



Qualidade de iogurtes de coco e morango

Quality of coconut and strawberry yogurtes

Jéssica Fernandes de Oliveira^{1*}, Lorena Natalino Haber Garcia¹, Victor Alessandro Abib Pastore¹, Fernanda Raghianti¹, Fábio Sossai Possebon¹, José Paes de Almeida Nogueira Pinto¹ e Otávio Augusto Martins¹

Resumo: O crescimento do consumo de iogurtes no país requer um produto de qualidade e seguro aos consumidores. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade físico-química e microbiológica de iogurte de coco e de morango comercializados na região de Botucatu, São Paulo, Brasil. Foram analisados trinta e três amostras de cada sabor de iogurte, em duplicata, totalizando sessenta e seis amostras. As análises físico-químicas foram a acidez total, pH e umidade. As análises microbiológicas foram coliformes a 35°C, contagem de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., bolores e leveduras. Os valores de acidez, pH e umidade não apresentaram diferenças estatísticas significativas ($p>0,05$) entre os iogurtes. Não apresentaram conformidades microbiológicas no iogurte de morango para 5% para contagem de coliformes a 35°C e 35% para contagem de bolores e leveduras. No iogurte de coco, as amostras não conformes foram de 7,7% para contagem de coliformes e 38,5% para contagem de bolores e leveduras. Ocorreu ausência de *Salmonella* spp. nas amostras. Concluímos que independentemente do sabor do iogurte o controle microbiológico da indústria lática, transporte e armazenamento devem ser intenso para assegurar um produto final de qualidade para o consumidor.

Palavras-chave: Coco; Físico-Química; Iogurte; Qualidade; Microbiologia; Morango.

Abstract: The growth of yogurt consumption in the country requires a quality and safe product to consumers. The objective of this work was to evaluate the physicochemical and microbiological quality of coconut and strawberry yoghurt marketed in Botucatu, São Paulo, Brazil. Thirty-three samples of each yogurt flavor were analyzed, in duplicate, totaling sixty-six samples. The physicochemical analyzes were total acidity, pH and humidity. Microbiological analyzes were coliforms at 35°C, counts of *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., molds and yeasts. The values of acidity, pH and humidity did not present significant statistical differences ($p>0.05$) among yogurts. They did not present microbiological conformities in strawberry yogurt to 5% for counting of coliforms at 35°C and 35% for counting of molds and yeasts. In coconut yogurt, non-conforming samples were 7.7% for coliforms counts and 38.5% for molds and yeasts counts. Absence of *Salmonella* spp. in the samples. We conclude that regardless of the taste of yogurt the microbiological control of the lactic, transport and storage industry must be intense to ensure a final quality product for the consumer.

Keywords: Coconut; Physicochemical; Yogurt; Quality; Microbiology; Strawberry.

Autor para correspondência. E.Mail: * jfomedvet@gmail.com

Recebido em 10/06/2017. Aceito em 30.12.2017

¹Serviço de Orientação à Alimentação Pública, Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, São Paulo, Brasil. *Email: jfomedvet@gmail.com
<http://dx.doi.org/>

Introdução

O iogurte é um produto resultante da fermentação do leite pasteurizado ou esterilizado, com o uso de culturas de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbruekii* subsp. *bulgaricus* aos quais podem acompanhar, de forma complementar outras bactérias ácido-láticas que, por sua atividade contribuem para a determinação de características do produto final (BRASIL, 2007).

Estas culturas lácticas são utilizadas para aumentar o tempo de vida de prateleira do iogurte, devido à formação de componentes metabólicos como ácido lático, ácido propiônico, diacetil entre outras substâncias antagonistas responsáveis por inibir o crescimento de bactérias Gram-negativas, responsáveis pela deterioração do produto (MARTINS; LUCHESE, 1998). Além disso, a atividade dessas bactérias lácticas conferem requisitos desejados para o produto final, como cor, odor, aspecto e sabor (LARAYER et al., 2002).

A produção brasileira e o consumo de iogurtes cresceram nos

últimos vinte anos, estima-se que o consumo de cada brasileiro é de cerca de 3 kg por ano, sendo este produto correspondente a 76% do total de produtos lácteos produzidos no Brasil, parte desse montante é devido a introdução dos iogurtes aromatizados com frutas. Os dados da Associação Brasileira da Indústria de Iogurtes mostraram que no ano de 2000, foi estimada uma produção superior a 500 mil toneladas/ano (BASTOS, 2009).

Devido ao crescimento no consumo de iogurte é necessário que haja rigor para a obtenção de um produto final com qualidade higiênico-sanitária, respeitando as condições apropriadas de produção, armazenamento e estocagem (BRASIL, 2007; BRASIL, 2011).

Com base nisso, o presente trabalho teve como objetivo verificar a qualidade microbiológica e físico-química de iogurtes dos sabores de morango e de coco.

Materiais e Métodos

Amostra

Foi analisado um total de sessenta e seis amostras de iogurte de coco e de morango. As amostras foram coletadas

em vários supermercados da região de Botucatu, São Paulo. As amostras foram encaminhadas aos Laboratórios de Físico-Química e de Microbiologia do Serviço de Orientação à Alimentação Pública (SOAP) no Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) – *Campus* de Botucatu/SP em caixas refrigeradas a 4°C. As amostras coletadas eram de lotes, de datas de fabricação e de estabelecimentos comerciais distintos.

Determinação de acidez (% SAN)

Foi pesado 5 g de amostra em béquer de 150 mL. Dissolveu com 50 mL de água pura morna (50°C) com auxílio de bastão de vidro. Para o iogurte de polpa de coco, adicionou 5 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1% e titulou com solução de hidróxido de sódio a 0,1 N até coloração rósea persistente. No caso do iogurte com polpa de morango, utilizou a determinação potenciométrica, titulando com solução de hidróxido de sódio a 0,1 N até pH 8,3. Cálculo: Acidez em soluto alcalino normal (% SAN) = $V \times N \times f \times 100/P$. Onde: V = mL de solução de hidróxido de sódio a 0,1 N gastos na titulação; N =

normalidade da solução de hidróxido de sódio a 0,1 N; f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio a 0,1 N ; 100 = porcentagem; e P = massa da amostra (g).

Determinação de pH

Transferiu cerca de 30 mL da amostra num béquer de 50 mL. Realizou a leitura em um aparelho de pHmetro Kasvi™ devidamente aferido com soluções tampão de pH 7 e de pH 4. O procedimento operacional do aparelho seguiu o protocolo do fabricante.

Determinação de umidade e voláteis

Pesou cerca de 5 g da amostra em uma cápsula de fundo chato devidamente preparada em estufa a 105°C por 2 h. Encaminhou a amostra à estufa a 105°C por 4 h. Esfriou em dessecador e pesou em balança analítica. Cálculo: % Umidade e voláteis = $100 \times P/P_i$. Onde: P = perda da massa em g; e P_i = massa da amostra em g.

Contagem de coliformes a 35°C e Escherichia coli

Preparo da amostra: as amostras foram diluídas serialmente em solução salina peptonada a 0,85% (v/v). Foram semeadas três diluições de cada amostra em placas de Petrifilm™ EC, com

incubação a 35°C por 24 h. Foram consideradas coliformes totais todas as colônias observadas vermelhas com formação de gás, acrescidas das azuis com gás. Foram consideradas *Escherichia coli*, as colônias azuis com gás. O valor final foi obtido corrigindo-se a diluição e expresso em UFC/mL.

Contagem de Bolores e Leveduras

Preparo da amostra: transferiu 25 mL da amostra dentro do saquinho estéril e em seguida adicionou 225 mL de água peptonada a 0,1% (v/v). Essa mistura correspondeu a 1ª diluição (10^{-1}). Homogeneizou bem a amostra e procedeu com a 2ª diluição (10^{-2}).

Preparo da diluição de 10^{-2} : pipetou 1 mL da diluição 10^{-1} e adicionou no tubo de solução salina que correspondeu a diluição de 10^{-2} . Após o preparo das diluições procedeu com as inoculações nos Petrifilms™ correspondentes a cada diluição.

Inoculação nos Petrifilms™: (a) colocou o Petrifilm™ em uma superfície plana e nivelada; (b) levantou o filme superior e com a pipeta perpendicular no centro do Petrifilm™ colocou 1 mL da suspensão da amostra no centro do filme inferior; (c) deslizou o filme superior sobre a amostra e colocou o disco difusor no centro do Petrifilm™.

Pressionou o centro do difusor para distribuir a amostra uniformemente.

Incubação dos Petrifilms™: incubou os Petrifilms™ em estufa de 25°C a 28°C por 48 h em posição horizontal com o lado transparente voltado para cima e arrumado em pilhas de no máximo 20 Petrifilms™.

Leitura: foi realizada com 48 h após inoculação. No entanto como certas leveduras e bolores possuem um crescimento mais lento, podem aparecer com a coloração mais fraca em 48 h, sendo necessário para melhor visualização e contagem das colônias foi reincubado por mais 12 h e até 5 dias para realizar a 2ª leitura.

Pesquisa de Salmonella spp.

Preparo da amostra: transferiu 25 mL da amostra para um saquinho estéril e posteriormente adicionou 225 mL de água peptonada tamponada como método de pré-enriquecimento em caldo não seletivo. A amostra foi incubada a 35°C por 24 h.

Enriquecimento seletivo: transferiu 1 mL deste saquinho estéril para 10 mL do caldo tetracionato e 0,1 mL para 10 mL do caldo *Rappaport Vassiliadis* soja. Estes foram incubados em banho maria a 41°C por 24 h.

Plaqueamento diferencial: foi

semeada uma alçada de cada meio do caldo de enriquecimento seletivo para placas de ágar xilose lisina desoxicolado (XLD) e para o ágar bismuto sulfito (BS). As placas foram incubadas invertidas em estufa de 35°C por 48 h.

Confirmação bioquímica: as colônias típicas em ágar foram confirmadas em ágar tríplice açúcar ferro (TSI) e em ágar lisina ferro (LIA) com o auxílio de uma agulha de inoculação por picada e estrias na rampa. Os tubos foram incubados em estufa de 35°C por 24 h. E então foram avaliadas a utilização dos açúcares e H₂S pelas cepas.

Confirmação sorológica: as cepas típicas na confirmação bioquímica foram confirmadas através detecção dos antígenos somáticos “O” e “H”.

Colocando uma gota do anti-soro somático polivalente anti-*Salmonella* em uma lâmina de vidro limpa e seca, e sobre esta, uma alçada da colônia suspeita. Segurando a lâmina contra um

fundo preto e iluminado, foi feito movimentos delicados de rotação e inclinação da lâmina com a finalidade de homogeneizar a emulsão, e então foi observado se houve reação de aglutinação.

As cepas que houveram aglutinação foram confirmadas como auto-aglutinante e confirmadas para *Salmonella* spp.

Análise estatística

O estudo estatístico das variáveis foi realizado através da ANOVA e complementado com o teste de comparações múltiplas de Tukey para contraste entre médias dos tratamentos. Os resultados foram expressos em média ± erro padrão da média com 5% de significância.

Resultados

Os valores de acidez, pH e umidade não apresentaram diferenças estatísticas significativas ($p>0,05$) entre os iogurtes de polpa de morango e de polpa de coco comercializados no interior de São Paulo (Tabela 01).

Tabela 01 - Média \pm erro padrão dos teores de acidez (% SAN), pH e umidade (%) de iogurte de polpa de morango e de polpa de coco comercializados no interior de São Paulo, Brasil. Análise estatística e Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Ensaio físico-químico	P	Tipos de polpa	
		Morango	Coco
Acidez (% SAN)	0,5536	8,40 \pm 0,38 a ¹	8,10 \pm 0,21 a
pH	0,3361	4,42 \pm 0,08 a	4,54 \pm 0,09 a
Umidade (%)	0,6218	79,70 \pm 0,78 a	78,99 \pm 1,30 a

¹Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Nos ensaios microbiológicos, as contagens de coliformes a 35°C, *Escherichia coli*, bolores e leveduras não apresentaram diferenças estatísticas

significativas ($p > 0,05$) entre os iogurtes de polpa de morango e de polpa de coco comercializados no interior de São Paulo (Tabela 02).

Tabela 02 - Média \pm erro padrão de contagem de coliformes a 35°C (UFC/mL), *Escherichia coli* (UFC/mL), bolores e leveduras (UFC/mL) de iogurte de polpa de morango e de polpa de coco comercializados no interior de São Paulo, Brasil. Análise estatística e Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Ensaio microbiológico	P	Tipos de polpa	
		Morango	Coco
Coliformes a 35°C (UFC/mL)	0,3665	1,50 x 10 \pm 12,03 a ¹	1,28 \pm 0,36 a
<i>Escherichia coli</i> (UFC/mL)	0,3661	0,54 \pm 0,19 a	0,85 \pm 0,31 a
Bolores e leveduras (UFC/mL)	0,1808	1,55 x 10 ⁴ \pm 6,89 x 10 ³ a	3,22 x 10 ³ \pm 3,07 x 10 ³ a

¹Teste de Tukey ($p < 0,05$).

As amostras de iogurtes de polpa de morango *não conformes* com a Instrução Normativa nº 46 de 23 de outubro 2007 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e com a RDC nº 12 de 02 de

janeiro de 2001 (ANVISA) foram de 5% para contagem de coliformes a 35°C e 35% para contagem de bolores e leveduras. No que diz respeito aos iogurtes de polpa de coco, as amostras *não conformes* foram 7,7% para

contagem de coliformes e 38,5% para (Tabela 03).

contagem de bolores e leveduras

Tabela 03 – Porcentagem (%) de amostras de iogurtes de polpa de morango e de polpa de coco não conformes com a Instrução Normativa nº 46 de 23 de outubro 2007 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e com a RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 (ANVISA) dos ensaios microbiológicos (contagem de coliformes a 35°C, *Escherichia coli*, bolores e leveduras e pesquisa de *Salmonella* spp.).

Polpa	Ensaio	Valores permitidos pela legislação	Resultados	
Morango	Contagem de Coliformes a 35°C	$\leq 10^2$ UFC/MI	95 %	
		$> 10^2$ UFC/mL	5 %	
	Contagem de <i>Escherichia coli</i> *	≤ 10 UFC/mL	100 %	
		> 10 UFC/mL	0 %	
	Contagem de Bolores e Leveduras	$\leq 2 \times 10^2$ UFC/mL	65 %	
		$> 2 \times 10^2$ UFC/mL	35 %	
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	Ausência/25 mL	100 %	
		Presença/25 mL	0 %	
	Coco	Contagem de Coliformes a 35°C	$\leq 10^2$ UFC/mL	92,3 %
			$> 10^2$ UFC/mL	7,7 %
Contagem de <i>Escherichia coli</i>		≤ 10 UFC/mL	100 %	
		> 10 UFC/mL	0 %	
Contagem de Bolores e Leveduras		$\leq 2 \times 10^2$ UFC/mL	61,5 %	
		$> 2 \times 10^2$ UFC/mL	38,5 %	
Pesquisa de <i>Salmonella</i>		Ausência/25 mL	100 %	
		Presença/25 mL	0 %	

*Dados baseados na RDC nº12 de 2 de janeiro de 2011 (ANVISA) em relação a coliformes 45°C

Não foi encontrada nas amostras de iogurtes de polpa de morango e de polpa de coco a presença de *Salmonella* spp. (Tabela 03). Estando assim 100% dentro dos parâmetros legais da legislação brasileira vigente, que estabelece ausência deste patógeno em 25 g da amostra (BRASIL, 2007).

Discussão

Mesmo não havendo padrões fixos na legislação atual, estudos de Tamine e Robinson (1991) e Moraes (2004) citam que valores variando de 3,8 a 4,3 possuem uma ótima faixa de pH para a produção de um produto com qualidade. Porém os dados obtidos neste trabalho possuem um valor acima deste citado em literatura.

As possíveis causas para o acontecimento deste fato seriam a qualidade de matérias-primas do bioprocessamento; a qualidade da cultura *starter* utilizada na fabricação do iogurte; transporte; e armazenamento do produto final. Segundo Jay (2005), bactérias do gênero *Lactobacillus* crescem e toleram valores de pH mais baixos do que as pertencentes ao gênero *Streptococcus*. Acreditamos que alguma falha ocorreu no bioprocessamento de fabricação que beneficiou o crescimento de bactérias do gênero *Streptococcus* as quais produziram menos ácido, fazendo

com o que pH ficasse um pouco mais alto. Outra hipótese consiste nas características fenotípicas e genotípicas das culturas *starters* utilizadas pelas empresas lácticas. Outra possível causa deste leve aumento de pH seria a adição de produtos conservantes, estabilizantes e polpa de fruta após o processo de fermentação, causando uma alteração nos valores de pH do produto final. Mas para confirmar essas hipóteses requer novas pesquisas científicas no meio acadêmico e privado.

Para Aldrigue et al. (2002), a umidade de um alimento está relacionada com sua estabilidade, qualidade e composição e pode afetar o armazenamento, a embalagem e o processamento. Os resultados obtidos através deste estudo, em relação a umidade, para iogurtes a base de morango apresentou uma média de 79,70% enquanto o de coco 78,99%. Trindade et al. (2001) relataram percentuais de umidade entre 89% e 91,20% que foram valores acima dos resultados obtidos no nosso trabalho.

O baixo número de coliformes presentes no nosso estudo pode estar relacionado ao pH do produto sendo este um fator limitante para o seu crescimento e metabolismo como demonstrado nos trabalhos de

HOFFMANN et al. (1997) e MORAES et al. (2002). JAY (2005) relatou que a faixa de crescimento de coliformes variam do pH 4,4 a 9 podendo ser uma das causas da baixa contagem destes micro-organismos na maioria das amostras analisadas. Ressaltamos que as etapas do bioprocesso de produção de iogurte precisam estar em boas condições higiênico-sanitárias para garantir um produto final de qualidade.

A presença de bolores e leveduras pode indicar ausência de boas práticas durante fabricação ou embalagem no produto final. MOREIRA et.al. (1999) relataram que os fungos são a principal causa de contaminação dos iogurtes, uma vez que o baixo valor de pH impede o crescimento dos principais micro-organismos. MOREIRA et al. (1999) apresentaram que 10,63% das amostras analisadas ultrapassaram os limites estabelecidos para este produto. MOREIRA et al. (1999) concluíram que a adição de xarope, polpa de fruta, estabilizantes e corantes contaminaram o produto final com mofos e leveduras. MOREIRA et al. (1999) analisaram as possíveis falhas nas condições higiênicas durante o processo de obtenção do iogurte, como falhas na

higienização dos equipamentos e dos manipuladores.

Conclusão

Com base neste estudo científico podemos concluir que:

- Não existe diferença estatística na qualidade físico-química de iogurtes de coco e de morango.
- Não existe diferença estatística na qualidade microbiológica de iogurtes de coco e de morango.
- Nos iogurtes de coco e de morango apresentaram algum tipo de micro-organismos, tais como: coliformes, mofos e levedura.
- A presença dos micro-organismos coliformes, mofos e levedura nos iogurtes de coco e de morango indica uma péssima condição higiênico-sanitária nas etapas de bioprocessos da produção industrial.
- As indústrias lácticas dos iogurtes de coco e de morango precisam rever

e melhorar as boas práticas de fabricação para evitar a contaminação microbiológica no produto final.

Agradecimentos

Ao Serviço de Orientação à Alimentação Pública (SOAP) do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – *Campus* de Botucatu, São Paulo, Brasil.

Referências

1. ALDRIGUE, M. L.; MADRUGA, M. S.; FIOREZE, R.; LIMA, A. W. O.; SOUSA, C. P. **Aspecto da ciência e tecnologia de alimentos**. João Pessoa: Ed. UFPB, v. 1, 2002.
2. BASTOS, P. A. M. B. **Sobrevivência de Escherichia coli O157:H7 em iogurtes**. Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária. Área de Concentração, Higiene Veterinária e Procedimentos Tecnológicos de Produtos de Origem Animal (Tese de Doutorado). Universidade Federal Fluminense. Niterói, RJ. 2009.
3. BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Instrução Normativa n. 46 de 23 de outubro de 2007**. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Brasília, DF. 2007.
4. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC n. 12/2011**. Brasília: Anvisa. 2011.
5. HOFFMANN, F. L.; PAGNOCCA, F. C.; FAZIO, M. L. S.; VINTURIM, T. M. Estudo higiênicosanitário de diferentes tipos de iogurte. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 15, n. 2, p. 187-196, 1997.
6. JAY, J.M. **Microbiologia de Alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
7. LARAYER, A. L. S.; MIGUEL, A. M.R.; GUEDES, A.L.A.; CARVALHO, A.F.; HAJDENWURCEL, J.R.; FONSECA, L.M.; MOSQUIM, M.C. A.; NUTTI, M.R.; FILHO, P.S.; BRANDÃO, S.C.C.; PORFÍRIO, T.A. **Nova Legislação comentada de produtos lácteos**. São Paulo: Revista Indústria de Laticínios, 2002.
8. MARTINS, J.F.P.; LUCHESE, R.H. Determinação da compatibilidade de crescimento associativo entre cepas de *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*. **Revista do Instituto Laticínios Cândido Tostes**, v. 43, n. 256, p. 11-13, 1988.
9. MORAES, P.C.B.T. **Avaliação de iogurtes líquidos comerciais sabor morango: estudo de consumidor e perfil sensorial**. (Dissertação de Mestrado). Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. – Campinas, SP, 2004.
10. MOREIRA, S.R.; SCHWAN, R.F.; CARVALHO, E.P.; FERREIRA, C. Análise microbiológica e química de iogurtes comercializados em Lavras, Minas Gerais. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, vol. 19, n. 1, jan. 1999.
11. TAMINE, A.Y.; ROBINSON, R.K. **Yogur: ciencia y tecnología**. Zaragoza: Acibia, 1991.
12. TRINDADE, C.S.; TERZI, S.C.; TRUGO, L.C.; DELLA MODESTA, R. C. Development and sensory evaluation of soy milk based yoghurt. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 51, n.1, 2001.