelo DLA (IAL, 2008).

Estas análises foram realizadas em triplicata, sendo os resultados expostos com média \pm desvio padrão, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade, utilizando o software Sisvar.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O prazo de validade do iogurte além de fornecer a importante informação de segurança alimentar, deve garantir também a presença de dois grupos de bactérias lácticas: *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, ambas na concentração mínima de 10^7 , como preconiza a instrução normativa nº 46 do MAPA (BRASIL, 2007).

As diferentes marcas apresentaram diferentes prazos de validade, variando de 45 a 51 dias, como pode ser visualizado na tabela 1.

Tabela 1. Prazo de validade declarado e tempo decorrido até o momento da análise para as amostras de iogurte de morango das 4 marcas avaliadas

	Marcas			
	A	B	C	D
Validade declarada em Dias	51	4	4	5
Tempo decorrido em Dias	5	1	1	1
	0	1	0	

A coleta das amostras em datas próximas a data de fabricação reforça a homogeneidade entre as amostras, para garantir que todas foram analisadas em um mesmo tempo zero de armazenamento.

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (BRASIL, 2007), o iogurte deve apresentar acidez titulável de 0,6 a 1,5 g ácido láctico

100g⁻¹ do produto. Como pode ser visualizado na Tabela 2, todas as amostras apresentaram resultado dentro da faixa estabelecida pela legislação, variando de 0,61 a 1,01 g ácido láctico 100g⁻¹ do iogurte. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre três das amostras avaliadas, sendo as amostras A e B iguais.

Tabela 2. Acidez titulável e pH de quatro diferentes marcas de iogurte de morango

Marcas	Parâmetros Avaliados	
	Acidez Titulável*	pH
A	0,87 \pm 0,02 ^b	4,45 \pm 0,01 ^c
B	0,86 \pm 0,003 ^b	4,49 \pm 0,01 ^c
C	1,01 \pm 0,02 ^a	4,56 \pm 0,005 ^b
D	0,61 \pm 0,01 ^c	4,62 \pm 0,01 ^a

As médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Analisando os valores de pH (Tabela 2), nota-se também uma variação estatística ($p < 0,05$) entre 3 das 4 marcas avaliadas, sendo as marcas A e B iguais estatisticamente com 95% de confiança.

Resultados similares foram encontrados por Silva e Ueno, (2013), que ao analisarem a variação de pH e da acidez titulável em iogurtes com sabor de frutas, obtiveram valores

de acidez titulável de 0,58 a 1,14 g ácido láctico/100g e valores de pH de 4,1 a 4,7 para o iogurte de morango de 4 diferentes marcas; e por Medeiros et al. (2011), que verificaram médias de acidez de 0,88 a 1,17 g 100g⁻¹ e pH de 3,62 a 4,23 em três amostras de leites fermentados de marcas comercializadas no Brasil.

No tocante as bactérias lácticas, para ser considerado iogurte, o leite fermentado deve apresentar em sua forma viável dois tipos de bactérias: *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, e ambas devem estar a uma concentração mínima de 10^7 . Caso este parâmetro não seja

observado, o produto não pode ser chamado de iogurte podendo receber o nome de bebida láctea fermentada.

As quatro marcas avaliadas apresentaram variação de bactérias lácticas totais de $3,95 \times 10^7$ a $3,0 \times 10^{10}$, como pode ser visualizado na Tabela 3.

Tabela 3. Contagem média de *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* expressa em UFC mL⁻¹ das diferentes marcas de iogurte de morango analisadas.

	Marcas			
	A	B	C	D
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	$6,0 \times 10^8$	$3,0 \times 10^{10}$	$3,0 \times 10^7$	$4,4 \times 10^8$
<i>Streptococcus thermophilus</i>	$5,1 \times 10^8$	$2,3 \times 10^7$	$9,5 \times 10^6$	$2,5 \times 10^8$
Bactérias lácticas totais	$1,11 \times 10^9$	$3,0 \times 10^{10}$	$3,95 \times 10^7$	$6,9 \times 10^8$

Apesar de todas estarem acima do estabelecido pela legislação para leites fermentados, a amostra C apresentou baixa contagem de *Streptococcus thermophilus* ($9,5 \times 10^6$ UFC mL⁻¹), desta forma, esta amostra não deveria receber a alegação de iogurte e sim de bebida láctea fermentada.

A baixa concentração do *Streptococcus thermophilus* na amostra C, pode estar relacionada a uma baixa concentração inicial desta bactéria associado a um maior tempo de fermentação. Voltando na Tabela 2, podemos constatar que a amostra C apresentou uma maior acidificação do meio em comparação com as demais amostras.

Ao final do processo de fermentação do iogurte, prevalece efeitos de antibiose, quando o pH se torna suficientemente ácido para inibir o crescimento de *S. thermophilus*, ao passo que *L. bulgaricus*, mais resistente a condições ácidas, prossegue seu desenvolvimento (ORDÓÑEZ-PEREDA et al., 2005; FENNEMA et al., 2010)

Resultados similares foram encontrados por Silva e Ueno, (2013), que ao analisarem a viabilidade das bactérias lácticas em iogurtes com sabor de frutas, obtiveram uma variação de $7,9 \times 10^6$ a $5,5 \times 10^7$ para o iogurte de morango de 4 diferentes marcas, coletados com até 15 dias a partir da sua fabricação. Carvalho et al. (2017), analisando bactérias ácidas lácticas em amostras de leites fermentados comercializados no município de Sete Lagoas-MG, obtiveram valores de $5,04 \times 10^8$ a $7,05 \times 10^{10}$ em 7 diferentes marcas avaliadas. Valores em consonância com os obtidos no presente trabalho.

CONCLUSÕES

Conclui-se que para as marcas de iogurte de morango avaliadas os valores de pH e de ácido láctico apresentaram-se dentro dos parâmetros legais aceitáveis de normalidade. Quanto as bactérias lácticas, 3 das 4 amostras avaliadas apresentaram contagem total e isolada de *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* acima do exigido pela legislação podendo serem classificados como iogurte. Devido à baixa contagem de *Streptococcus thermophilus* a amostra C encontra-se fora dos parâmetros legais para tal classificação.

Os resultados sugerem maior atenção quanto à produção, transporte e armazenamento de iogurtes para garantir a segurança alimentar e a conscientização da população quanto ao produto que está sendo consumido.

REFERÊNCIAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Compendium of methods for the microbiological examination of food, 4. ed. Washington: APHA, 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº46 de 23 de outubro de 2007. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de leite fermentado. Diário Oficial da União, Poder Executivo, 2007.
- CARNEIRO, C.S.; CUNHA, F.L.; CARVALHO, L.R.; CARRIJO, K.F.; BORGES, A.; CORTEZ, M.A.S. Leites fermentados: histórico, composição, características físico-químicas, tecnologia de processamento e defeitos. PUBVET, Londrina, v.6, n.27, p.214-247, 2012.
- CARVALHO, P. T.; PIRES, C. V.; SILVA, A. M.; SILVA, L. S. Análises de bactérias ácidos lácticas, de pH e acidez em amostras de leites fermentados comercializados no município de Sete Lagoas-MG. Brazilian Journal of Food Research, Campo Mourão, v.8, n.3, p.12-21, 2017.
- FENNEMA, O. R.; PARKIN, K.L.; DAMODARAN, S. Química de los alimentos. 4 ed. Zaragoza: Acribia, 2010.
- FERREIRA, M. A. C.; FREIRE, L. A. S.; BARBOSA, T. A.; SIQUEIRA, A. P. S. Desperdício de iogurte por embalagens. Revista de Agricultura Neotropical, Cassilândia, v.3, n.3, p.24-27, 2016.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.
- LUCEY, J. A. Formation and physical properties o milk protein gels. Journal of Dairy Science, v.85, n.2, p.281-294, 2004.
- MEDEIROS, E. J. L.; LIMA, A. R. C. MOURA, M. D.; MOREIRA, R. T. Fermented milk trademark: a study of acceptance and correlation with ph and acidity. Rev. Inst. Latic. "Cândido Tostes", Juiz de Fora, v.66, n.381, p.46-51, 2011.

- OLIVEIRA, F. M.; LYRA, I. N.; ESTEVES, G. S. G. Avaliação Microbiológica e Físico-Química de Iogurtes de Morango Industrializados e Comercializados no Município de Linhares-ES. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, v.15, n.2, p.147-155, 2013.
- ORDÓÑEZ-PEREDA, J. A.; RODRIGUES, M. I. C.; ALVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. de F.; PERALES, L. da La H.; CORTECERO, M. D. S. *Tecnología de alimentos. v.2 – Alimentos de origem animal. Trad. Fátima Murad. Porto Alegre: Artmed, 2005.*
- POSSA, G.; CORRENTE, J. E.; FISBERG, M. Yogurt consumption is associated with a better lifestyle in Brazilian population. *BMC Nutrition*, v.29, n.3, p.1-10, 2017.
- SILVA, A. B. N.; UENO, M. Evaluation of lactic acid bacteria viability and titratable acidity variation in fruit flavor yogurt. *Rev. Inst. Latic. "Cândido Tostes"*, Juiz de Fora, v.68, n.390, p.20-25, 2013.
- SILVA, F. C. G.; DALAQUA, S.; AZEVEDO, E. C.; CAMPOS, G. M.; RAGHIANTE, F.; MARTINS, O. A. Profile of lactic acid within validity of full natural yogurt. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*. v.10, n.4, p.595-603, 2016.
- SPAGNOL, W.A; JUNIOR, V.S; PEREIRA, E; FILHO, N.G. Monitoring the cold chain: new technologies and recent advances. *Brazilian journal of food technology*. Campinas, v.21, n.1, p.1-8, 2018.
- WANG, H.; TROY, L. M.; ROGERS, G. T.; FOX, C. S., McKEOWN, N. M.; MEIGS, J. B.; JACQUES, P. F. Longitudinal association between dairy consumption and changes of body weight and waist circumference: the Framingham Heart Study. *International Journal of Obesity*, v.38, n.2, p. 299–305, 2014.