



## Qualidade de iogurtes de coco e morango

*Quality of coconut and strawberry yogurtes*

Jéssica Fernandes de Oliveira<sup>1\*</sup>, Lorena Natalino Haber Garcia<sup>1</sup>, Victor Alessandro Abib Pastore<sup>1</sup>, Fernanda Raghianti<sup>1</sup>, Fábio Sossai Possebon<sup>1</sup>, José Paes de Almeida Nogueira Pinto<sup>1</sup> e Otávio Augusto Martins<sup>1</sup>

**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 physical-chemical 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.

Recebido em 10/06/2017. Aceito em 30.12.2017

<sup>1</sup>Serviço 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/10.5935/1981-2965.20170040>

## 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 tetrionato 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

desoxicolidado (XLD) e para o ágar bismuto sulfato (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 triplice 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 H<sub>2</sub>S 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 ± 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 ± 0,38 a <sup>1</sup>	8,10 ± 0,21 a
pH	0,3361	4,42 ± 0,08 a	4,54 ± 0,09 a
Umidade (%)	0,6218	79,70 ± 0,78 a	78,99 ± 1,30 a

<sup>1</sup>Teste 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 ± 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 ± 12,03 a <sup>1</sup>	1,28 ± 0,36 a
<i>Escherichia coli</i> (UFC/mL)	0,3661	0,54 ± 0,19 a	0,85 ± 0,31 a
Bolores e leveduras (UFC/mL)	0,1808	1,55 x 10 <sup>4</sup> ± 6,89 x 10 <sup>3</sup> a	3,22 x 10 <sup>3</sup> ± 3,07 x 10 <sup>3</sup> a

<sup>1</sup>Teste 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 contagem de bolores e leveduras (Tabela 03).

**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	≤ 10 <sup>2</sup> UFC/MI	95 %
		> 10 <sup>2</sup> UFC/mL	5 %
	Contagem de <i>Escherichia coli</i> *	≤ 10 UFC/mL	100 %
		> 10 UFC/mL	0 %
	Contagem de Bolores e Leveduras	≤ 2 x 10 <sup>2</sup> UFC/mL	65 %
		> 2 x 10 <sup>2</sup> UFC/mL	35 %
Pesquisa de <i>Salmonella</i>	Ausência/25 mL	100 %	
	Presença/25 mL	0 %	
Coco	Contagem de Coliformes a 35°C	≤ 10 <sup>2</sup> UFC/mL	92,3 %
		> 10 <sup>2</sup> UFC/mL	7,7 %
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	≤ 10 UFC/mL	100 %
		> 10 UFC/mL	0 %
	Contagem de Bolores e Leveduras	≤ 2 x 10 <sup>2</sup> UFC/mL	61,5 %
		> 2 x 10 <sup>2</sup> 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 bioprocessos; 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 bioprocessos 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 bioprocessamento 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: Acribia, 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.