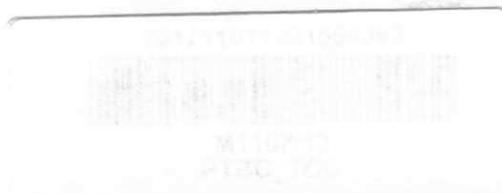


**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CAMPUS DE PATOS – PB  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**MONOGRAFIA**

**GRAYCE ALVES DE BRITO**

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DO IOGURTE NATURAL  
INTEGRAL COMERCIALIZADO EM PATOS, PARAÍBA.**



**PATOS – PARAÍBA – BRASIL**

**2013**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CAMPUS DE PATOS  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**GRAYCE ALVES DE BRITO**

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DO IOGURTE NATURAL  
INTEGRAL COMERCIALIZADO EM PATOS, PARAÍBA.**

**GRAYCE ALVES DE BRITO**

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DO IOGURTE NATURAL  
INTEGRAL COMERCIALIZADO EM PATOS, PARAÍBA.**

Monografia apresentada ao Curso de Medicina Veterinária na área de concentração: Tecnologia e Inspeção de Leite e Derivados da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos-PB., como requisito das exigências para obtenção do Título de Graduação em Medicina Veterinária.

**Orientadora: Professora Dr<sup>a</sup> Maria das Graças Xavier de Carvalho.**

**PATOS – PARAÍBA – BRASIL**

**2013**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

Faculdade de Medicina Veterinária  
Departamento de Tecnologia e Inspeção de Leite e Derivados



Biblioteca Setorial do CDSA. Maio de 2022.

Sumé - PB

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
CAMPUS DE PATOS – PB  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

GRAYCE ALVES DE BRITO  
**Graduanda**

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Médico Veterinário.

APROVADO EM:

BANCA EXAMINADORA



---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria das Graças Xavier de Carvalho – UFCG/CSTR



---

Prof. Dr. Albério Antônio de Barros Gomes – UFCG/CSTR



---

Prof<sup>ª</sup> MCs Suely Cristina pereira Lima – IFPB

**Dedico aos meus pais não só pela pessoa que me tornei,  
mas também pela confiança e oportunidade de seguir um sonho .**

## **AGRADECIMENTOS**

Quero agradecer por Deus ter traçado essa trajetória em minha vida, que começou pelo interesse da saúde dos meus próprios animais (Bigú e Nina), que fizeram surgir o interesse e preocupação pelos animais.

São inúmeras as pessoas que tenho a agradecer, as principais são responsáveis pela minha existência e por continuar lutando e acreditando em mim, são eles meus pais amados Rosângela Alves de Brito e Waldemir de Brito, sem eles não teria chegado até aqui, eles são parte dessa conquista e responsáveis por ela.

Aos meus irmãos que torcem e compartilham de tudo que se passa e na minha vida. A todos os familiares, em especial meus tios Patrícia Miranda, Otávio Barbosa, Fernando Miranda que tenho um carinho enorme, aos meus primos Paulo, Poliana, Patrícia. In Memoriam da minha avó Maria e minha tia Nenzinha, que sempre acreditavam na minha conquista.

Aos queridos e eternos amigos que conquistei em Areia no tempo que cursei Zootecnia, a que tenho respeito e admiração, são eles: Tamires Magalhães, Beatriz Dantas, João Paulo Ramos, Luana Santos, Leandro Firmino, Graça, Sheila Sant'ana, Nélio Oliveira, Brunna Costa, Herbet Moraes. E a Liliane Marinho e Rafaela Beltrão que também mudaram para o curso de Medicina Veterinária, e continuamos amizade e que começou em Areia.

Imensamente agradecida por tudo que vivi em Patos, as amizades verdadeira que sempre irei lembrar de todos os momentos e sentirei saudades eternas de tudo. Essa pessoas fazem parte dessa conquista são: Ferreira Bessa Neto, Patrícia Iasmim, Lislely, Rosane, Alynne Macedo, Arthur George, Auricélia, Alane Pereira, Garcineide, Samuel Lucena, Arthur Wagner, Bergson, Thiago Gurjão, Ramon Jordan, Damis, Tereza, Ramon Monteiro, Douglas, Vaqueiro (Wellington), Daliane.

Quero agradecer as pessoas que fizeram parte do meu convívio diário, morando, dividindo, aprendendo, e como foi válida a experiência de todas as lembranças boas que continuarei ter e sentirei saudade. Em especial umas das melhores pessoas que já conheci, por um caráter inigualável, o bom humor e acima de tudo paciência, a minha eterna grande Ingrid Gomes. A também Siomara Fábria fez parte de tudo que foi citado, e por fazer parte da minha vida.

Pela disponibilidade, atenção, oportunidade, por aceitar convite de última hora a ser minha orientadora, agradecer a Professora Maria das Graças Xavier de Carvalho, muito obrigada!!

*"A compaixão pelos animais está intimamente ligada à bondade de caráter, e pode ser seguramente afirmado que quem é cruel com os animais não pode ser um bom homem."*

**Arthur Schopenhauer**

## SUMÁRIO

ÍNDICE DE TABELAS .....	9
RESUMO.....	10
ABSTRACT .....	11
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2. REVISÃO DE BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>14</b>
2.1 Histórico .....	14
2.2 Importância do iogurte.....	15
2.3 Características .....	16
2.3.1 Perfil microbiológico .....	16
2.3.2 Bactérias Mesófilas .....	16
2.3.3 Coliformes 30 a 35° C .....	16
2.3.4 Coliformes 45° C .....	17
2.3.5 Bactérias Lácticas .....	18
2.5 Perfil Físico químico .....	18
2.6. Consequência da contaminação .....	19
<b>3. MATERIAIS e MÉTODOS.....</b>	<b>20</b>
3.1 Localização .....	20
3.2 Período de execução .....	21
3.3 Coleta de dados .....	21
3.4 Análise microbiológica.....	21
3.4.1 Contagem total de mesófilos .....	22
3.4.2 Número mais provável de coliformes 30/35°C .....	22
3.4.3 Número mais provável de coliformes 45°C .....	23
3.4.4 Bactérias lácteas .....	23
3.5 Análise físico-química.....	24

3.5.1 pH.....	24
3.5.2 Acidez.....	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
5. CONCLUSÃO.....	31
REFERÊNCIAS.....	32
Anexo.....	40

## ÍNDICE DE TABELAS

- Tabela 1:** Quantificação de coliformes 30/35°C, do iogurte natural integral coletado na cidade de Patos-PB, no período de 25/06/2013 a 25/07/2013.....25
- Tabela 2:** Quantificação de coliformes 44/45°C, do iogurte natural integral coletado na cidade de Patos-PB, no período de 25/06/2013 a 25/07/2013.....26
- Tabela 3:** Quantificação de mesófilo, do iogurte natural integral coletado na cidade de Patos-PB, no período de 25/06/2013 a 25/07/2013.....27
- Tabela 4:** Quantificação de bactérias lácticas, do iogurte natural integral coletado na cidade de Patos-PB, no período de 25/06/2013 a 25/07/2013.....28
- Tabela 5:** Quantificação da acidez grama de ácido láctico/100g, do iogurte natural integral coletado na cidade de Patos-PB, no período de 25/06/2013 a 25/07/2013.....29
- Tabela 6:** Quantificação do pH, do iogurte natural integral coletado na cidade de Patos-PB, no período de 25/06/2013 a 25/07/2013.....30

## RESUMO

**ALVES, GRAYCE DE BRITO. Avaliação microbiológica e físico-química do iogurte natural comercializado em Patos, Paraíba. UFCG. 2013. (Monografia para conclusão do curso de Medicina Veterinária)**

O iogurte desempenha um papel de suma importância na alimentação humana por colaborar no bom funcionamento intestinal. E como todo produto de origem animal deve ter controle da carga de micro-organismos para não causar danos à saúde pública. A produção de iogurte exige uma série de condições, desde seu processamento até comercialização, para que tenha segurança na qualidade sanitária e organoléptica. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a qualidade microbiológica e físico-química do iogurte natural comercializado na cidade de Patos-PB. Para isso foram analisadas 39 amostras de três marcas diferentes coletadas durante os meses de junho e julho de 2013. De todas as marcas e lotes avaliados, 12,82% apresentaram valores acima do permitido para coliformes e 35,89% apresentaram a presença de micro-organismos mesófilos incontáveis, esse resultado, foi devido as bactérias lácticas e coliformes 30/35° também pertencerem a esse grupo. Alguns valores de pH das amostras, de modo geral, 8 (20,51%) amostra apresentaram um pequeno aumento, ou seja, apresentaram valores levemente alterados em relação aos parâmetros indicados como normais de acordo com alguns autores. Enquanto a acidez estavam dentro dos padrões. Esses resultados indicam que pode estar ocorrendo uma variação no processo de produção em boa parte das amostras avaliadas, e o excesso de coliformes e mesófilos podem apontar precariedade na higienização dos colaboradores e maquinários, assim verifica-se que se faz necessário uma maior ação fiscalizadora dos órgãos responsáveis pelos serviços de Inspeção e Vigilância Sanitária Municipal.

**Palavras-chave:** Contagem de micro-organismos, Laticínio, Qualidade de alimentos.

## ABSTRACT

Yogurt has a extremely important role in food through cooperation in bowel function. And like all animal products should load control microorganisms to not cause harm to public health. The yogurt production requires a series of conditions, since its processing to marketing, to have security in health quality and organoleptic. The objective of this research was to evaluate some parameters of microbiological and physico-chemical yogurt sold in the city of Patos-PB. For this we analyzed 39 samples from three different brands collected during the months of June and July 2013. Of all the brands and lots evaluated, 12.82% had values above allowed for coliform and 35.89% showed the presence of mesophilic microorganisms above normal. Some pH values of the samples, in general, 8 (20.51%) samples showed a slight increase, or had values slightly changed in relation to the parameters indicated as normal. While the acidity were within the limits. These results indicated that a change may be occurring in the production process in most of the samples, and excessive coliform and mesophilic point in precarious hygiene of employees and machinery, so it turns out that it needs a greater share of the supervisory bodies the services of Municipal Inspection and Sanitary Surveillance.

Keywords: Count micro-organisms, Dairy, Food Quality

## 1. INTRODUÇÃO

O iogurte tem grande importância na alimentação humana por possuir as proteínas necessárias na construção e reparação de tecidos. O cálcio é responsável pela formação e manutenção de dentes e ossos, e o iogurte é um alimento que colabora ao bom funcionamento intestinal.

Os efeitos benéficos das bactérias lácticas do iogurte estão ligados ao aumento da digestibilidade, aumento do valor nutritivo, níveis elevados das vitaminas do complexo B e de alguns aminoácidos, melhor utilização da lactose, níveis reduzidos de lactose no produto e maior disponibilidade de lactase, comparando-se o leite *in natura*. Além disso, outros efeitos benéficos podem ser citados, tais como a modulação do sistema imune; ligação e/ou degradação dos potenciais carcinogênicos (melhorando a atividade metabólica intestinal); alteração da atividade metabólica da microbiota intestinal; alterações das condições físico-químicas do cólon; melhora qualitativa e quantitativa da microbiota intestinal e redução de promotores carcinogênicos.

As mudanças nos hábitos alimentares e no estilo de vida são principalmente da busca incessante por saúde, para proporcionando melhor qualidade de vida e prevenindo o aparecimento de determinadas doenças. E vem com a tendência atual do consumo de alimentos que cada vez mais promovam bem estar e saúde através de produtos de qualidade.

A globalização de mercados, em função da grande e variada oferta de produtos lácteos importados, induziu o consumidor brasileiro a tornar-se mais exigente em relação à qualidade dos produtos oferecidos. A indústria laticinista, por sua vez, tem se modernizado e exigido do produtor um leite de melhor qualidade, na tentativa de tornar-se mais competitiva.

A presença de micro-organismos patogênicos e o uso indiscriminado de antimicrobianos na terapia cotidiana dos rebanhos sem orientação técnica, bem como o aparecimento de enfermidades que lesam a glândula mamária, constituem

os pontos críticos que interferem na produtividade e qualidade do produto e de seus derivados nas unidades de produção leiteira.

A quantidade de Coliformes 30/35°C, Coliformes 44/45°C e mesófilos presentes no iogurte podem colocar em risco a saúde das pessoas consumidoras, mas em especial a saúde de crianças e idosos as quais estão mais suscetíveis a contaminação por terem o sistema imunológico mais sensível.

Assim, com base nos problemas que podem acarretar a quantidade desses micro-organismos, que podem ter a capacidade patogênica passível a discussão, verificou-se a necessidade de avaliar do ponto de vista microbiológica e físico-química da qualidade do iogurte natural.

Foram avaliadas a qualidade físico-química que foi a em relação a acidez e pH, e a microbiológica quanto, a presença mesófilos, coliformes 30/35°C, coliformes 44/45°C e bactérias lácticas dos iogurtes natural comercializado no Município de Patos-PB.

## 2. REVISÃO DE BIBLIOGRAFIA

### 2.1 Histórico

O termo Yogurte surgiu de Jugurt originário da Turquia que se consagrou universalmente para denominar o produto obtido a partir da fermentação dos micro-organismo *Lactobacillus delbrueckii subesp.bulgaricus* e *Streptococcus salivarius subesp.thermophilus* (TAMIME e DEETH, 1980).

Na antiguidade, considerava-se que os leites fermentados eram eficazes no tratamento de vários males do homem. Era notadamente utilizado nas desordens do estômago, fígado e intestinos, além disso, era utilizado para estimular o apetite, regularizar a temperatura do sangue e melhorar a cor da pele (TAMIME e ROBINSON, 1991).

Uma teoria data do período neolítico, entre 5.000 a 3.000 a.C quando pastores nômades passaram a se alimentar com o leite de animais domesticados. Armazenado em marmitas de barro, o leite ficava exposto às altas temperaturas do deserto, fermentava e produzia um alimento de sabor agradável que se transformava em um tipo de iogurte. Além disso, o alto grau de acidez, não permitia o desenvolvimento de bactérias patogênicas. Sem dúvida, perceberam que seu consumo não lhe causava nenhum prejuízo, por isso, esse produto tornou-se popular e era oferecido a criança na desmama (DANONE, 2013).

O iogurte é um dos poucos alimentos conhecidos e consumidos a mais de 4.500 anos. A Bulgária foi um dos primeiros países a consumi-lo, e o divulgou para o restante do mundo. Nos anos 1950 teve sua popularidade aumentada ao considerá-lo um alimento bom para a saúde e para o corpo. Desde então, esse produto foi ganhando espaço no dia a dia, passando a fazer parte dos hábitos alimentares de muitas pessoas (MORAES, 2004)

## 2.2 Importância do iogurte

O leite é notoriamente um alimento dos mais completos, sendo uma das características dos mamíferos. Evidente que o consumo comercial é derivado de outros animais como vaca, cabra e búfala, sendo os mais conhecidos. Além disso, o leite é hoje um alimento acessível ao bolso do consumidor em face a diversidade de tipos de leite, facilitando a conquista de mercados e de consumidores (BEHMER, 1991).

O consumo também pode ser atribuído à preocupação crescente das pessoas em consumir produtos naturais, além dos benefícios que o iogurte traz ao organismo, 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 (FERREIRA et al., 2001).

Os alimentos associados a uma forte imagem de "saúde" representam uma fonte de diferenciação e de rentabilidade em certos ramos do setor alimentar que conhecem uma forte estagnação, como os laticínios. Na França, por exemplo, a taxa de valor agregado dos laticínios "saúde" é de 20%, contra 13% para a simples transformação do leite (PADILLA et al., 1986).

Um consumo aumentado de leite fermentado ou suplementos alimentares com lactobacilos ou bifidobactérias viáveis parece estar correlacionado com a baixa incidência de câncer de cólon (SAARELA et al., 2000).

Nos últimos 20 anos, a fabricação de iogurte no Brasil cresceu de maneira considerável, registrando atualmente uma produção média de 400 mil toneladas por ano, o que representa 76% do total de produtos lácteos (SANTANA et al., 2006).

O iogurte, apesar de ter apresentado um bom crescimento nos últimos anos, ainda está muito aquém quando comparado com o da França, com consumo per capita de iogurte 19kg/ano; Uruguai e Argentina, 7kg/ano, enquanto no Brasil o consumo é de 3kg/ano (MORAES 2004).

Vários estudos em animais e humanos sugerem que a ingestão de bactérias ácido-láticas (BALs) e de produtos fermentados de leite diminuem significativamente as atividades de algumas enzimas fecais que podem estar envolvidas na formação de carcinógenos (GOLDIN e GORBACH, 1984; SPNHAAK et al., 1998).

## **2.3 Características**

### **2.3.1 Perfil microbiológico**

Assim como todos os produtos de origem animal, o iogurte pode ter os micro-organismos e saprófitos e devem ter limites controlados para não causar danos ao alimento ou a saúde pública (MORAES et al, 2002).

### **2.3.2 Bactérias Mesófilas**

As bactérias mesófilas são constituídas por espécies da família *Enterobacteriaceae*, e dos gêneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Streptococcus* e *Staphilococcus*. Sua importância em alimentos se dá principalmente devido a sua capacidade de produzir toxinas e estas ao serem ingeridas provocarem sobretudo efeitos gastroentéricos. A contagem padrão em placa (C.P.P.) tem sido usada como indicador da qualidade higiênica dos alimentos, fornecendo também idéia sobre seu tempo útil de conservação (SILVA et al.,1997). A presença em grande número indica matéria-prima excessivamente contaminada, limpeza e desinfecção de superfícies inadequadas, higiene insuficiente na produção e condições inapropriadas de tempo e temperatura durante a produção ou conservação dos alimentos (SIQUEIRA, 1995).

### **2.3.3 Coliformes 30 a 35° C**

Coliforme é o termo geral para bastões Gram-negativos que habitam o trato intestinal do homem e de outros animais, sem no entanto, causar doenças, exceto *Edwardsiella* e algumas cepas de *Escherichia coli* que ao se instalarem são patogênicas (DAVIS *et al*, 1980).

O grupo de coliformes 30/35°C inclui bactérias não formadora de endosporos, aeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48h a 35°C. Os altos valores de coliformes são indicativos de práticas de higiene e sanificação aquém dos padrões (SILVA, 1997).

As espécies do gênero *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella* podem persistir por longos períodos e se multiplicarem em ambientes não fecais. O índice de coliformes 30/35°C é utilizado para avaliar as condições higiênicas, sendo que altas contagens significam contaminação pós-processamento, limpezas e sanificações deficientes, tratamentos térmicos ineficientes ou multiplicação durante o processamento ou estocagem (DELAZARI, 1998).

#### 2.3.4 Coliformes 45° C

A denominação coliformes fecais foi utilizada durante muitos anos para descrever coliformes que fermentavam a lactose com produção de gás a 45°C. *Escherichia coli* e algumas cepas de *Klebsiella* e *Enterobacter* apresentam esta característica de termotolerância, porém, somente *E. coli* tem como habitat primário o intestino humano e de animais. *Klebsiella* e *Enterobacter* podem ser encontrados em outros ambientes, como vegetais e solo, onde persistem por tempo superior ao das bactérias patogênicas de origem intestinal. Logo, não é correta a relação direta da presença de coliformes 45°C em alimentos e água com contaminação de origem fecal, o que levou à necessidade de modificar, na legislação brasileira, a denominação coliforme fecal para coliformes 45°C. O Ministério da Saúde, através da Resolução Nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) adotou a denominação coliformes termotolerantes, considerando os padrões "coliformes de origem fecal"(SILVA *et al.*, 2006; ANVISA, 2001).

### 2.3.5 Bactérias Lácticas

As bactérias lácteas representam grande importância no desenvolvimento de alimentos lácteos por serem responsáveis pela transformação da lactose em ácido láctico, participar da degradação das proteínas em processo de maturação e produzir diacetil e acetaldeído (ORDÓNEZ et AL, 2005).

A legislação brasileira (Decreto nº 2.244/97) define iogurte como "o produto obtido pela fermentação láctica através da ação do *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* sobre o leite integral, desnatado ou padronizado". Pode-se fazer acompanhar de outras bactérias lácticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto acabado (BRASIL, 1997).

## 2.5 Perfil Físico químico

Devido a existência de poucas especificações do padrão de qualidade do iogurte, torna-se difícil padronizar sua qualidade até mesmo devido as formas diversas formas de fabricação, ingredientes e preferência do consumidor (PENNA, 1994). No entanto essa pode ser orientada pela determinação físico-química que são avaliadas através da acidez e o pH (KROGER, 1976).

Durante a fermentação do leite, o pH diminui gradativamente até cerca de 4,5, ocorrendo desestabilização das micelas que se agregam formando uma rede tridimensional, na qual o soro é aprisionado (JAROS et al, 2002). Sendo assim o pH como a força iônica, pode alterar sua distribuição das cargas entre cadeias laterais das proteínas, causando aumento das interações proteína-proteína (GOSSETT et al, 1984)

A variação na interação interproteicas influencia a formação de gel durante a acidificação, já que a geleificação é influenciada por duas forças opostas que atuam simultaneamente. De um lado, uma tendência de desagregação das micelas de

caseína causada pela solubilização do fosfato de cálcio coloidal e, de outro lado, uma tendência de agregação de micelas num sistema mais ordenado causado pela redução de carga negativas da superfície da micela e pela diminuição da hidratação da caseína na faixa de pH 5,3 a 4,6. A formação do gel ocorre quando as forças que promovem a repulsão. Em géis ácidos, como o iogurte, a alta umidade ( +ou - 85%) e o baixo pH ( + ou - 4,7), próximo ao ponto isoelétrico da caseína, são responsáveis pela baixa capacidade de retenção de água no produto, tornando altamente suscetível a sinérese ( FOX, 2000).

O valor de pH implica na atividade metabólica das bactérias, podendo favorecer a um determinado grupo em detrimento de outro. No caso da fermentação do iogurte, bactérias do gênero *Lactobacillus* crescem e toleram valores de pH mais baixos do que as pertencentes ao gênero *Streptococcus* (MOREIRA *et al.*, 1999).

Na produção de iogurte, avaliações de pH e acidez do produto final, são importantes quanto ao aroma e sabor, pois um elevado teor de acetaldeído influencia diretamente nas características organolépticas do produto final (ARCURI *et al.*, 2006).

A acidez torna os iogurtes alimentos relativamente estáveis por inibir o crescimento de bactérias Gram-negativas, onde o pH pode variar de 3,6 a 4,2 (VEDAMUTHU, 1991).

De acordo com regulamento de que acidez varia de 0,6 a 1,5 g ácido láctico/100g, o presente trabalho está dentro do padrão exigido de acordo com (BRASIL, 2013).

## **2.6. Consequência da contaminação**

Na fabricação de iogurte a microflora essencial é constituída por *Streptococcus termophilus* e *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*. Para a formação do iogurte as bactérias lácticas trabalham em simbiose e precisam crescer igualmente. A ação proteolítica do bacilo favorece o crescimento dos estreptococos pela formação de pequenos peptídeos e aminoácidos, principalmente valina. Os

cocos por sua vez, favorecem o crescimento do bacilo através da formação de ácido fórmico e pela rápida produção de CO<sub>2</sub> (GIGANTE, 2004).

O resíduo de antibiótico promove a quebra do crescimento associado a cultura ou retarda a taxa de produção do ácido, inibindo assim a produção do iogurte ou levando a obtenção de um produto de baixa qualidade, com gel frágil, sabor deficiente e separação do soro (GIGANTE, 2004).

Os atributos do produto é uma consequência, além das condições de fabricação, da qualidade, aspectos microbiológicos e do tratamento térmico do leite, como também da cultura láctica empregada, uma vez que da sua ação sobre os componentes do leite é que resultarão as características desejáveis no produto. A qualidade higiênica deste alimento deve estar constantemente controlada, por ser bastante consumido também por idosos, crianças e pessoas doentes (SALINAS, 1986)

Dentre os parâmetros mais importantes que determinam a qualidade de um alimento, sem dúvida estão aqueles que definem as suas características microbiológicas, o que permite avaliá-lo quanto às condições de processamento, armazenamento, distribuição para consumo, vida útil e riscos à saúde da população (FRANCO, 2007).

A contaminação do iogurte pode ocorrer desde a matéria-prima até a distribuição, ou seja, em toda cadeia produtiva. Por possuir um prazo de validade relativamente curto, deve ser armazenado entre 2° e 5° C (MARTIN, 2002).

### **3. MATERIAIS e MÉTODOS**

#### **3.1 Localização**

O presente estudo foi realizado no Município de Patos-PB.

### **3.2 Período de execução**

O projeto foi desenvolvido durante o período de 25 de junho á 25 julho de 2013.

### **3.3 Coleta de dados**

. Foram coletadas 39 amostras de iogurtes natural integral nas quais foram consideradas o prazo de validade, o lote de fabricação e as condições adequadas de refrigeração dos estabelecimentos. Os comércios utilizados nesse trabalho eram os principais da cidade, onde as amostra eram acondicionadas em freezer, com temperaturas ideais que variavam de 4° C a 8 °C.

As amostras, oriundas de lotes de fabricação diferentes, foram coletadas a cada 15 dias. Sendo os iogurtes de 3 marcas, de 8 estabelecimentos no município de Patos-PB, e as análises foram dividas em três etapas. A primeira no dia 25 de junho foram analisadas 13 amostras, a segunda no dia 10 julho 13 amostras e a terceira e ultimas amostra no dia 25 de julho. As amostras foram acondicionadas em caixas de material isotérmico contendo cubos de gelo e transportadas imediatamente para o Laboratório de Tecnologia e Inspeção de Leite e Derivados da Universidade Federal de Campina Grande, Campus Patos- Paraíba, onde se realizou a quantificação das análises de mesófilos, Coliformes 30/35°C Coliformes 44/45°C, bactérias lácteas, bem como as análises acidez e pH.

### **3.4 Análise microbiológica**

Todas as coletas e análises microbiológicas seguiram a metodologia recomendada pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2003).

Quanto a contagem de coliformes a 30/35°C, foram encontradas variações de < 0,3 até >110 NMP/ml, porém a legislação vigente (BRASIL, 2001).

Para coliformes 45° do padrão exigido que é no máximo de 10 NMP/g (BRASIL, 2005).

#### **3.4.1 Contagem total de mesófilos**

A contagem total de mesófilos consistiu em diluir 1 mL da amostra em 9 mL de água peptonada tamponada a 0,1% até a diluição  $10^{-9}$ , e se realizou a semeadura em profundidade, em placas de Petri de 100mm de diâmetro das diluições  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$  e  $10^{-9}$ .

Em seguida acrescentou como meio de cultivo o Plate Count Agar (PCA) em quantidade suficiente para formar uma fina camada de meio na superfície da placa. Faz-se a homogeneização da mistura perfazendo quatro movimentos em sentido horizontal-vertical, quatro esquerdo-direito e quatro em oito, por fim aguarda-se sua solidificação e as incuba por 48 horas a  $35^{\circ}\text{C} \pm 1$ . Após este período foi realizada a leitura de acordo com o anexo IV da Instrução Normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003 do MAPA (BRASIL, 2003).

#### **3.4.2 Numero mais provável de coliformes 30/35°C**

A técnica empregada para determinar coliformes 30/35°C, foi a técnica dos tubos múltiplos que consiste em adicionar 1 mL da amostra em 9 mL de água peptonada tamponada a 0,1%, obtendo assim a diluição  $10^{-1}$ , desta diluição se retira 1mL e adicionado em outro tubo contendo a mesma água peptonada tamponada, obtendo assim a diluição  $10^{-2}$ , sendo que a partir desta diluição se inocula 1mL da mesma em três tubos contendo 9ml de caldo verde brilhante bile com 2% de lactose contendo um tubo de Durhan invertido em seu interior, faz-se isto até a diluição  $10^{-6}$  sempre vertendo os tubos após a adição do inóculo da amostra por no mínimo três vezes para que ocorra a perfeita homogeneização entre meio e amostra, então incubou este material a  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$  por um período de 48 horas (BRASIL, 2003).

Nos tubos classificados como coliformes 30/35°C foi realizada sua quantificação de acordo com a tabela de NMP que estima a quantidade destes micro-organismos de acordo com o padrão dos tubos contendo gás nas suas diferentes diluições.

### 3.4.3 Número mais provável de coliformes 45°C

A determinação de coliformes 45°C foi realizada mediante o repique com alça de platina dos tubos positivos para coliformes 30/35°C, sendo que estes devem pertencer a no máximo três diluições diferentes, em caldo verde bile brilhante e caldo triptona. Estes meios são então incubados por 24 horas a 45°C  $\pm$  1°C e decorrido este período se verificou ou não a formação de gás. Nos tubos em que ocorre a formação de gás é adicionado 0,3mL do reativo de Kovacs, no caldo triptona correspondente a este, e caso haja a formação de um anel vermelho na superfície do meio, esta amostra é então considerado positiva para coliformes 45°C (BRASIL, 2003).

A quantificação deste segue a mesma metodologia utilizada para os coliformes 30/35°C, fazendo o uso da tabela de NMP, porém deve-se ressaltar que a contagem foi realizada apenas com os tubos nos quais o anel vermelho se formou.

### 3.4.4 Bactérias lácteas

Diluições sucessivas de 1mL de iogurte foram efetuadas em 9mL de Água Peptonada a 0,1%. Para a verificação da atividade das bactérias lácticas (coagulação do leite estéril) foi feita a semeadura em profundidade de 1mL de cada uma das diluições  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$ ,  $10^8$  e  $10^9$  em meio de cultura Ágar Diferencial para *Lactobacillus bulgaricus*/*Streptococcus thermophilus* (L-S Differential Medium), descrito em *Microbiologia Alimentaria – Metodologia Analítica para Alimentos y Bebidas* (ANDERSON, 1992).

### **3.5 Análise físico-química**

Foram realizados análises físico-químicas de acidez em ácido láctico e do pH de acordo com a metodologia descrita nos Métodos Analíticos Oficiais do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2006).

#### **3.5.1 pH**

Nos processos eletrométricos foram empregados aparelhos, denominados de pHmêtro, que são potenciômetros especialmente adaptados que permitem uma determinação direta, simples e precisa. Observa-se o pH eletrométrico imergindo-se a amostra no eletrodo, e o resultado foi expresso com um número adimensional, com duas casas decimais (IAL, 2008; GUBOLINO et al., 2007).

#### **3.5.2 Acidez**

Titulou-se um alíquota de 10mL da amostra diluída, com solução de NaOH N/9 (Solução Dornic), até o ponto de viragem do indicador fenolftaleína a 1%(mudança de incolor para coloração rósea ), realizados os cálculos, o resultado foi expresso em° D.(IAL, 2008;GUBOLINO et al., 2007).

Esta análise pode ser de grande importância na avaliação do estado de conservação de um alimento, pois um processo de decomposição seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera quase sempre a concentração dos íons hidrogênio (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1: Quantificação de coliformes 30/35°, de iogurte natural coletado na cidade de Patos-PB, no período 25/06/2013 a 25/07/2013.

Amostra	Coliformes 30/35°C (NMP/mL)		
	1ª Coleta	2ª Coleta	3ª Coleta
1	3,6	0	>110,0
2	0	0	>110,0
3	0	0	>110,0
4	3,6	0	>110,0
5	0	1,6	>110,0
6	3,6	0	24,0
7	3,6	0	24,0
8	0	0	0
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0
12	0	0	0
13	3,6	0	3

Quanto a contagem de coliformes a 30/35°C, foram encontradas variações de < 0,3 até >110 NMP/ml, porém a legislação vigente (BRASIL, 2001) não contempla padrão para contagem de coliformes a 30/35°C.

LIMA et al., (2013) encontraram nas 30 amostras analisadas em seu experimento 9 (30%) fora do padrão para coliformes 30/35°C.

OLIVEIRA et al., (2013) analisaram 36 amostras de iogurte de quatro marcas diferentes. De todas as marcas e lotes avaliados, 8,3% apresentaram valores acima do permitido para coliformes.

A presença de coliformes em iogurtes é limitada pelos valores de pH, logo sua ausência na maioria das amostras coletadas é um resultado que tem sido encontrados por outros autores tanto para iogurte como para bebidas lácteas (HOFFMANN et al., 1997; MORAES et al., 2002; LIMA et al., 2009; TEBALDI et al., 2013).

A ausência de coliformes na maioria das amostras avaliadas, pode ser indicativa de boas condições higiênico-sanitárias, durante o processo de elaboração produtos analisados (LIMA et al., 2009).

Foi descrito que faixas de crescimento de coliformes em valores de pH como sendo entre 4,4 a 9,0, logo a sua ausência na maioria das amostras, pode ser atribuído possivelmente ao baixo valor do pH do produto, já que esses microorganismos podem sofrer estresse e não serem detectados nas análises (JAY, 2005)

O índice de coliformes 30/35°C é utilizado para avaliar as condições higiênicas, e ao serem encontrados em alimentos anunciam contaminações ocorridas durante pós-processamento, limpeza e sanificação deficientes, ou proliferação durante o processamento ou armazenamento (QUEIROZ et al., 2002).

Tabela 2.: Quantificação de coliformes 45°, de iogurte natural coletado na cidade de Patos-PB, durante o período 25/06/2013 a 25/07/2013

Amostra	Coliformes 45 °C (NMP/mL)		
	1ª Coleta	2ª Coleta	3ª Coleta
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0,3 x 10 <sup>3</sup>	0	2,3 x 10 <sup>2</sup>
5	0	0	0
6	0	0	0
7	0	0	0,3 x 10 <sup>2</sup>
8	0	0	0
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	3,6	0
12	0	0	0
13	0	0	0

Nos coliformes 45° evidenciou-se que 3 (7,69%) amostras estavam fora do padrão exigido que é no máximo de 10 NMP/g (BRASIL, 2005).

As bactérias que fazem parte desse grupo são pertencentes ao grupo de coliformes totais, restringindo-se aos microrganismos capazes de fermentar a lactose com produção de gás em 24-48 horas a 45°C, sendo estes de origem gastrointestinal (SILVA; JUNQUEIRA. e SILVEIRA,1997).

Tabela 3: Quantificação de mesófilos, de iogurte natural coletado na cidade de Patos-PB, durante o período 25/06/2013 a 25/07/2013.

Amostra	Mesófilos (UFC/mL)		
	1º Coleta	2º Coleta	3º Coleta
1	$4,5 \times 10^7$	$1 \times 10^6$	$82,5 \times 10^6$
2	$1,5 \times 10^8$	$2 \times 10^8$	Incontáveis
3	$3 \times 10^6$	$6 \times 10^6$	Incontáveis
4	$6,5 \times 10^6$	$20,5 \times 10^9$	$33,5 \times 10^6$
5	$2 \times 10^6$	$0,5 \times 10^6$	Incontáveis
6	$70 \times 10^6$	$0,5 \times 10^6$	$44 \times 10^6$
7	$0,5 \times 10^6$	$0 \times 10^6$	$17,5 \times 10^6$
8	$8 \times 10^6$	$7,5 \times 10^6$	Incontáveis
9	$1 \times 10^9$	$6 \times 10^6$	$20,5 \times 10^6$
10	$10,5 \times 10^7$	Incontáveis	$18,5 \times 10^6$
11	$3,5 \times 10^6$	Incontáveis	$17,5 \times 10^6$
12	$28,5 \times 10^6$	Incontáveis	$20,5 \times 10^6$
13	$6 \times 10^9$	incontáveis	Incontáveis

A alta contagem de mesófilo já era esperada, já que as bactérias lácticas e coliformes 30/35°C também fazem parte desse grupo de bactérias, mas não pode descartar possíveis patogenicidades.

Utilizando este parâmetro 35,89% das amostras testadas apresentaram-se irregulares com valores acima do permitido. TEBALDI et al. 2007, encontrou valores que excedem a ordem de  $10^7$  UFC/ml para esse tipo de microrganismo, enquanto HOFFMANN et al. 1997 encontrou valores acima de  $10^{13}$  UFC/ml.

Sabe-se que a grande maioria das bactérias patogênicas de origem alimentar é mesófila, e uma alta contagem de micro-organismos mesófilos pode indicar a presença de contaminantes no produto final (SOUZA et al., 2004 apud SOARES et al., 2009).

OLIVEIRA et al., 2013 em seu experimento com iogurtes com polpa de fruta encontraram 33,3% das amostras com a presença de micro-organismos mesófilos acima do normal. O excesso de micro-organismos ocorrido nos 33,3% dos lotes pode ser explicado pelo uso de matéria-prima de má qualidade, já que o leite é um produto que sofre alterações com grande facilidade, num certo espaço de tempo, e necessita de tratamentos que objetivem aumentar seu período de utilização (AQUARONE, 1983 apud SOARES et al., 2009).

Tabela 4:Quantificação de bactérias lácticas, de iogurte natural coletado na cidade de Patos-PB, durante o período 25/06/2013 a 25/07/2013.

Amostra	Bactérias Lácticas (UFC/mL)		
	1° Coleta	2° Coleta	3° Coleta
1	$86 \times 10^7$	0	$>110 \times 10^7$
2	$8,5 \times 10^7$	$>110 \times 10^9$	0
3	$0,5 \times 10^8$	0	$>110 \times 10^7$
4	$38 \times 10^7$	0	$>110 \times 10^7$
5	0	$>110 \times 10^7$	$>110 \times 10^7$
6	$>110 \times 10^9$	$>110 \times 10^8$	$>110 \times 10^7$
7	$>110 \times 10^7$	$>110 \times 10^7$	$>110 \times 10^5$
8	0	$>110 \times 10^7$	$>110 \times 10^6$
9	$0,5 \times 10^8$	$>110 \times 10^7$	$>110 \times 10^8$
10	$>110 \times 10^8$	$13,5 \times 10^7$	$>110 \times 10^8$
11	$27 \times 10^7$	$>110 \times 10^8$	$>110 \times 10^7$
12	$20,5 \times 10^6$	$>110 \times 10^7$	$>110 \times 10^7$
13	0	$>110 \times 10^7$	$>110 \times 10^7$

Na análise de bactérias lácteas foi observado que em 4 (10,25%) amostras não houve crescimento menor que  $10^5$ , e 7 (17,95%) amostras não apresentaram o crescimento mínimo de  $10^7$ , demonstrando que a qualidade possa estar comprometida. Onde Anderson (1992), para que a qualidade do iogurte seja garantida, o número de colônias de *L. bulgaricus* e *S. thermophilus*, individualmente, não deve ser inferior a  $10^7$  colônias por grama ou mL.

Problema de baixas contagens de bactérias lácteas podem estar relacionadas aos valores de pH que foram encontrados que inibem a presença do *S. thermophilus*,

pois este microrganismo tem seu crescimento inibido em pH 4,2 a 4,4, enquanto o *L. bulgaricus* toleram valores mínimos de pH 3,5 a 3,8 (MOREIRA, 1999).

A Recomendação do Mercosul nº 31/97 (BRASIL,2000) passa a estabelecer um limite mínimo para as bactérias lácticas totais como sendo de  $10^7$  UFC/mL, determinando que esses micro-organismos específicos devam ser viáveis, ativos e abundantes no produto final e durante seu prazo de validade.

Tabela 5:Quantificação de acidez grama de ácido láctico/100g, de iogurte natural coletado na cidade de Patos-PB, durante o período 25/06/2013 a 25/07/2013.

Amostra	Acidez grama de ácido láctico/100g		
	1ª Coleta	2º Coleta	3º Coleta
1	0,92	1,43	1,07
2	1,15	1,16	1,10
3	1,47	1,50	1,10
4	1,10	1,45	1,20
5	1,45	1,05	1,15
6	1,36	1,10	1,06
7	1,05	1,40	1,05
8	1,33	1,35	0,95
9	1,05	1,0	0,80
10	1,35	1,40	0,95
11	1,25	1,42	1,23
12	1,05	1,24	0,75
13	1,32	1,03	1,07

De acordo com regulamento a acidez deve variar de 0,6 a 1,5 gramas de ácido láctico/100g, no presente trabalho está dentro do padrão exigido de acordo com (BRASIL, 2007).

Tabela 6:Quantificação pH, de iogurte natural coletado na cidade de Patos-PB, durante o período 25/06/2013 a 25/07/2013.

Amostra	pH		
	1º Coleta	2º Coleta	3º Coleta
1	3,94	4,08	4,19
2	4,12	4,14	4,09

3	4,06	4,14	3,96
4	4,26	4,15	4,15
5	4,0	4,36	4,31
6	4,29	4,35	4,15
7	4,39	4,20	4,20
8	4,22	4,25	4,07
9	4,11	4,29	4,27
10	4,27	4,05	4,33
11	4,32	4,16	4,21
12	4,47	4,28	4,33
13	4,22	4,25	4,02

Apesar de não haver valores padronizados para pH, de acordo com a legislação atual, os valores obtidos revelam que a faixa encontrada nas amostras estão dentro dos valores citados na literatura, variando de 3,8 a 4,3 sendo esta faixa considerada ótima para um produto com qualidade (TAMINE e ROBISON, 1991 apud MORAES, 2004). Porém, alguns valores de pH no presente experimento apresentarem-se um pouco acima do desejado, variando de 4,3 a 4,47 em 8 (20,51%) amostras.

Brandão (1995) afirma que o iogurte com baixa acidez ( $\text{pH} > 4,6$ ) favorece a separação do soro porque o gel não foi suficientemente formado. Por outro lado, iogurte com  $\text{pH} < 4,0$  sofre contração do coágulo devido à redução da hidratação das proteínas, causando também dessoramento.

Os valores de pH encontrados nas amostras dos três sabores de iogurte ficaram um pouco acima de 3,8, indicando que estão bem abaixo da faixa ideal de pH para iogurtes, que fica entre 4,5 e 4,6 (AQUARONE et al., 1983)

## 5. CONCLUSÃO

De acordo com esta pesquisa quanto à qualidade microbiológica, pode-se concluir que, dentre as amostras analisadas encontravam-se fora do critério de aceitação para coliformes 30-35 em 12,82%, e para coliforme 45°C 7,69% também estavam fora do critério de aceitação, a Instrução Normativa N°16. Todavia em relação as bactérias lácteas 28,2% obteve-se amostras fora do padrão.

Para acidez grama de ácido láctico/100g, todas as amostras estavam dentro dos critérios de aceitação exigidos.

Portanto, faz-se necessário estabelecer fiscalização desde a matéria prima, processamento e comercialização, adequando de acordo com o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Para que o consumidor tenha um produto de boa qualidade e assegurando assim sua saúde.

## REFERÊNCIAS

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

AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; BORZANI, W. **Biotecnologia: alimentos e Bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: Edgar Blugher Ltda., 1983.

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

ANVISA, Ministério da saúde. **Resolução - RDC Nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php>>. Acesso em: 16 de abril de 2008.

BEHMER, M. L. A. **Tecnologia do Leite**. 13ª Ed. São Paulo: Nobel, 320 p, 1991.

BRANDÃO, S. C. C. Leite: legislação, responsabilidade e saúde pública. **Rev. Balde Branco**, 360: 68-71, 1994.

Agropecuária. Instrução Normativa N<sup>o</sup> 22. Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 14 abr. 2006.

BRASIL, **Instrução Normativa Nº 16, de 23 de Agosto DE 2005**. Aprovar o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis/consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=12792>> Acesso em: 14 Junho. 2013.

BRASIL. Leis, decretos, etc. Recomendação nº 31 de 12 de junho de 1997 (Consulta Pública) – Regulamento Técnico Mercosur de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, Diário Oficial da União, Brasília, 3 jul 1997, Seç. 1, p. 14064. (Internalizada no Brasil – DIPOA/MA – Resolução nº 5 de 13 de novembro de 2000 – republicada em 2/01/2001 – [http://www.agricultura.gov.br/das/dipoa/resolucao\\_leite\\_fermentado.htm](http://www.agricultura.gov.br/das/dipoa/resolucao_leite_fermentado.htm)).

BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (DISPOA). Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da União**, Brasília, 26 de agosto de 2003. Seção. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851>>. Acesso em: 22 de mar de 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução Nº 12. Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 02 jan. 2001

DANONE. Disponível em: < [www.danone.com.br/tudo-sobre-iogurte/historia-milenar//](http://www.danone.com.br/tudo-sobre-iogurte/historia-milenar//) >. Acesso em: 03 de agosto de 2013.

DAVIS, B. D.; DULBECCO, R.; EISEN, H. N.; GINSBERG, H. S. **Microbiology: including immunology and molecular genetics**. 3ª ed. Philadelphia, Pennsylvania. Harper & Row Publishers. 1980.p. 646 – 658.

FERREIRA, C. L. L. F.; MALTA, H. L.; DIAS, A.S.; GUIMARÃES, A.; JACOB, F. E.; CUNHA, R.M.; CARELI, R. T.; PEREIRA, S.; FERREIRA, S.E. R. Verificação da qualidade físico-química e microbiológica de alguns iogurtes vendidos na região de

Viçosa. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 56, n. 321, p. 152-158, 2001.

FRANCO, B. D. G. M.; Landgraf, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo, Ed.Atheneu, 2007. p27-171.

FOX, P.F. **Fundamentals of Cheese Science**. Gaithersburg, MD: Aspen Pub., 2000.587.

GIGANTE, M.L., **Importância da qualidade do Leite no processamento de produtos lácteos**.I Congresso Brasileiro da Qualidade do Leite, Passo Fundo RS, 2004.

GOLDIN, B.R.; GORBACH, S.L. Alterations of the intestinal microflora by diet, oral antibiotics and Lactobacillus: decreased production of free amines from aromatic nitro compounds, azo dyes and glucuronides. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 73, p. 689-695, 1984.

GOSSET, P. W.;RIZVI, S. S. H.; BAKER, R. C.**Quantitative analysis of gelation in egg protein systems**. **Food Technology**, v. 38, n.5, p. 67-96, 1984.

GUBOLINO, F.I. S; GONÇALVES, V.M. T;HOFFMANN, L.F. **Qualidade microbiológica de diferentes amostras de refrigerantes sabor limão, envasadas em embalagens de plástico de polietileno tereftalato (PET) de 200mL, processados por uma industria da região de São José do Rio Preto-SP**, **Higiene Alimentar**, v 21. p 78-80, 2007.

**HISTORIA do iogurte**. Disponível no site <http://ufsc.br/>. Acessado no dia 04/06/2013.

HOFFMAN, F. L.; PAGNOCCA, F. C.; FAZIO, M. L. S.; VINTURIM, T. M. Estudo higiênico-sanitário de diferentes tipos de iogurte. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 15, n. 2, p. 187-196, jul./dez.1997.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análises de alimentos**. São Paulo. 4.ed. 2008 .v.1. p 876.

JAY, J.M. **Microbiologia de Alimentos**. Tradução de Eduardo Cesar Tondo.6.ed. Porto Alegre: Artmed®, 2005. 712 p.

KROGER, M. Quality of yogurt. **Journal of Dairy Science**, v. 59, n. 2, p. 344-350, 1976.

LIMA, J.B.A; AGUIAR, D.P.; CAMARGO, S.C.A.; PEREIRA, L.S.; OLIVEIRA, I.S.S.; COSTA, F.N.; ALVES, L.M.C. Avaliação da qualidade microbiológica de iogurte elaborado em laticínio no município de São Luiz-MA.

Lima, R. M. T.; Ferrazl. P. S.; Lima, R. C. T.; Araújo, G. T.; Paiva, J. E.; Shinohara, N. K. S.; Lopes, E. J. T. **Análise microbiológica e Físico-química de bebidas Lácteas comercializadas no Recife – PE**. Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Recife - PE. 2009.

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

MORAES, P. C. T. Avaliação de iogurtes líquido comerciais sabor morango: estudo de consumidor e perfil sensorial. **Jornal da UNICAMP**, p. 11, 24 – 30 de maio 2004.

MORAES, C. M.; COELHO, F.J.O.; BIICHLI, J.; GONZALEZ, H. G. ; PORTO, C.R.; ALEXIS, M.A.; ROOS, T.B.; OLIVEIRO, D.S.; TIMM, C.D. Qualidade Microbiológica do Iogurte Comercializado na Cidade de Pelotas XXIX, Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 2002.

MORAES, P. C. B. T. **Avaliação de iogurtes líquidos comerciais sabor morango: estudo de consumidor e perfil sensorial**. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. – Campinas, SP, 2004. 121 p. (Dissertação de Mestrado) Disponível em: <<http://cutter.unicamp.br/document/?code=vtls000313907>> Acesso em: 13 Out. 2010.

MOREIRA, S. R.; SCHWAN, R. F.; CARVALHO, E. P.; FERREIRA, C. Análise Microbiológica e Química de Iogurte Comercializado em Lavras-MG. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 1, p. 147-152, Jan./Abr. 1999.

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, Juan A. Et al. *Tecnologia de alimentos*. Porto Alegre: Artmed, 2005 2v.

PADILLA, M. et alii. 2006. Le développement des produits protégeant la santé et l'environnement en Méditerranée. Notes d'Analyse, Montpellier, n. 5, mars. SALINAS, R. J. Higiene quality of commercial yoghurts. **Alimentaria**, Madrid, v.178, p.27-30, 1986.

PENNA, A. L. B. **Uso de soro desmineralizado em pó na fabricação de iogurte.** 1994. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, SP, 1994.v. 26, n. 3, p. 619-625, Jul./Set. 2006.

QUEIROZ, L. S. O., JÚNIOR, J. B. L., VIEIRA, L. C., SOUSA, C. L. Avaliação Microbiológica de Iogurte de Búfala, com Sabor de Frutas da Amazônia, para Merenda Escolar. **Revista Higiene dos Alimentos.** v.16, n.94, p.39-44, 2002

SAARELA, M.; MOGENSEN, G.; FONDÉN, R.; MÄTTÖ, J.; MATTILA-SANDHOLM, T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J. Biotechnol.*, v. 84,p. 197-215, 2000.

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

SANTANA, L. R. R.; SANTOS, L.C.S.; NATALICIO, M. A.; MONDRAGON-BERNALS, O. L.; ELIAS, E. M.; SILVA, C. B.; ZEPKA, L.Q.; MARTINS, I. S. L.; VERNAZA, M. G.; CASTILHO-PIZARRO, C.; BOLINI, M. A. Perfil Sensorial de Iogurte Light, Sabor Pêssego. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 2006.

SILVA, M. P.; CAVALLI, D. R.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e

petrifilm EC na detecção de coliformes 30/35°C e *escherichia coli* em alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas v.26, n.2, p.352-359, 2006.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica dos alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997, 295p.

SIQUEIRA R.S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: EMBRAPA, 1995. 159p.

SOARES, K. M. P.; SILVA, J. B. A.; AROUCHA, E. M. M.; Gois, V. A.; ABRANTES, M. R.; CESARIANO, M. L. N. **Qualidade microbiológica de bebidas lácteas comercializadas no município de Mossoró-RN**. UFERSA, Mossoró-RN, 2009.

SPANHAAK, S.; HAVENAAR, R.; SCHAAFSMA, G. The effect of consumption of milk fermented by *Lactobacillus casei* strain Shirota on the intestinal microflora and immune parameters in humans. *Eur. J. Clin. Nutr.*, v. 52, p. 899-907, 1998.

TAMIME, A.Y; DEETH, H.C.;Yoghurt Technology and biochemistry. *Journal of food protection*, v. 43, n. 12, p.939-977, dec., 1980.

TAMIME, A. Y. ROBINSON, R. K. **Yogur; ciencia y tecnologia**. Traducido por Maria de la Concepción Díaz de Villegas Soláns e Alvaro Rodriguez Sánchez Arévalo. Zaragoza: Acribia, 1991, 368p.)

TEBALDI, V. M. R.; RESENDE, J. G. O. S.; RAMALHO, G. C. A.; OLIVEIRA, T. L. C.; ABREU, L. R.; PICCOLI, R. H. Avaliação microbiológica de bebidas lácteas fermentadas adquiridas no comércio varejista do sul de Minas Gerais. **Ciência e**

**Agrotecnologia**, Lavras, Minas Gerais, Brasil. vol. 31, n. 4, ago. 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v31n4/21.pdf>> Acesso em: 30 Junho 2013.

VEDAMUTHU, E.R. The yogurt story – past, present and future. Part. VI. **Dairy, Food and Environmental Sanitation**, v. 11, n. 9, p. 513-514, 1991.

**Anexo**

### Tabela de Número Mais Provável (NMP) de coliformes

NMP por mililitro de amostra inoculando  
as diluições de 1,0; 0,1 e 0,01 em cada tubo

Número de tubos positivos				NMP por mL	Número de tubos positivos				NMP por mL
1,0	0,1	0,01	1,0		0,1	0,01			
0	0	0	0	0	2	0	0	0,91	
0	0	1	0,3	2	0	1	1,4		
0	0	2	0,6	2	0	2	2,0		
0	0	3	0,9	2	0	3	2,6		
0	1	0	0,3	2	1	0	1,5		
0	1	1	0,61	2	1	1	2,0		
0	1	2	0,92	2	1	2	2,7		
0	1	3	1,2	2	1	3	3,4		
0	2	0	0,62	2	2	0	2,1		
0	2	1	0,93	2	2	1	2,8		
0	2	2	1,2	2	2	2	3,5		
0	2	3	1,6	2	2	3	4,2		
0	3	0	0,94	2	3	0	2,9		
0	3	1	1,3	2	3	1	3,6		
0	3	2	1,6	2	3	2	4,4		
0	3	3	1,9	2	3	3	5,3		
1	0	0	0,36	3	0	0	2,3		
1	0	1	0,72	3	0	1	3,9		
1	0	2	1,1	3	0	2	6,4		
1	0	3	1,5	3	0	3	9,5		
1	1	0	0,73	3	1	0	4,3		
1	1	1	1,1	3	1	1	7,5		
1	1	2	1,5	3	1	2	12,0		
1	1	3	1,9	3	1	3	18,0		
1	2	0	1,1	3	2	0	9,3		
1	2	1	1,5	3	2	1	15,0		
1	2	2	2,0	3	2	2	21,0		
1	2	3	2,4	3	2	3	29,0		
1	3	0	1,6	3	3	0	24,0		
1	3	1	2,0	3	3	1	48,0		
1	3	2	2,4	3	3	2	110,0		
1	3	3	2,9	3	3	3	> 110,0		

Laboratório de Tecnologia e Inspeção de Leite e Derivados - UFCG

Fonte: Manual de Análises Microbiológicas de Alimentos. 1ª ed. FDA. Washington