



INSTITUTO SUPERIOR POLITÉCNICO DE GAZA

FACULDADE DE AGRICULTURA

ENGENHARIA DE PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS

**Qualidade do iogurte de produção artesanal nas comunidades do
distrito de Xai-Xai**

Monografia apresentada e defendida como requisito para a obtenção do grau de
Licenciatura em Engenharia de Processamento de Alimentos

Autor: Abel Alberto Massingue Júnior

Supervisor: Prof. Dr. António Elísio José

Lionde, Setembro de 2021



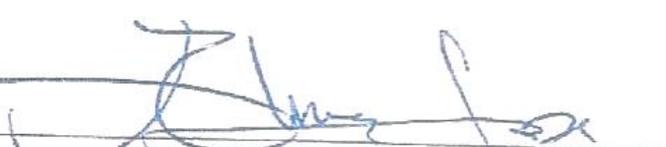
INSTITUTO SUPERIOR POLITÉCNICO DE GAZA

Monografia de licenciatura sobre: **Qualidade do iogurte de produção artesanal nas comunidades do distrito de Xai-Xai**, apresentada ao Curso de Engenharia de Processamento de Alimentos na Faculdade de Agricultura do Instituto Superior Politécnico de Gaza, como requisito para obtenção do grau de Licenciatura em Engenharia de Processamento de Alimentos.

Monografia Científica defendida e aprovada no dia 26 de Agosto de 2021.

Júri

Supervisor


(Prof. Dr. António Elísio José, PhD)

Avaliador (1)


(Eng.ª Angélica Machalela, MSc)

Avaliador(2)


(Eng.º Enoque Moiane, MSc)

Lionde, Setembro de 2021

ÍNDICE

Conteúdos	Pág.
ÍNDICE DE TABELAS	iv
ÍNDICE DE FIGURA	iv
ÍNDICE DE EQUAÇÕES	v
ÍNDICE DE APÊNDICES	vi
LISTA DE ABREVIATURAS	vii
DECLARAÇÃO	viii
AGRADECIMENTOS	x
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Objectivos	2
1.1.1. Geral.....	2
1.1.2. Específicos.....	2
1.2. Problema e Justificativa	2
1.3. Hipóteses.....	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Historial de produção de iogurte.....	4
2.2. Benefícios e importância do iogurte	4
2.3. Composição físico-química do iogurte	5
2.4. Classificação do iogurte.....	7
2.5. Etapas de produção do iogurte.....	8
2.5.1. Recepção da matéria-prima	8
2.5.2. Mistura e homogeneização.....	9
2.5.3. Pasteurização	10
2.5.4. Resfriamento	11
2.5.5. Fermentação láctica.....	12
2.5.6. Embalagem e conservação	15

2.6. Qualidade físico-química.....	16
2.6.1. Acidez.....	16
2.6.2. Gordura.....	17
2.6.3. Proteína.....	18
2.7. Qualidade microbiológica do iogurte.....	19
2.7.1. Parâmetros microbiológicos.....	21
2.7.2. Coliformes totais.....	22
2.7.3. Coliformes termotolerantes (<i>Escherichia Coli</i>).....	23
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
3.1. Área de estudo.....	27
3.1.1. Condições climáticas.....	28
3.2. Colecta de amostras.....	28
3.3. Análises físico-químicas.....	28
3.3.1. Preparação das amostras.....	29
3.3.2. Determinação do pH (Potencial de Hidrogénio).....	29
3.3.3. Determinação do teor de humidade.....	29
3.3.4. Determinação da acidez titulável.....	29
3.3.5. Determinação de cinzas.....	30
3.3.6. Determinação de teor de gordura.....	30
3.4. Análises microbiológicas.....	31
3.4.1. Preparação das amostras, meios de cultura e diluições.....	31
3.4.2. Determinação de coliformes totais e coliformes termotolerantes.....	31
3.4.2.1. Teste presuntivo.....	31
3.4.2.2. Teste confirmativo.....	32
3.5. Análise estatística.....	32
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
4.1. Análises físico-químicas.....	33
4.1.1. Potencial de hidrogénio (pH).....	33
4.1.2. Acidez titulável.....	35
4.1.3. Teor de humidade.....	36
4.1.4. Teor de cinzas.....	37
4.1.5. Teor de gordura.....	38
4.2. Análises Microbiológicas.....	40

5. CONCLUSÃO	43
6. RECOMENDAÇÕES	44
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
8. APÊNDICES	56

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Composição centesimal de iogurte em 100g e kcal.	7
Tabela 2: Critérios microbiológicos para iogurtes.....	21
Tabela 3: Avaliação das características físico-químicas em iogurtes de produção artesanal e industrial.	33
Tabela 4: Contagem microbiológica em amostras de iogurte de produção artesanal e industrial.....	40

ÍNDICE DE FIGURA

Figura 1: Localização dos produtores artesanais de iogurte nas comunidades de Xai-Xai.....	27
---	----

ÍNDICE DE EQUAÇÕES

Equação 1: Determinação de teor de humidade	29
Equação 2: Determinação de acidez titulável.....	30
Equação 3: Determinação de cinzas	30
Equação 4: Determinação de teor de gordura.....	30

ÍNDICE DE APÊNDICES

Apêndice A: Dados das análises microbiológicas do teste presuntivo e confirmativo de coliformes totais (CT).....	56
Apêndice B: Dados das análises microbiológicas do teste presuntivo e confirmativo de coliformes termotolerantes (CTT).	58
Apêndice C: Estufa digital e placas de Petri com amostras secas a 105°C	60
Apêndice D: Bureta de 25mL e amostras tituladas.....	60
Apêndice E: Carbonização da amostra e amostra incinerada.....	60
Apêndice F: Extractor Soxhlet.....	61
Apêndice G: Preparação das diluições do teste presuntivo	61
Apêndice H: Meios de confirmação de CT	61
Apêndice I: Tubos com meios para confirmação de CTT	61

LISTA DE ABREVIATURAS

ISPG	Instituto Superior Politécnico de Giza
MAE	Ministério da Administração Estatal
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
APAD	Associação Portuguesa da Distribuição e Drenagem de Água
APN	Associação Portuguesa de Nutricionistas
EUA	Estados Unidos da América
INE	Instituto Nacional de Estatística
IDF	Federação Internacional de Laticínios
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
RITIQLF	Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados
pH	Potencial de Hidrogénio
HTST	<i>High Temperature and Short Time</i>
UHT	<i>Ultra High Temperature</i>
PET	Politereftalato de Etileno
BSA	Albumina do Soro Bovino
CEC	Caldo <i>Escherichia Coli</i>
CT	Coliformes Totais
CTT	Coliformes Termotolerantes
CVBL	Caldo Verde Brilhante Bile Lactose



INSTITUTO SUPERIOR POLITÉCNICO DE GAZA

DECLARAÇÃO

Declaro por minha honra que este Trabalho de Culminação do Curso é resultado da minha investigação pessoal e das orientações dos meus tutores, o seu conteúdo é original e todas as fontes consultadas estão devidamente mencionadas no texto, nas notas e na bibliografia final. Declaro ainda que este trabalho não foi apresentado em nenhuma outra instituição para propósito semelhante ou obtenção de qualquer grau académico.

Lionde, aos 02 de Setembro de 2021

Abel Alberto Massingue Júnior
(Abel Alberto Massingue Júnior)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Abel e Catarina, por serem os protagonistas para que este trabalho se realizasse, pelos conselhos administrados na perspectiva de superar o medo confrontando-o trilhando ao caminho da persistência mesmo em momentos difíceis. Sem vocês nada que constitui-me faria sentido!

Aos meus irmãos, pela atenção, incansável apoio e compreensão dedicada acima de tudo e em todos momentos; vocês são reflexos dos meus passos.

À Orpa Da Alcina, pelo carinho, atenção, paciência e amor incondicional, por compreender-me mesmo diante de momentos de profunda ânsia, depositando em mim sua confiança até mesmo em momentos de tanta incerteza ao tentar percorrer novos caminhos.

Aos meus sobrinhos (as) Yússifa Da Kátia, Eliel, Armando, Josefa, Clébio, Fénias, Edmen, Orilton, Derick, Marcelino, Benício, Misael, Felizardo, Carlota, Madalena Da Micaela, Wilma, Amélia, Carmone e Abel, que a seriedade e o árduo empenho destinado na elaboração deste trabalho sirva sempre de estímulo para fazerem mais e melhor.

“Sempre que você estiver prestes a desistir, pense em todas as pessoas que adorariam ter o privilégio de ver você fracassando”.

(By Cifras).

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a Deus pela vida, saúde e a força que me foi constantemente concedida para superar as dificuldades proporcionando luz nos caminhos pelos quais trilhei, ao longo destes anos de profunda angústia.

Acredito que difícil teria sido para mim alcançar a conclusão deste trabalho sem o consentimento e conselho experiente de quem comigo trabalhou.

Ao meu supervisor Prof. Dr. António Elísio José, PhD. Pela amizade e confiança, supervisão e disponibilidade no acompanhamento das análises laboratoriais e da incansável e rigorosa atenção dedicada na revisão deste trabalho ao longo da elaboração. Agradeço imensamente!

Agradeço por conseguinte aos docentes da Faculdade de Agricultura em especial ao Departamento de Engenharia de Processamento de Alimentos. Ao Eng^o. António Elísio José, Eng^a. Angélica Agostinho Machalela, Eng^o. Heitor Guedes, Eng^o. Enoque Moiane, dr. Eleutério José Gomes e a Eng^a. Loide Masseque, pelos ensinamentos, conselhos disponibilizados ao longo da carreira estudantil, a quem a ansiedade e o medo de ir além batia mais forte. Agradeço sinceramente!

Agradeço sinceramente ao Hédio Xerinda, Elton Munguambe, a Duidade Abel, Lucrência Custódio, Samuel Fulane, Felícia Natalino, Reinaldo Fortunato, Rafael Nanelo, Amade Vatiro, Mussa Ussene, Amosse Mundai, Fernando Felisberto, Fernando Chissano, Délio Xavier, António Armando, António Mazivila, Osvaldo Mandlate, Marta Cumba, Cristiana Tembe, Milton Roberto, Tiago Macuacua, Amone Macuacua, Sheila Didoca, Galízio Ramos, Cheia Raisse, Hilton Matsinhe, Beito Bulo e Emildo Aristides, pelo companheirismo e afeto mesmo diante de dificuldades e/ou em momentos de bom êxito, pelas vossas suntuosas colaborações durante a pesquisa.

Aos colegas do curso de Licenciatura em Engenharia de Processamento de Alimentos, em especial ao grupo 2016, pelo companheirismo e atenção concedida durante este percurso. Pelos momentos de tristeza e alegria compartilhados, pelos conhecimentos colhidos do vosso lado, tendo definido quem sou hoje. É uma bênção ter conhecido a cada um de vós.

Aos meus pais, Abel e Catarina, por estarem sempre presentes disponibilizando-me conselhos a enfrentar o medo e seguir em diante ao caminho da persistência. Nenhuma palavra descrever-vos-á! Devo-vos demasiadamente.

Aos meus irmãos, pela disponibilidade, ajuda na colecta das amostras, elaboração dos mapas, pelo estímulo e motivação para sempre prosseguir em frente mesmo diante de dificuldades; pela paciência mesmo diante de extrema ternura e pelo incansável apoio moral e financeiro. Agradeço pelos conselhos e pelas magníficas sugestões que me foram cruciais na elaboração do presente trabalho. É muito envolvimento para quem é somente irmão. Agradeço incansavelmente!

À Orpa Da Alcina, pelo amor incondicional, carinho, atenção e paciência, por sempre estar do meu lado mesmo em momentos de profunda angústia, dando-me forças e com quem sempre pude cooperar e destinado confiança. Agradeço imensamente!

Aos criadores locais de gado bovino e fornecedores de leite, do distrito de Xai-Xai, e aos produtores artesanais de iogurte nas comunidades da cidade de Xai-Xai, pelo consentimento a acesso de informações que cruciais foram para mim na elaboração deste trabalho. Agradeço incansavelmente.

Por fim expreso com amor e carinho, o meu muito obrigado a todos que de forma directa ou indirecta disponibilizaram sua ajuda, quer moral, ou seja, material que preponderante foi a mim para o alcance deste grau.

RESUMO

O iogurte é um produto derivado do leite fermentado por acção de bactérias lácticas (*Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*) que utilizam parte da lactose, transformando em ácido láctico e compostos aromáticos que caracterizam o iogurte. A presente pesquisa teve como perspectiva a avaliação do iogurte produzido tradicionalmente pelas comunidades de Xai-Xai no âmbito de garantia de alimentos seguros, buscando conhecer (i) a constituição físico-química pela determinação de pH com emprego do procedimento electrométrico, da acidez titulável através do método titulométrico, do teor de humidade por dessecação em estufa à 105°C, das cinzas através da incineração em mufla a 550°C e do teor de gordura através do método de extração Soxhlet e (ii) avaliação da qualidade microbiológica através do método do número mais provável, tudo como forma de contribuição no conhecimento dos produtos e permitir que fabricantes melhorem sua produção preservando a saúde dos consumidores. Os dados foram avaliados usando o pacote estatístico Minitab versão 16 em esquema DCC com dezesseis (16) amostras de iogurte, onde quinze (15) amostras compunham o iogurte produzido artesanalmente pelas comunidades de Xai-Xai, e uma (1) amostra do iogurte de produção industrial de marca “Cactinoza” e 3 repetições e em triplicata, a nível de significância de 5%. Os resultados obtidos mostraram o pH variando de 3,84±0,01 a 4,49±0,00, acidez titulável 0,21±0,03% a 0,39±0,05%, teor de humidade em torno de 80,95±0,26% a 91,84±1,78%, teor de cinzas na faixa de 0,22±0,26% a 1,88±0,25% e teor de gordura no valor de 0,34±0,31% a 5,27±1,46%; Sendo que a contagem microbiológica apresentou-se nas faixas de <3,0 a 9,2 NMP/mL para os coliformes totais (CT) e termotolerantes (CTT). Em face aos parâmetros físico-químicos constatou-se que, as amostras artesanais possuem características semelhantes com a amostra industrial de marca “Cactinoza” quanto ao pH, teores de humidade, cinzas e gordura. Diferenças foram observadas quanto aos níveis de acidez titulável. Em relação a qualidade microbiológica presumiu-se que, todas amostras analisadas estiveram isentas de crescimento microbiano (-) quanto ao NMP/mL de CTT, diferindo dos CT onde somente uma amostra foi positiva (+). Deste modo, todas as amostras analisadas estão em conformidade com a legislação estabelecida pela ANVISA (agência nacional de vigilância sanitária) e RITIQLF (regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados).

Palavras-chave: Leite fermentado, análises físico-químicas, qualidade microbiológica.

ABSTRACT

Yogurt is a product derived from milk fermented by the action of lactic bacteria (*Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*) that use part of the lactose, transforming into lactic acid and aromatic compounds that characterize yogurt. The present research had as perspective the evaluation of yogurt traditionally produced by the communities of Xai-Xai in the scope of safe food guarantee, seeking to know (i) the physical-chemical constitution by determining pH with the use of the electrometric procedure, from titralottacidity through the titulometric method, from the moisture content by desiccation in the greenhouse to 105°C, of the ashes through the incineration in muffle at 550°C and the fat content through the Soxhlet extraction method and (ii) valuation of microbiological quality through the most likely number method, all as a way of contributing to product knowledge and allowing manufacturers to improve their production while preserving consumer health. The data were evaluated using the statistical package Minitab version 16 in DCC with sixteen (16) samples, which fifteen (15) samples was arrange the yogurt of artisanal production by Xai-Xai community's and one (1) sample of yogurt of industrial production of brand "Cactinoza" and 3 replicates and in triplicate, at the significance level of 5%. The results obtained showed the pH ranging from $3,84\pm 0,01$ to $4,49\pm 0,00$, titratable acidity $0,21\pm 0,03\%$ to $0,39\pm 0,05\%$, moisture content from $80,95\pm 0,26\%$ to $91,84\pm 1,78\%$, ash content in the range of $0,22\pm 0,26\%$ to $1,88\pm 0,25\%$ and fat content from $0,34\pm 0,31\%$ to $5,27\pm 1,46\%$; and the microbiological count was in the ranges of <3.0 to 9.2 MpN/mL for total (CT) and thermotolerant (CTT) coliforms. In view of the analyses carried out, it was found that the samples of artisanal production presented similar to the sample of industrial production of brand "Cactinoza" in terms of pH, moisture content, ash and fat content. Characteristics differed in terms of titratable acidity for both technics of yogurt production artisanal and industrial. Regarding microbiological quality, of CTT didn't express increase microbial (-), differently from CT, which presented one sample positive (+). Thus, all samples analyzed were in accordance with the legislation established by ANVISA (national agency of vigilance sanitary) and RITIQLF (regulation technic of quality of fermented milk).

Keywords: Fermented milk, physicochemical analysis, microbiological quality.

1. INTRODUÇÃO

A qualidade dos produtos alimentícios e a sua influência na nutrição, saúde humana vêm sendo lugar de destaque nos meios científicos. Essa preocupação deve-se ao grande número de alimentos existentes e a tendência actual por produtos saudáveis e nutritivos. Dentre estes, destaca-se o iogurte que além da sua matéria-prima ser uma rica fonte de proteínas, cálcio, fósforo e vitaminas, possui características benéficas provenientes da fermentação da lactose do leite em ácido láctico pelas bactérias ácido-lácticas como: *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus* (Coelho *et al.*, 2009).

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados define-se o iogurte como o produto adicionado e, ou não acrescido de outras substâncias alimentícias, “obtido por coagulação e diminuição do pH do leite, por fermentação láctica mediante acção de cultivo de microrganismos específicos”. O processamento de leite fermentado principalmente o iogurte compreende de quatro fases gerais como o tratamento prévio do leite sendo (padronização, filtração, homogeneização, tratamento térmico e cultivo iniciador), incubação, resfriamento e acondicionamento (Mota e Silva, 2012).

O iogurte é um produto derivado do leite fermentado por acção de bactérias lácticas *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*. Essas bactérias utilizam parte da lactose, que é o açúcar encontrado no leite, transformando-a em ácido láctico e compostos aromáticos que caracterizam o iogurte (Carneiro, 2012).

Na fermentação do iogurte, os microrganismos *thermophilus* se desenvolvem inicialmente com grande intensidade para gerar ambiente favorável para os microrganismos *bulgaricus*, os quais intensificam seu desenvolvimento gradativamente. Assim, as duas culturas são simbióticas. A cultura "starter" do iogurte, pertence ao grupo conhecido genericamente como bactérias ácido lácticas, pois essas bactérias iniciam o processo de coalho do leite para posterior obtenção do iogurte, deve conter uma percentagem igual das duas bactérias e também das bactérias probióticas usadas *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum* (Souza, 2015).

Segundo Fernandes (2011), os leites fermentados são importantes para o tratamento e prevenção de diversos distúrbios orgânicos, como desordens do estômago, fígado e intestinos.

O presente trabalho foi realizado na perspectiva de avaliar os constituintes físico-químicos e a qualidade higiénico-sanitária do iogurte produzido tradicionalmente pelas comunidades de Xai-Xai na perspectiva de garantia de alimentos seguros.

1.1. Objectivos

1.1.1. Geral

- ✓ Avaliar a composição físico-química e microbiológica do iogurte tradicionalmente produzido nas comunidades do distrito de Xai-Xai.

1.1.2. Específicos

- ✓ Quantificar os constituintes físico-químicos do iogurte tradicional e industrial;
- ✓ Determinar as qualidades higiénico-sanitárias do iogurte.

1.2. Problema e Justificativa

Actualmente a procura e o consumo do iogurte tem se intensificado a cada ano e o desenvolvimento do mercado é proporcionado pelas características do produto, combinadas a propriedades nutricionais. O iogurte apresenta fácil digestão e é benéfico à flora intestinal, assim como a dissolução do cálcio presente no iogurte, facilitando sua assimilação pelo organismo, além disso, a acidez do iogurte confere uma protecção natural contra infecções, causando a inibição de diferentes tipos de bactérias patogénicas no produto (Célia, 2015).

A ingestão regular de produtos lácteos é fulcral para todas as faixas etárias, porém, fazem parte do grupo de alimentos que fornecem nutrientes indispensáveis para a formação e manutenção da estrutura óssea, entre outras funções no organismo (Muniz, 2009). O iogurte possui um contributo nutricional à dieta devido a sua rica fonte de proteínas, cálcio, fósforo, vitaminas e carboidratos e ser fonte de galactose (Célia, 2015).

O iogurte ajuda na produção de anticorpos, hormônios e enzimas, importantes para o metabolismo, contribuindo para reforçar o sistema imunológico e retardar o envelhecimento, assim como é uma das opções na prevenção, e tratamento da desnutrição em crianças nos países em via de desenvolvimento e o seu efeito estimulador de crescimento, por apresentar um equilíbrio completo proporcionando uma elevada quantidade e diversidade de nutrientes em relação ao conteúdo calórico (Robert, 2008).

Segundo Moraes *et al.* (2002), há evidências que presumem que a presença de contaminação por microrganismos (bactérias e fungos), ocasiona alterações nas características de qualidade organolépticas como sabor, aroma e cor de iogurte nas prateleiras refrigeradas de comercialização provocando a perda do produto.

O estudo da qualidade de um produto demonstra o quão a qualidade do produto final depende da qualidade da matéria-prima, deste modo do leite, que pode ser meio de locomoção de bactérias viáveis e produtoras de toxinas causadoras de intoxicação alimentar caso não sejam aplicadas boas práticas de produção ao longo do seu processamento (Bande, 2016).

Nas comunidades de Xai-Xai o iogurte artesanal é produzido a partir do leite proveniente da Farma Nguluzane ou de criadores locais e disponibilizado e, ou comercializado em garrafas de politereftalato de etileno (PET). Diante disto, com a presente pesquisa pretende-se saber qual é a qualidade físico-química e microbiológica daquele iogurte produzido nas comunidades de Xai-Xai, visto que a matéria-prima utilizada para a produção não é proveniente da mesma entidade fornecedora, e cada entidade produtora de iogurte caracteriza-se por possuir sua técnica de produção, bem como de procedimentos que possam garantir a qualidade do produto final, quer em parâmetros físico-químicos e higiênico-sanitárias, de modo a disponibilizar produtos saudáveis, preservando a saúde dos consumidores.

Como forma de contribuição na minimização dessas inquietações, urge saber qual é a composição físico-química e a qualidade higiênico-sanitária do iogurte produzido artesanalmente.

1.3. Hipóteses

Estão descritas a baixo as hipóteses como base para o desenvolvimento do trabalho:

H₁: Os constituintes físico-químicos do iogurte de produção artesanal nas comunidades do distrito de Xai-Xai não se diferem do iogurte de produção industrial;

H₂: O iogurte de produção artesanal apresenta boas condições higiênico-sanitária quanto à coliformes totais e coliformes termotolerantes (*Escherichia coli*).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Historial de produção de iogurte

O iogurte é o mais antigo produto lácteo fermentado estando presente na alimentação humana desde os tempos mais remotos, quando a fermentação era utilizada somente na conservação do leite, a história data os anos entre 5.000 a 3.500, quando certos pastores passaram a se alimentar com o leite de animais domesticados, sendo conservado em marmitas de barro, ficando exposto à altas temperaturas do deserto fermentava e virava um tipo de iogurte. Foi conhecido na Europa em meados do séc. XVI, por volta de 1542, proveniente do Império Romano, aonde terá chegado a partir da Ásia. Assim como, na Turquia, onde o leite fresco era conservado em sacos feitos de pele de cabra, ao entrar em contacto com o calor do corpo do animal favorecia a produção de bactérias ácidas e transformavam o leite em iogurte (Robert, 2008).

O iogurte, como é conhecido hoje, apareceu na Europa nos meados do século XVI, proveniente do Império Romano. Nessa época, acreditava-se que a força e coragem de *Gengis Khan* vinham de sua alimentação à base de carne crua e iogurte. Vale a menção que o imperador Francisco I, da França (1494-1547) chamava-o pelo sugestivo apelido de leite da vida eterna (Carneiro *et al.*, 2012).

De acordo com a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), “iogurte é um leite coagulado obtido por fermentação láctica, através da adição de *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* ao leite, pasteurizado ou concentrado, contendo assim como não aditivos. Os microrganismos no produto final precisam ser viáveis e abundantes”.

2.2. Benefícios e importância do iogurte

O iogurte é um alimento rico em cálcio, primordial para o fortalecimento dos dentes e ossos. Porém, as crianças que consomem iogurte com regularidade apresentam melhorias no crescimento (Medeiros *et al.*, 2006).

O consumo de iogurte apresenta benefícios devido a sua acção antagónica contra agentes patogénicos entéricos, distúrbios nomeadamente tais como diarreia, colite mucosa, colite ulcerosa e colite antibiótica, devendo-se possivelmente através da acção controlada pela acidez do iogurte, inibição da adesão de microrganismos, e inibição da activação de microrganismos patogénicos (Pilatti *et al.*, 2004).

Segundo Bande (2016), o iogurte tem sido apropriado para a recomendação de consumo, sob forma de alimento no tratamento de inapetência. Porém apresenta maior índice terapêutico, actuando na prevenção e tratamento de diarreias, gastroenterites, diminuição do colesterol sérico bem como sob efeitos de intolerância a lactose.

Estudos atribuem propriedades mágicas ao iogurte, sendo capaz de desencadear uma longevidade duradoura, alegando que o consumo regular de grandes quantidades de iogurte contendo espécies de *Lactobacillus acidophilus* proporciona uma capacidade de controle de infecções por meio de agentes patogênicos entéricos, associados ao controle da toxemia crônica natural, a qual tem um papel fundamental no envelhecimento (Pilatti *et al.*, 2004).

Os produtos lácteos destacam-se pelo seu conteúdo em cálcio, contudo são também uma boa fonte de potássio, fósforo, magnésio e zinco. O iogurte, além de apresentar uma boa fonte de cálcio, facilita a absorção deste micronutriente pelo organismo, por apresentar um pH inferior em relação ao do leite. Em suma, o cálcio intervém na mineralização proporcionando um bom funcionamento do organismo, por meio da formação óssea, sendo de extrema importância durante a fase de gestação, lactação, infância e na menopausa (APN, 2013).

O iogurte é considerado um alimento saboroso e saudável com alto teor de proteínas e fonte apropriada de minerais como cálcio, fósforo, zinco e magnésio. Entre os minerais destaca-se o cálcio, uma vez que os produtos lácteos, principalmente o iogurte, são melhores fontes que outros alimentos (Souza, 2008).

2.3. Composição físico-química do iogurte

A qualidade físico-química do iogurte difere-se à do leite, embora haja algumas relações decorrentes durante o processo de fermentação bacteriana sobre a lactose. Os componentes normalmente presentes no iogurte são os seguintes: lipídios a 1,5%, lactose: 3-4,5%, estabilizantes: 0,3-0,5% e sólidos totais: 12-16%. O iogurte possui 10 vezes mais ácido fólico que o leite utilizado na elaboração. As principais vitaminas, em mg ou em 100g, presentes no iogurte de leite são: vitamina A, 170; vitamina B1, 42; vitamina B2, 200; vitamina B6, 46; vitamina B12, 0,23; vitamina C, 0,7; ácido fólico, 4,1; ácido nicotínico, 125; ácido pantotênico, 381; biotina, 2,6; e colina, 0,6 (Fernandes, 2011).

Quanto ao teor de gordura pode se classificar em creme no mínimo de 6% de gordura, integral mínimo a 3% de gordura, parcialmente desnatado máximo de 2,9% de gordura e desnatado

máximo de 0,5% de gordura. Porém, o iogurte pode ser gordo quando o teor de matéria gordurosa na parte láctea é no mínimo de 3,5%, meio gordo quando o teor mínimo de matéria gordurosa se situa entre os seus 1,5% e os 1,8% e magro quando o teor máximo de gordura na parte láctea é de 0,3% (Souza, 2015).

Segundo a Nova Legislação de Produtos Lácteos (2007), os leites fermentados podem ser classificados de acordo com o conteúdo de matéria gorda em: com creme (mínimo de 6% de matéria gorda), integral (mínimo de 3 % de matéria gorda), parcialmente desnatado (máximo de 2,9% de matéria gorda) e desnatado (máximo de 0,5% de matéria gorda).

Para Carneiro *et al.* (2012), quanto a composição química, o iogurte é classificado em três tipos com base no seu conteúdo de gordura, integral no mínimo de 3% de gordura; parcialmente desnatado de 0,6 a 2,9% e desnatado à menos de 0,5% de gordura.

Por sua vez Fernandes (2011), afirma que o iogurte não deve apresentar menos que 3,0% de gordura, enquanto o semi-desnatado contém inferior a 2,9%, e o desnatado menos de 0,5% da gordura do leite. Desta feita, todos os tipos de iogurte citados devem possuir não menos que 15%-16% de sólidos não gordurosos e acidez titulável entre 0,5 a 2,5% de em ácido láctico.

Afirma-se que a acidez nos intervalos entre 0,7 e 1,25% é comum, sendo ideal a faixa de acidez entre 0,7 e 0,9%. Porém, o desejável para iogurte é apresentar uma acidez em torno de 0,72-1,17% de ácido láctico (Fernandes, 2011).

Segundo Brasil (2007), os valores de acidez encontrados para os dois tratamentos, estão de acordo com a legislação de leites fermentados que prevê percentual de ácido láctico entre 0,60 e 2,0%.

As proteínas do iogurte, assim como as do leite, são de elevado valor biológico, contudo, possuem todos os aminoácidos essenciais e em proporções adequadas. Geralmente, o conteúdo das proteínas do iogurte é maior em relação ao do leite, ocasionado pela adição de leite desidratado durante o processamento, assim sendo, a proteína do iogurte é facilmente sintetizada e digerida do que a do leite, devido à acção proteolítica das culturas lácteas e do tratamento térmico, que promove a coagulação das proteínas do leite (APN, 2013).

Por outro lado, principais proteínas presentes no leite e seus derivados são a caseína, presente com o percentual de 2 a 3,5%, lactoalbumina apresentando 0,4 a 0,7% e lactoglobulina com um percentual de 0,2 a 0,3% (Júnior, 2002).

Quanto ao valor energético do iogurte varia, imprescindivelmente, de acordo com a quantidade de gordura que este contém. Porém, os iogurtes gordos e os gregos são aqueles considerados com um alto valor energético em oposição aos magros e meio gordos que fornecem uma baixa quantidade de energia, o valor energético varia ainda consoante a adição de outros ingredientes (APN, 2013).

A quantidade de carboidratos em iogurtes está relacionada ao facto da adição de açúcar no processo de elaboração. Assim o produto elaborado pode ser um forte aliado na ingestão de minerais e fazer parte da oferta de uma dieta mais saudável para os consumidores (Morais *et al.*, 2016).

Por sua vez a Instrução Normativa nº 46 de 24 de Outubro do Mapa (Brasil, 2007), não há recomendações mínimas de humidade para produtos lácteos fermentados, como o iogurte podendo apresentar-se com valores em torno de 70% do teor de humidade dependendo da sua constituição. Na avaliação efectuada por Pacheco *et al.* (2015), presumem que teores de humidade em tratamentos de iogurte situam-se nas faixas entre 84,6 e 79,75 g/100 g. Os mesmos autores relatam que os iogurtes não representam fontes de fibras, de modo geral os leites fermentados variam entre 0,2 e 0,30 g/100 g, relativos possivelmente à contribuição de aditivos na formulação.

Estão apresentados na tabela 1 os valores inerentes à composição centesimal por grama e kcal de iogurte.

Tabela 1: Composição centesimal de iogurte em 100g e kcal.

Valor Energético ²	Proteína ¹	Cinzas ¹	Fibras ¹	Acidez ¹	Gordura ¹	Carboidratos ¹	Humidade ¹
75kcal	2,7	0,6	0,2	1,5	1,74	5,1	84,6

¹ valores expressos em g/100 g; ² valores expressos em Kcal/100 g.

Fonte: Pacheco *et al.*, (2015).

2.4. Classificação do iogurte

Segundo Robert (2008); Mota e Silva (2012), o iogurte pode ser classificado em três fases, a saber:

- ✓ **Iogurte tradicional:** este tipo caracteriza-se por apresentar um processo de fermentação que ocorre dentro da própria embalagem, não sofre homogeneização e o resultado é um produto firme, razoavelmente consistente;
- ✓ **Iogurte batido:** o processo caracteriza-se por uma fermentação em fermentadoras ou incubadoras com posterior rompimento do coágulo;
- ✓ **Iogurte líquido:** na produção deste tipo de iogurte, o processo de fermentação é realizado em tanques, e é comercializado em embalagens plásticas tipo garrafa ou do tipo cartonadas.

Para Fernandes (2011), o iogurte classifica-se de acordo com o processo de produção, adição de ingredientes, quanto a composição, consistência, textura e aroma em:

- ✓ **Iogurte tradicional:** o processo de fermentação ocorre dentro da própria embalagem; não sofre homogeneização e seu resultado é um produto firme, mais ou menos consistente;
- ✓ **Iogurte batido:** o processo de fermentação ocorre em fermentadeiras ou incubadoras com posterior quebra do coágulo;
- ✓ **Iogurte líquido:** o processo de fermentação é realizado em tanques e é comercializado em embalagens plásticas.
- ✓ **Bebidas lácteas:** além de iogurte, contém soro de queijo e por isso não podem ser denominadas iogurtes, pois o teor de sólidos não gordurosos do leite não atende à especificação mínima;
- ✓ **Iogurte natural:** é o iogurte com típico sabor ácido;
- ✓ **Iogurte com frutas:** é produzido pela adição de frutas;
- ✓ **Iogurte aromatizado:** preparado por adição de açúcar e, ou edulcorantes, saborizantes e corantes sintéticos ao iogurte natural.

2.5. Etapas de produção do iogurte

A produção de iogurte compreende várias etapas desde a recepção da matéria-prima, mistura e homogeneização, pasteurização, resfriamento, fermentação, embalagem e acondicionamento, devidamente descritas abaixo.

2.5.1. Recepção da matéria-prima

A recepção é uma etapa que consiste em favorecer a qualidade físico-química e microbiológica do leite fresco, pois, pode conter contaminantes tais como substâncias tóxicas, microrganismos patogênicos e parasitas constituindo um risco para a saúde de consumidor (Silva *et al.*, 2012).

Essa etapa é uma das mais importantes que assegura que o iogurte seja de qualidade e seguro ao consumidor e consiste na avaliação da qualidade físico-químico e microbiológica da matéria-prima, pois pode conter contaminantes tais como substâncias tóxicas, microrganismos patogênicos e parasitas constituindo um risco para a saúde de consumidor (Bande, 2016).

A principal matéria-prima para a elaboração do iogurte é o leite, o qual deve ser higienicamente manipulado, de composição físico-química normal e isento de substâncias químicas. Após as

análises dos requisitos básicos para o processamento, o leite é submetido ao processo de padronização, com o intuito de manter os constituintes físico-químicos e características sensoriais inalterados no produto final (Toledo, 2013).

O leite utilizado para a fabricação de iogurte deve apresentar boa qualidade, “ser higienicamente produzido e manipulado, de composição físico-química normal, isento de antibióticos e não deve ser utilizado congelado, a fim de evitar defeitos na textura do produto” (Robert, 2008).

De acordo com Célia (2015), o leite utilizado para produção de iogurte deve ser higienicamente manipulado de forma a apresentar composição físico-química normal e ser isento de antibióticos para evitar defeitos na textura do iogurte.

Para que o iogurte tenha uma boa consistência, o leite deve apresentar um extracto seco desengordurado de 15%. Geralmente na elaboração de um produto mais consistente, deve-se aumentar a matéria seca do leite pela adição de 2 a 4% de leite em pó, no caso de utilizar açúcar, este deve ser adicionado ao leite antes do aquecimento, normalmente de 8 a 12% o conteúdo de extracto seco no final do processo varia geralmente entre 33 e 48% (Kawano, 2013).

Chegado na unidade fabril a matéria-prima é recebida proveniente da farma beneficiadora do leite. Porém, antes de iniciar a descarga dos tanques, são executadas análises laboratoriais para a monitorização e controlar a qualidade do leite que está sendo fornecido para a unidade fabril, caso a amostra do leite esteja fora das especificações de qualidade todo o volume é rejeitado (Kawano, 2013).

2.5.2. Mistura e homogeneização

Essa etapa é comumente realizada pelo ajuste do teor de gordura e pela adição de sólidos totais, para atingir o teor ideal de sólidos totais e garantir um produto mais consistente, deve-se aumentar a matéria seca do leite com adição de 2 a 4% de leite em pó. No caso de adição de açúcar, este deve ser adicionado apenas após a fermentação do leite, em teores de 6 a 12% (Mundim, 2008).

A homogeneização é empregada com o intuito de reduzir os glóbulos de gordura e favorecer a estabilidade do leite. Além disso, este processo auxilia na prevenção de formação da nata durante a fermentação, aumenta a firmeza do coágulo. A homogeneização provoca desnaturação das proteínas do soro e favorece maior interação entre caseínas e lipídios (Toledo, 2013).

A homogeneização do leite para o preparo do iogurte quebra os glóbulos de gordura em partículas menores, o que facilita sua digestão, assim as lípases bacterianas hidrolisam as gorduras, resultando em ácidos graxos livres, o que facilita a sua absorção (Fernandes, 2011).

Esta etapa consiste geralmente em adicionar leite em pó desnatado ao leite que está sendo utilizado com a finalidade de aumentar o teor de sólidos no leite e com isso aumentar a capacidade de retenção de água das proteínas do leite e aumentar a consistência do produto final (Kawano, 2013).

É nesta fase, ainda, que se acrescentam os aditivos: adoçantes e estabilizadores que pretendem aumentar o teor em açúcares e aumentar a viscosidade, respectivamente. Os motivos principais para que se efectue a homogeneização são prevenir que se formem aglomerados sólidos durante a incubação e para assegurar que a gordura do leite esteja distribuída uniformemente. A homogeneização leva à redução do tamanho dos glóbulos de gordura tornando a consistência mais lisa, garantindo que não ocorra excesso de água em relação aos outros componentes, a mistura é aquecida com a finalidade de evaporar a água e, durante o processo, o leite baixa a sua temperatura de 90°C para 70°C (Almeida *et al.*, 2010).

Comummente, estes processos decorrem em tanques herméticos apropriados que não permitem entrada de ar nem qualquer agentes indesejáveis. Durante a homogeneização, regista-se descida da temperatura do leite de 90°C para 42 a 40°C, consideradas ideais para etapa subsequente de cultivo e incubação de cultura bacteriana ou processo de fermentação (Bande, 2016).

Na sequência de fabricação do iogurte é realizada homogeneização no leite para reduzir os glóbulos de gordura, favorecer a estabilidade do leite, prevenir a formação de nata e evitar a sinérese. Essa etapa provoca a desnaturação das proteínas do soro e favorece maior interacção entre caseína e lipídios (Zambonim, 2014).

2.5.3. Pasteurização

A pasteurização tem como objectivo a destruição parcial ou completados microrganismos patogénicos e outros que possam competir com as culturas do iogurte, além de promover a desnaturação das proteínas do soro, consequentemente actua na redução da contracção do coágulo da caseína do iogurte. Por outra, a pasteurização influi sobre o iogurte na obtenção de uma boa textura, neste processo para a fabricação de iogurte, os binómios tempo e temperatura recomendados são: 95°C por um minuto e meio, 90°C por três minutos, 85°C por oito minutos e meio ou 80°C por 30 minutos (Lobato, 2000).

A pasteurização consiste no tratamento térmico do leite à temperatura de 75°C durante 15 segundos, o tratamento térmico do leite tem como objectivo a destruição de bactérias patogénicas, a quase a totalidade das bactérias saprófitas e a inactivação das enzimas do leite (Mensen, 2015).

Há três tipos de tratamento térmico para o leite: pasteurização LHT (*low temperature holding* - baixa temperatura por longo tempo), em que o leite é aquecido a 63°C por 30 minutos; pasteurização HTST (*high temperature and short time* - alta temperatura por pouco tempo), em que o leite é aquecido entre 72°C e 75°C por 15 a 20 segundos e a pasteurização UHT (*ultra high temperature* - ultra alta temperatura), em que o leite é aquecido entre 135°C e 140°C por 2 a 4 segundos, com praticidade de seis meses (Célia, 2015).

O tipo de pasteurização utilizado é HTST (*High Temperature and Short Time*) que se dá a uma temperatura aproximada de 90°C, durante cerca de 5 minutos. Não é usado o método UHT (*Ultra High Temperature*) uma vez que não tem a mesma influência na viscosidade, apesar de ser muito mais rápido. A partir do momento que ocorre a pasteurização o restante processo deve ocorrer em tanques herméticos de forma a evitar a contaminação (Almeida *et al.*, 2010).

Contudo, a pasteurização consiste em aquecer já pasteurizado a uma temperatura que pode variar de 85 a 90°C, por um tempo que varia entre 5 a 15 minutos. A finalidade deste tratamento é a destruição de 100% dos microrganismos patogénicos, destruição da grande parte da flora banal, reduzindo à competição durante a fermentação, como também garantir condições higiénico-sanitárias adequadas (Kawano, 2013).

No processo da pasteurização são eliminados microrganismos existentes, através do binómio tempo e temperatura, devido à elevada temperatura na qual efectua-se o processo. Esta relação contribui para uma melhor estabilidade do gel e para reduzir a sinérese do produto final, geralmente, as condições típicas deste processo são 85°C durante 30 minutos ou 91°C durante 40 segundos ocorrendo este processo reduz-se a quantidade de oxigénio (Chandan, 2006).

2.5.4. Resfriamento

A função do resfriamento é inibir o crescimento da cultura láctea, visando prevenir a elevada produção do ácido láctico e também a separação da água. O resfriamento do iogurte pode ser feito em câmaras frias ou túneis de resfriamento, ou no tanque onde foi efectuada a coagulação do iogurte (Kawano, 2013). Após aquecimento deve-se resfriar a temperatura de 42°C a 43°C. Isso pode ser feito pela substituição da água quente do banho-maria por água fria (Célia, 2015).

Esta etapa é responsável pelo resfriamento do leite até 42 - 43°C, e, ou fase que se adiciona o fermento láctico a 1-2% com completa homogeneização. A partir deste momento, inicia-se o processo de fermentação, no qual o leite deve permanecer em repouso por aproximadamente quatro horas, a temperatura de 41°C a 45°C (Mundim, 2008).

A temperatura de arrefecimento varia consoante as condições de fermentação. No entanto, quando a acidez desejada é atingida, a temperatura pode influenciar quaisquer variações de pH, pois esta etapa tem como objectivo inibir o desenvolvimento das bactérias e, conseqüentemente, interromper a produção de ácido. É recomendado que se faça em duas etapas, para evitar o choque térmico, que provoca um encolhimento da massa. A primeira etapa consiste em abaixar a temperatura a 15 a 22°C, no máximo de 30 minutos, o que pode ser feito com água à temperatura ambiente (Medeiros *et al.*, 2006).

Sendo que a primeira etapa consiste em abaixar a temperatura a 18 a 20°C, no máximo de 30 minutos, o que pode ser feito com água à temperatura ambiente. No caso do iogurte batido, pode fazer-se, nessa temperatura, a adição de ingredientes tais como: frutas, corantes, cereais, mel que devem ser homogeneizados na massa (Zambonim, 2014).

O resfriamento deve ser feito de forma lenta e em duas etapas, a primeira etapa consiste em Reduzir a temperatura a 18-20°C em no máximo 30 minutos e a segunda etapa o produto deve atingir 10°C em refrigeração, pois o resfriamento rápido afectara a estrutura do coágulo, provocando retracção das proteínas, capacidade de retenção de água e conseqüentemente a separação do soro (Ordones *et al.*, 2005).

2.5.5. Fermentação láctica

A fermentação láctica constitui uma das formas mais antigas de conservação de produtos oriundos da indústria agro-alimentar. Esse tipo de fermentação está relacionado em primeiro lugar com os produtos lácteos (iogurte, queijos, manteiga e creme), mas também com carnes, pães, cerveja, vinho. A fermentação láctica é feita por diversas bactérias lácticas que convertem os açúcares do meio em ácido láctico (Piard *et al.*, 2001).

A fermentação é o processo metabólico em que os carboidratos e compostos afins são oxidados com liberação de energia em ausência de qualquer influência externa. As bactérias ácido lácticas, como microrganismos fermentadores, precisam de sistemas funcionais de transporte de elétrons

ao grupo hemo ou a citocromos, e obtém sua energia por fosforilação oxidativa a nível de substrato (Pilatti *et al.*, 2004).

A fermentação láctica é realizada pelas bactérias do grupo láctico ou bactérias lácticas. Os géneros bacterianos que fazem parte deste grupo são: *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Carnobacterium* e *Vagococcus*. Nesta fermentação há produção de ácido láctico, podendo ser do tipo homoláctica, com maior quantidade desse componente em relação aos demais produtos formados, como o diacetil, etanol e CO₂, ou heteroláctica, quando as proporções desses produtos são, praticamente, as mesmas. As bactérias homofermentadoras, quando metabolizam pentoses podem mudar o padrão de fermentação produzindo além de ácido láctico, também ácido acético (Franco, 2007).

As bactérias lácticas podem utilizar duas vias fermentativas de açúcares para a produção de metabólitos. Sendo via glicolítica, que realiza a glicólise anaeróbica tendo como produto final o ácido láctico, com rendimento de 1,8 mol de ácido láctico, conhecida como fermentação homoláctica. A outra é a via metabólica do 6-fosfogluconato, que produz quantidades significativas de outros produtos, como o etanol, o acetato, e o CO₂, juntamente com o ácido láctico, deste modo, este metabolismo é denominado de fermentação heteroláctica (Neves, 2005).

Todos os membros dos géneros *Pediococcus*, *Streptococcus* e *Vagococcus* são homofermentadores, juntamente com algumas espécies de *Lactobacillus*. O género *Leuconostoc* e algumas espécies de *Lactobacillus* são heterofermentadores. As diferenças entre homofermentadores e heterofermentadores têm base genética e fisiológica. Os homolácticos apresentam enzimas aldolase e hexose-isomerase, mas não apresentam a fosfocetalose. Enquanto os heterolácticos apresentam a fosfocetalase, mas não a aldose e a hexose-isomerase (Fernandes, 2011).

A enzima lactase age sobre a lactose presente no leite, actuando na quebra das suas ligações e produzindo D-glicose e D-galactose, que classificam-se por ser açúcares mais solúveis e de rápida absorção. Durante o acto desta reacção uma molécula de água é usada na hidrólise da lactose, pois à influência da temperatura, do pH, do tempo de reacção e da concentração da enzima, pois esses factores determinam a velocidade da reacção e é de extrema importância que seja efectuado o controlo destas variáveis (Evangelista, 2005; Prozyn, 2004).

Para Prozzi *et al.* (2005), existe uma relação simbiótica entre esses dois microrganismos, na qual cada um deles estimula a multiplicação do outro. Assim, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* libera aminoácidos e peptídeos das proteínas do leite, o que possibilita a multiplicação de *Streptococcus thermophilus* nos primeiros estágios da fermentação. *Streptococcus thermophilus*, por sua vez, produz ácido fórmico, o qual estimula a multiplicação de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus*, diminuindo o tempo de fermentação e conferindo ao produto características peculiares.

No estudo feito por Silva *et al.* (2012), relata-se que durante o processo de fermentação, ocorre a produção de ácido láctico, como produto principal, e a produção de pequenas quantidades de outros subprodutos, sendo o acetaldeído produzido em maiores quantidades, seguido por acetona, 2-butanona, diacetil e acetoína.

A fermentação é uma etapa muito importante na produção de iogurtes, sendo etapa fundamental na texturização dos iogurtes. Para os iogurtes sólidos a interrupção da fermentação deve ser feita quando o pH atinge o ponto isoelétrico das proteínas, ocorrendo a formação do coágulo (Gomes, 2013).

No processo da fermentação, é produzido o ácido láctico, como produto principal, e pequenas quantidades de outros subprodutos, sendo o acetaldeído produzido em maiores quantidades, seguido por acetona, 2-butanona, diacetil e acetoína (Silva *et al.*, 2012).

Durante a fermentação ocorre a produção de ácido láctico como produto principal e a produção de pequenas quantidades de outros subprodutos responsáveis pelas características organolépticas do produto final. O acetaldeído é produzido em maiores quantidades seguido por acetona, 2-butanona, diacetil e acetoína. O ácido láctico resultante contribui para a desestabilização da micela de caseína, provocando sua coagulação no ponto isoelétrico (pH 4,6-4,7) e conduzindo à formação de um gel, que dará o corpo do iogurte (Toledo, 2013).

A fermentação é a fase fundamental de todo o processo pois é o ácido láctico produzido o agente de coagulação do leite. Esta etapa ocorre a uma temperatura de 42°C durante aproximadamente 3 horas (Almeida *et al.*, 2010).

Após a adição do fermento, o leite deve permanecer em completo repouso por aproximadamente 4 horas, a uma temperatura de 41 à 45°C (Medeiros *et al.*, 2006).

Na fermentação a lactose é transformada em ácido láctico que será o agente da coagulação do leite, os microrganismos intervenientes para a transformação da lactose em ácido láctico são: *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* crescem em simbiose, produzindo ácido láctico, compostos aromáticos e coágulo. Deste modo, no início da fermentação, a acidez do leite encontra-se a menos que 20°D para favorecer o crescimento do *Streptococcus thermophilus* libertando ácido fórmico que estimula o desenvolvimento do *Lactobacillus Bulgaricus* com mais intensidade ao atingir aproximadamente 46°D. A ocorrência da fermentação determina-se a uma temperatura de 42 a 43°C por aproximadamente 4 horas. O principal produto resultante da fermentação contribui para a desestabilização da micela da caseína, inferindo sua coagulação no ponto isoelétrico de (pH 4,6-4,7) e conduzindo à formação de um gel, o iogurte (Robert, 2008).

Durante a fermentação ocorre a formação da estrutura do iogurte, as estruturas de caseína micelares com fracções proteicas agregadas vão aumentando, devido ao decréscimo do pH, através da formação de ligações até à criação de uma matriz consistente tornando-se completa com a refrigeração do produto (Tamime *et al.*, 2007).

2.5.6. Embalagem e conservação

A embalagem deve ser impermeável aos sabores, corantes, odores do ambiente, oxigénio e contaminações externas, resistir a acidez do iogurte, humidade, golpes mecânicos a que o produto é sujeito durante o transporte e armazenamento e não permitir exposição à luz. Uma boa opção para produção em pequena escala é a embalagem de polietileno termo formada que apresenta também facilidade para o fechamento térmico. A temperatura de armazenamento deve ser de 2 a 5°C para conservar e melhorar a consistência do iogurte (Robert, 2008).

Para embalar os iogurtes existem diversos tipos de unidades processuais. Há que ter em atenção o tamanho, os sabores, a capacidade, entre outros de maneira identificar o empacotamento mais correcto, depois de embalado é necessário conservar a uma temperatura entre os 2°C e 10°C (Almeida *et al.*, 2010).

A temperatura de conservação deve ser de 2°C a 5°C para conservar e melhorar a consistência do iogurte (Lobato, 2000). A embalagem e armazenamento do produto final em temperaturas de 2 a 5°C favorece a conservação e melhora a consistência do iogurte (Mundim, 2008).

É de extrema importância ter em conta o monitoramento adequado da temperatura de conservação em iogurtes, pois, a oscilação da temperatura durante o período de conservação, pode propiciar o

desenvolvimento de psicotróficos, que crescem sob temperaturas de refrigeração, alterando as características do iogurte devido a hidrólise das proteínas do iogurte, por microrganismos que é acompanhada pela produção de sabor amargo, devido à formação de polipeptídios e está directamente relacionada ao pH, temperatura e tempo de armazenamento do produto, porém, proteólise muito intensa pode apresentar defeitos no produto como acidez excessiva, sabor amargo e diminuição da consistência do iogurte (Martin, 2002).

Estima-se que o iogurte produzido em boas condições de higiene e mantido sob refrigeração pode apresentar vida de prateleira de aproximadamente 30 dias (Toledo, 2013).

O estudo feito por Fernandes (2015), afirma que o iogurte deve ser conservado em frigorífico à temperatura máxima de 10°C, não sendo permitida a adição de substâncias conservadoras. A embalagem deve ser de material resistente à acção do iogurte e ser hermeticamente fechado e esterilizado industrialmente.

2.6. Qualidade físico-química

2.6.1. Acidez

A determinação de acidez pode proporcionar dados cruciais no estado de conservação de um determinado produto alimentício. “Os métodos de determinação da acidez podem ser os que avaliam a acidez titulável ou fornecem a concentração de íons de hidrogênio livres, por meio do pH”. A determinação da acidez em alimentos é de extrema importância tendo em vista que através dela, podem-se obter dados valiosos na apreciação do processamento e do estado de conservação dos alimentos (José, 2016).

Segundo Arcuri *et al.* (2006), na produção de iogurte, avaliações de acidez do produto final, são tão importantes quanto ao aroma e sabor, pois um elevado teor de acetaldeído influencia directamente nas características organolépticas do produto final. A acidez está relacionada com a consistência do iogurte que se altera no período de armazenamento, em maior ou menor grau, dependendo da acidez inicial e da temperatura de conservação do produto.

De acordo com o estudo efectuado por Fernandes (2011), relata que para o iogurte deve decorrer a sua validade comercial com acidez mínima de 0,7% de ácido láctico determinado pela Federação Internacional de Laticínios (IDF).

A acidez do iogurte confere uma protecção natural contra infecções, manifestando-se na inibição de diferentes bactérias patogénicas no iogurte, o ácido láctico dissolve o cálcio presente no iogurte favorecendo a sua assimilação. As proteínas que têm um alto valor biológico são parcialmente digeridas por uma acção das bactérias permitindo uma melhor digestão (Carneiro *et al.*, 2012).

De acordo com Mensen (2015), a acidez do leite fermentado é de extrema importância, visto que garante a verificação das condições em que terá sido mantido o iogurte assim como a qualidade da mesma. Na determinação da acidez, avalia-se os resultados do pH ou acidez titulável, porém qualquer aumento de acidez além dos valores normais é uma indicação da acção de microrganismos sobre a lactose.

A acidez no iogurte varia com a temperatura, sendo crucial ocorrer o desenvolvimento da cultura láctica durante o armazenamento a frio. Sendo que a Federação Internacional de laticínios estabelece um índice de acidez mínimo de 0,7% de ácido láctico em sua fase de comercialização (Martin, 2002).

A acidez nos alimentos afecta o sabor, odor, cor, estabilidade e o bem-estar da qualidade, portanto a determinação da acidez nos alimentos é indispensável, pois nos auxilia na concepção do estado de conservação de um produto alimentício (Kashiba, 2013).

2.6.2. Gordura

Gorduras são moléculas que podem actuar como combustível alternativo à glicose, pois são os compostos bioquímicos mais calóricos para geração de energia metabólica por meio da oxidação de ácidos graxos. É um conjunto de substâncias que não são caracterizadas por grupo funcional comum, mas sim, pela sua alta solubilidade em solventes orgânicos e baixa solubilidade em água. Estas se encontram comumente distribuídos em todos os tecidos, principalmente nas membranas celulares e nas células de gordura. Os lipídios podem ser classificados como saponificáveis, ou seja, a partir da reacção de hidrólise alcalina com condições de temperatura, formam sabões, que são sais de ácidos graxos, enquanto os insaponificáveis não possuem ácidos graxos na sua cadeia, ou seja, não formam sabões por hidrólise alcalina (Santos *et al.*, 2012).

Os lipídios, também chamados de gorduras são compostos orgânicos altamente energéticos, contêm ácidos graxos essenciais ao organismo e actuam como transportadores das vitaminas lipossolúveis. Os lipídios são substâncias insolúveis em água, solúveis em solventes orgânicos, tais como: éter, acetona, clorofórmio, benzeno e álcoois (Moreira *et al.*, 2012).

A gordura tem outras funções, é solvente para algumas vitaminas (A, D e E). Outras funções da gordura provêm de nutrientes linoleicos e ácidos linolênicos, muitas vezes de ácidos gordos essenciais. Estes são precursores de alguns hormónios e outros metabolitos essenciais, que fornecem o baixo ponto de fusão dos resíduos de ácidos graxos de cadeia longa. Sendo que a gordura provoca um aumento do nível de colesterol no sangue, devido ao seu alto teor de conteúdo de ácidos graxos saturados e baixo teor de poli-insaturados conseqüentemente, a ingestão de gordura do leite tem sido associada com o aumento da incidência de doenças cardíacas. Porém, algumas pesquisas defendem que a presença de certos ácidos linoleicos conjugados na gordura do leite protege contra o câncer (Machalela, 2016).

“Os lípidos estão em estado líquido, pertencem ao grupo químico dos ésteres e o composto presente em maior quantidade são os ácidos gordos, representando cerca de 90%. O glicerol é um componente muito importante, pois permite a ligação entre as moléculas de ácidos gordos. Cada molécula de glicerol tem a capacidade de se ligar a 3 ácidos gordos, permitindo a formação de triglicéridos, que é a gordura presente em maior quantidade, sendo este formado por uma molécula de glicerol e 3 ácidos gordos” (Portinhola, 2013).

A gordura, é um dos componentes da constituição de sólidos totais do leite, apresenta maior variabilidade e pode ser influenciado pelo tipo de alimentação da vaca, sobretudo o teor da fibra na dieta. E existe uma relação directamente proporcional entre o teor da fibra com o teor de gordura, desta forma quanto maior for o teor de fibra na dieta maior é o teor de gordura no leite, em resultado da variação de ácidos graxos voláteis (Bande, 2016).

2.6.3. Proteína

Proteínas são macromoléculas presentes em todos os sistemas vivos representando de 50 a 80% do peso seco das células. Desempenham inúmeras funções biológicas, participando na estruturação dos tecidos servindo como filamentos de suporte, fornecem protecção e resistência a estruturas biológicas, funções enzimáticas, actuam no transporte eficiente de muitas moléculas, tem participação na regulação da actividade celular ou fisiológica (José, 2016).

Estudar a proteína caseína presente no leite e seus derivados, é de extrema importância, pois se relaciona com o facto de ser uma proteína completa, sendo de alto valor biológico, por ela possuir todos os aminoácidos essenciais. Os aminoácidos essenciais para os seres humanos são: treonina, triptofano, histidina, lisina, leucina, isoleucina, metionina, valina e fenilalanina. Ausência ou

ingestão inadequada de alguns desses aminoácidos resulta em balanço nitrogenado negativo, ocasionalmente na perda de peso, crescimento menor em crianças (Basso *et al.*, 2014).

Segundo Menezes *et al.* (2011), os derivados lácteos são constituídos por dois grandes grupos de proteínas, sendo classificadas em proteínas do soro e a caseína.

As proteínas do soro compõem um grupo diversificado de proteínas com características estruturais bem diferentes, sendo que as principais são: lactoglobulina, lactalbumina, albumina do soro bovino (BSA), imunoglobulinas, lactoferrina e lisozima, mas também podem estar presentes alguns peptídeos derivados da caseína (Antunes, 2003).

Vários trabalhos de investigação destacam a existência de reacções de coloração específicas para certos grupos funcionais de aminoácidos e outras reacções gerais que caracterizam as proteínas como é o caso da reacção de biureto, onde é formada uma solução de coloração violeta quando o biureto reage com íons Cu^{2+} em meio alcalino sugerindo que as proteínas irão também formar complexo com íons de cobre a um pH básico quando um grupo amino e um grupo carbóximo se juntar para formar uma ligação peptídica (José, 2016).

A metodologia da reacção do biureto, utilizada para a caracterização de proteínas, pode ser empregue para a quantificação das mesmas mediante a colorimetria. O método baseia-se no facto de que a caseína forma um complexo violeta com o íon cúprico (Cu^{2+}) em meio alcalino, apresentando um pico de absorção a 540nm (Basso *et al.*, 2014).

2.7. Qualidade microbiológica do iogurte

A análise microbiológica é fundamental para qualificar e quantificar microrganismos, favorecendo o conhecimento acerca das condições higiénico-sanitárias em que um determinado alimento foi preparado, permite conhecer os riscos que pode favorecer a saúde do consumidor e se o alimento poderá ter uma praticidade pretendida assim como não (Cecília, 2002).

A qualidade higiénico-sanitária do iogurte necessita de um extremo controlo, porém, quando isso não efectua-se, o produto pode apresentar-se com características sensoriais indesejáveis e torna-se nocivo para o consumo. Deste modo, associa-se a contaminação por coliformes totais e termotolerantes, dando indícios de má conduta higiénico-sanitária (Silva, 2008).

Para certas bactérias a lactose não favorece energia para metabolizarem e por consequente a estimulação da sua fase exponencial. Tais bactérias muitas vezes começam a crescer após outras

bactérias hidrolisarem as proteínas, fornecendo-lhes assim a fonte de nutrientes. Sendo que em alguns casos ocorre a produção de dióxido de carbono por *Streptococcus thermophilus* que estimula o crescimento de *Lactobacillus bulgaricus* conseqüentemente certas bactérias gram-negativas são inibidas pelo dióxido de carbono (Machalela, 2016).

Porém, a qualidade higiênico-sanitária do iogurte é de extrema importância, pois, quando não se aplica pode apresentar características sensoriais indesejáveis e tornando-o perigoso ao consumo, esta contaminação é geralmente ocasionada pelos coliformes totais e coliformes termotolerantes, sendo indicadores de má condição higiênico-sanitária (Bande, 2016).

A presença de microrganismos em alimentos não significa necessariamente um risco para o consumidor ou uma qualidade inferior destes produtos. Exceptuando-se um número reduzido de produtos submetidos à esterilização comercial, os diferentes alimentos podem conter bolores, leveduras, bactérias e outros microrganismos. Muitos alimentos tornam-se potencialmente perigosos ao consumidor somente quando os princípios de higiene e sanitização não são seguidos rigorosamente. Se o alimento tem estado sujeito a condições que poderiam permitir a entrada e, ou crescimento de agentes infecciosos ou toxigênicos, pode se tornar um veículo de transmissão de doenças (Cecília, 2002).

A maior parte dos alimentos está sujeita a várias fontes potenciais de microrganismos, porém podem-se controlar os níveis de contaminação e manter a microbiota em um número aceitável pela legislação vigente, através de manuseio adequado, conhecimento e emprego de factores que influenciam o crescimento de microrganismos em alimentos e conseqüentemente ocorre perda das características organolépticas do alimento bem como ocasionar ao consumidor, infecções, intoxicações alimentares, dependendo do seu nível de contaminação microbiana (Sousa, 2005).

Procedimentos higiênicos e sanitários durante a fabricação e selecção de materiais, são essenciais no controle da contaminação microbiológica em alimentos (Maria *et al.*, 2005).

Para ser capaz de controlar a contaminação de produtos lácteos e para medidas adequadas de prevenção, uma estratégia apropriada, incluindo medida de higiene, análises de pontos críticos de produção e investigação de rotas e origem de contaminação, poderia ser desenvolvida para diminuir e eliminar microrganismos deteriorantes (Lopandic *et al.*, 2005).

A segurança é um atributo de qualidade mais desejável nos produtos alimentícios, os quais devem ser isentos de qualquer substância que possa ser prejudicial à saúde do consumidor. A segurança

do alimento corresponde na estimativa de ocorrências de perigos no produto e as medidas que são adotadas para minimizar a ocorrência destes perigos (Mariana, 2016).

2.7.1. Parâmetros microbiológicos

Estão apresentados na tabela 2, os critérios microbiológicos em grama de iogurte, para coliformes totais e coliformes termotolerantes.

Tabela 2: Critérios microbiológicos para iogurtes.

Microrganismos	Critérios para aceitação
Coliformes totais/g (30°C)	n= 5 c=2m=10 M=100
Coliformes termotolerantes/g (45°C)	n= 5 c=2m<3 M=10

n- número de tratamentos; c- quantidade de população que pode estar entre m- mínimo, M - máximo.

Fonte: Célia (2015).

Os critérios microbiológicos são normalmente utilizados para avaliar microbiologicamente o estado dos alimentos na cadeia de produção alimentar, quer sejam produtos crus, ingredientes ou produtos finais, comparando a frequência e, ou nível de microrganismos patogénicos com um limite específico para aquele alimento ou microrganismo patogénico. Contudo, os critérios microbiológicos ajudam a definir se o lote de alimentos é aceitável ou não aceitável (Souza, 2012).

A avaliação é realizada por três classes, que classificam qualidade do lote por avaliar em aceitável, marginal e inaceitável, em função dos limites “m” (limite que separa o lote aceitável do produto ou lote com qualidade intermediária aceitável em um plano de três classes) e “M” (limite que separa o lote com qualidade intermediária aceitável do lote inaceitável). O valor de “n” representa o número de unidades a serem colhidas aleatoriamente do mesmo lote e analisadas individualmente; e o valor de “C” representa o número máximo aceitável de unidades de amostras com contagens entre os limites de “m e M” (Brasil, 2001).

A legislação em relação a alimentos propôs critérios microbiológicos em vários países no âmbito da prevenção da venda de produtos fraudulentos e objectivando verificar desvios nos padrões para composição e peso. Somente em tempos mais recentes a legislação sofreu expansão e incluiu considerações de saúde pública, tais como aqueles referentes à transmissão de bactérias nocivas em alimentos padrões e regulamentos têm sido desenvolvidos para assegurar que o alimento

recebido pelo consumidor seja saudável, seguro e apresente a qualidade especificada pela lei (Cecília, 2002).

Desta forma, a legislação prevê que para coliformes a 30/35°C, se aceita somente o resultado de duas amostras ($c=2$) situado entre 2 ($m > 2$ NMP/mL) e 4 ($M < 4$ NMP/mL), quando avaliado lote de cinco amostras ($n=5$); e para o resultado de coliformes a 45°C, somente uma amostra ($c=1$) deve situar-se no intervalo entre 1 ($m > 1$ NMP/mL) e 2 ($M < 2$ NMP/mL) quando também avaliado o lote de cinco amostras ($n=5$) porém 300.000 UFC/mL ($M < 3 \times 10^5$ UFC/mL) para duas amostras ($c=2$) em um lote de cinco amostras ($n=5$) (Paiva, 2007).

De acordo com a Resolução RDC nº 12, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (ANVISA), de 2 de Janeiro de 2001 estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos destinados ao consumo humano. Em relação ao iogurte, os padrões microbiológicos da resolução estabelecem para análise de coliformes termotolerantes (NMP) padrão máximo de 10 NMP/mL e mínimo de $< 3,0$ NMP/mL, e limite mínimo de 10 NMP/mL e máximo de 10^2 NMP/mL na determinação de coliformes totais.

De acordo com Almeida *et al.* (2006), quanto aos critérios microbiológicos o iogurte deverá cumprir os seguintes requisitos: coliformes totais possuir contagem máxima de 100 NMP/mL e coliformes fecais no máximo de 10 NMP/mL.

Segundo o estudo feito por Oliveira (2017), para a determinação do número mais provável (NMP) de coliformes termotolerantes, afirma que o padrão estabelecido pelo MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) é no máximo de 1 NMP/mL e pela ANVISA (Agência Nacional De Vigilância Sanitária) em um máximo de 10^2 NMP/mL.

2.7.2. Coliformes totais

Os coliformes totais fazem parte do grupo de bactérias que apresentam forma de bastonetes gram-negativos, não esporogénicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, de 24 horas a 48 horas. As bactérias pertencentes a este grupo habitam o trato intestinal humano e animal, sendo que algumas espécies sobrevivem e se multiplicam em ambientes não fecais por longos períodos sendo prejudiciais aos alimentos, proporcionado a inutilidade dos mesmos quando presentes (Valiatti *et al.*, 2016).

As bactérias coliformes fazem parte de um grupo de organismos que podem ser encontrados no solo, na água e no intestino do homem e de outros animais de sangue quente, sendo os coliformes totais, incluem as espécies fecais e as ambientais. Os coliformes termotolerantes constituem um subgrupo das bactérias coliformes totais (APDA, 2012).

Pertencem ao grupo dos gêneros bacterianos *Escherichia Coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Citrobacter*. Porém incluem cerca de 20 espécies dentre as quais encontram-se as do trato gastrointestinal em humanos e dos demais animais homotérmicos. Deste modo, a principal razão de agrupá-los deve-se as suas características, porém são gram-negativas fermentam a lactose produzindo ácido e gás em 48 horas a 32°C ou 35-37°C (Cecília, 2002; Bande, 2016).

São bacilos gram-negativos não formadores de esporos, capazes de crescer em inúmeros meios e alimentos. Os coliformes totais são as bactérias que apresentam a capacidade de continuar a fermentação da lactose com a produção de gás quando incubados à temperatura de 35-37°C (Franco e Landgraf, 2008).

Geralmente os coliformes totais são indicadores microbiológicos da qualidade, ou seja, quanto maior a quantidade de coliformes maior será a contaminação. Essas bactérias caracterizam-se por ser gram-negativas, podendo ser aeróbias ou anaeróbias e possuem capacidade de fermentar lactose produzindo ácido e gás à 35 ou 37°C (Pereira *et al.*, 2015).

De acordo com Cavalcante *et al.* (2018), o grupo dos coliformes totais inclui todas as bactérias em forma de bastonetes gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, com capacidade de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C.

2.7.3. Coliformes termotolerantes (*Escherichia Coli*)

Os coliformes termotolerantes (*Escherichia Coli*) são do gênero *Escherichia* fermentadoras da lactose produzindo ácido e gás a 44,5-45,5°C após 24 e 48 horas de incubação, os coliformes termotolerantes que se distinguem daqueles estritamente originários de trato gastro-intestinais considerados coliformes fecais onde *Escherichia coli* é o principal indicador (Bande, 2016).

Os coliformes termotolerantes (*Escherichia Coli*) são capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24h a 44,5-45,5°C. Esse grupo inclui três gêneros, *Escherichia* sp, *Enterobacter* sp e *Klebsiella* sp, sendo a cepas de *Enterobacter* sp e *Klebsiella* sp de origem não fecal (Geus e Lima, 2008).

Segundo Shibata *et al.* (2004), estas bactérias fermentam a lactose, com produção de ácido e gás a $44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ em 24 horas produz indol a partir do triptofano, oxidase negativa, não hidrolisa a uréia e apresenta actividade das enzimas β -galactosidase e β -glucoronidase, é considerado o agente mais específico como indicador de contaminação fecal recente e de eventual presença de patógenos. Coliformes termotolerantes (*Escherichia Coli*) são as bactérias que apresentam a capacidade de continuar a fermentação da lactose com a produção de gás quando incubados à temperatura de $44-45^\circ\text{C}$. As pesquisas sobre coliformes termotolerantes fornecem com mais segurança informações sobre a qualidade higiénico-sanitária dos produtos. As pesquisas sobre coliformes termotolerantes fornecem com mais segurança informações sobre a qualidade higiénico-sanitária dos produtos (Franco e Landgraf, 2008).

De acordo com Almeida e Nader (2002), estas bactérias possuem origem nas fezes do homem ou animais de sangue quente, podendo causar diarreia e outros distúrbios intestinais. Essas bactérias são consideradas os principais agentes contaminantes, cuja presença em alimentos é indicativa de contaminação de origem fecal evidenciando péssimas condições de higiene. Além disso, possibilita a locomoção de outros microrganismos patogénicos ao homem, sendo responsáveis também pela deterioração, ocasionando fermentações anormais aos alimentos.

Para Cortez *et al.* (2004), os coliformes termotolerantes (*Escherichia Coli*) indicam contaminação de origem fecal, sendo que a detecção de elevado número destas bactérias em um alimento, inclusive nos processados, é interpretada como possível presença de patógenos intestinais, visto que a população desse grupo é constituída de uma alta proporção de *Escherichia coli*.

A constatação da presença destes coliformes possui grande importância sanitária pois é indicativa de fontes poluída por despejos domésticos excretados. Também conhecidos como “termotolerantes” por suportarem uma temperatura superior à 40°C , convivem em simbiose com humanos, bois, gatos, porcos e outros animais de sangue quente (Pereira *et al.*, 2015).

Este grupo de coliformes pertence à família *Enterobacteriaceae* e são comuns no trato digestivo. Eles incluem *Escherichia coli*, mas vários outros géneros e espécies estão envolvidos. Eles crescem especialmente acima de 20°C , e atacam as proteínas e a lactose produzindo CO_2 e alteram o sabor do produto estes são utilizados como microrganismos indicadores de condições higiénico-sanitárias (Machalela, 2016).

Segundo Moural *et al.* (2007), afirmam que os coliformes termotolerantes (*Escherichia Coli*) são indicadores de contaminação fecal. São bactérias utilizadas como indicadores da efectividade dos processos de descontaminação, pois, são facilmente inactivados pelos sanitizantes. Além disso, também são indicadores da presença potencial de contaminação fecal, visto que sua população é constituída de uma alta proporção de *Escherichia coli*, cujo habitat é exclusivamente o trato intestinal de homens e animais, considerando o papel das mãos do manipulador de alimento na transmissão de enteropatógenos ao alimento e que as consequências da contaminação do alimento por esses microrganismos (Gonçalves *et al.*, 2018).

Neste grupo destaca-se a *Escherichia coli*, sendo um microrganismo presente no intestino de mamíferos e aves, entretanto é apontado como um dos agentes bacterianos mais frequentes em fezes de seres humanos e animais (Almeida, 2013).

Segundo Ferreira e Knobl (2009), estes microrganismos são bactérias Gram-negativas da família *Enterobacteriaceae*, não esporulada, anaeróbica facultativa, fermentativa, em sua maioria móveis e pertence a microbiota entérica de mamíferos e aves podendo crescer em temperaturas de 18 a 44°C sendo 37°C é a temperatura ideal.

De acordo com Oliveira (2015), os coliformes termotolerantes (*Escherichia Coli*) são microrganismos mais comuns no corpo humano, principalmente no trato digestório. *Escherichia Coli* não é um patógeno comum, algumas produzem enterotoxinas que causam a diarreia, doença de origem alimentar grave

Este grupo de microrganismos, encontra-se largamente na natureza, tendo como principal meio o trato intestinal de animais de sangue quente, integrando as bactérias do grupo coliforme, alguns dos quais patogénicos ao homem, constituindo-se os alimentos e a água como principais fontes de infecção (José, 2016).

Essas bactérias também são caracterizada por suas propriedades bioquímicas, positiva para reacção para indol, lisina, motilidade e reacção de vermelho de metila; negativa para testes para uréase e hidrogénio e utilização de citrato, além disso, algumas cepas podem produzir H₂S (Almeida, 2013).

Coliformes termotolerantes (*Escherichia Coli*) é um grupo de bactérias com principal predominância entre os diversos microrganismos anaeróbicos facultativos que fazem parte da flora intestinal de animais de sangue quente. O significado da presença de *Escherichia Coli* em um alimento pode representar uma contaminação microbiana de origem fecal que, portanto, indica

condições higiênico-sanitárias insatisfatórias. Outro aspecto a ser considerado é que diversas linhagens de *Escherichia Coli* são comprovadamente patogênicas para o homem, podendo desencadear doenças como gastroenterite, infecção urinária e cistite (Scherer, 2016).

Os coliformes termotolerantes (*Escherichia Coli*) tem uma tendência de se modificar de organismo comensal para um patógeno oportunista e para uma bactéria extremamente especializada (Hart, 2001). Essas habilidades se constituem numa delicada linha que delimita um patógeno em relação a um saprófita e estabelece quais mecanismos são utilizados.

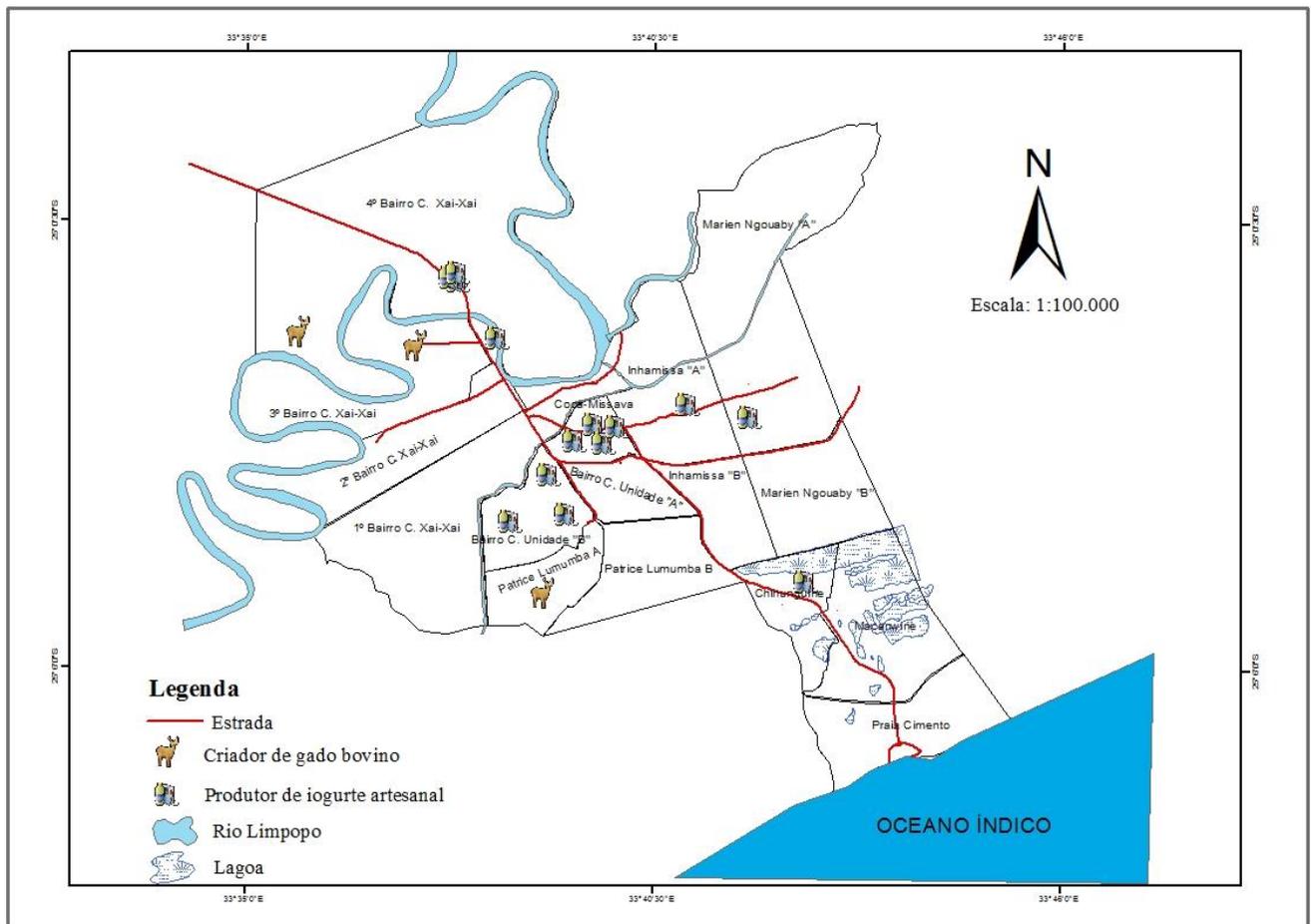
Coliformes termotolerantes (*Escherichia Coli*) são microrganismos de escolha como indicador de contaminação fecal, uma vez que é de fácil isolamento nos meios de cultura convencional e mais resistente por um período de tempo maior (Cristina, 2006).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Área de estudo

A figura 1 representa a área geográfica das comunidades nas quais as amostras de iogurte foram colectadas. A área se encontra inserida no distrito de Xai-Xai, Sul da província de Gaza, sendo a capital da mesma província. Esta área geográfica faz limite o distrito de Chongoene (a Norte e a Oeste), a Sul com o distrito de Limpopo, e a Leste é limitado pelo Oceano Índico (Portal do Governo de Moçambique, 2015).

Figura 1: Localização dos produtores artesanais de iogurte nas comunidades de Xai-Xai.



Fonte: (Autor).

3.1.1. Condições climáticas

As condições climáticas vigentes do distrito de Xai-Xai são influenciadas pelos oceanos Índico e atlântico, pela alta pressão durante a época fresca e pela depressão continental de origem térmica no período quente. “A maioria da chuva ocorre durante a estação quente, com o pico em Janeiro e Fevereiro”. Apresentando uma precipitação média anual com a variação de 825mm-1145mm, com um decréscimo muito rápido da costa para o interior, apresentando uma evapotranspiração mensal ligeiramente elevada no interior em relação na costa, devido à baixa precipitação e às elevadas temperaturas. Sendo que no período de crescimento vegetal decresce da costa para o interior, “variando de 308 dias em Chongoene a 214 dias em Maniquenique” (MAE, 2014).

Segundo MAE (2005), o distrito de Xai-Xai é influenciado pelos anticiclones dos oceanos Índico e Atlântico, pela célula continental de alta pressão durante a época fresca e, pela depressão continental de origem térmica durante a estação quente. Ainda pela sua posição geográfica, o distrito encontra-se na zona de influência de sistemas frontais que transportam massas de ar polar marítimo que podem originar chuvas e aguaceiros na época fresca, aguaceiros e trovoadas na época quente. O maior pico de chuva verifica-se em Janeiro e Fevereiro com precipitação média anual podendo variar 825mm a 1145mm, decrescendo muito rapidamente da costa para o interior. Os valores da evapotranspiração mensal são ligeiramente mais elevados no interior que na costa, devido à baixa precipitação e às elevadas temperaturas.

3.2. Colecta de amostras

Foram colectadas 15 amostras de iogurte de produção artesanal, acondicionadas em garrafas de politereftalato de etileno (*PET*) de 500mL, aleatoriamente colectadas junto de pequenos produtores nas comunidades de Xai-Xai, e 1 amostra de produção industrial, marca “Cactinoza”, adquirida no Super Mercado local, mediante ao modelo probabilístico assentado na amostragem aleatória simples, as embalagens foram colocadas em sacos de polipropileno contendo cubos de gelo, e levadas ao Laboratório de Higiene e Qualidade de Alimentos do Instituto Superior Politécnico de Gaza para o efeito de análises físico-químicas e microbiológicas.

3.3. Análises físico-químicas

Foram avaliados os seguintes parâmetros: pH, acidez titulável, teor de humidade, teor de cinzas e teor de gordura, seguindo os métodos descritos pelo Instituto Adolfo Lutz.

3.3.1. Preparação das amostras

Na preparação das amostras, o iogurte por ser uma amostra propensa em apresentar consistência semi-sólida em alguns casos, as amostras foram distribuídas em copos descartáveis transparentes com os respectivos rótulos com ênfase a distingui-las por proveniência do lote, por conseguinte adicionou-se, atendendo Zenebon *et al.* (2008), 25mL de água destilada, com posterior homogeneização durante a determinação de acidez titulável, submetendo-as à uma temperatura de conservação em variação de 3°C a 4°C durante o período das análises.

3.3.2. Determinação do pH (Potencial de Hidrogénio)

A determinação dos valores de pH foi realizada em triplicata por emprego de procedimentos electrométricos que envolvem aparelhos potenciométricos possibilitando uma determinação directa do pH através do pHmetro modelo HANNA (HI 2212 pH/ ORP Meter), onde 10mL da amostra foram pipetados para uma proveta de 25mL, por conseguinte efectuou-se titulação potenciométrica, mergulhando o eléctrodo do pHmetro na solução de iogurte, e determinar o valor através da leitura no pHmetro.

3.3.3. Determinação do teor de humidade

O teor de humidade foi determinado em triplicata pelo método gravimétrico por emprego de calor. Para o efeito, 5 gramas da amostra foram pesadas em placas de Petri e colocadas em uma estufa (apêndice C) com ar circulante a 105°C durante 2 horas, após as quais foram retiradas com auxílio de uma pinça, deixadas arrefecer a temperatura ambiente e novamente pesadas. A fórmula 1 indica a determinação do percentual de humidade.

$$\frac{(\text{Peso da placa+amostra})-\text{Peso final}}{\text{Peso da amostra}} * 100 = \% \text{ de humidade} \quad (1)$$

3.3.4. Determinação da acidez titulável

A acidez titulável foi determinada em triplicata através do método titulométrico, prosseguiu com a pipetagem de 10mL da amostra em erlenmeyer de 50mL, adicionando-se posteriormente uma quantidade de 25mL de água destilada com auxílio de uma proveta graduada de 100mL, seguidamente foi feita a homogeneização e a adição de 3 gotas da solução de fenolftaleína, titulando com a solução de hidróxido de sódio (NaOH a 0,1N) em uma bureta de 25mL (Apêndice D) homogeneizando até atingir o ponto de viragem do indicador. Efectuou-se então a leitura do

valor do hidróxido de sódio a 0.1N gasto na titulação. A fórmula 2 foi usada para a determinação do percentual da acidez em ácido láctico.

$$\frac{V*f*0.9}{P} = \% \text{ ácido láctico} \quad (2)$$

Onde:

V- Número de mL de solução de hidróxido de sódio 0,1N gasto na titulação;

P- Número de gramas da amostra utilizada no ensaio;

f- Factor de solução de hidróxido de sódio 0,1N;

0.9- Factor de conversão para ácido láctico.

3.3.5. Determinação de cinzas

Para a determinação de cinzas pesou-se 5 gramas da amostra em cadinhos de porcelana numa balança analítica que, com a amostra com auxílio de uma pinça, foram colocados em uma mufla a temperatura de 550°C até a verificação da incineração completa da matéria orgânica em inorgânica, traduzida por pó de coloração branca. Os cadinhos foram então transferidos para uma estufa a 105°C durante 30 minutos com ênfase a baixar a temperatura, seguindo-se a pesagem dos mesmos com a amostra incinerada em matéria inorgânica (Apêndice E). A expressão 3 foi usada para a determinação do percentual da amostra incinerada.

$$\frac{(\text{Peso do cadinho} + \text{amostra incinerada}) - \text{Peso do cadinho}}{\text{Peso da amostra}} * 100 = \% \text{ de resíduo incinerado} \quad (3)$$

3.3.6. Determinação de teor de gordura

A determinação do teor de gordura baseou-se no método Soxhlet (Apêndice F), onde foram pesadas 5 gramas da amostra de iogurte numa balança analítica, colocadas em um papel de filtro sob forma de cone e introduzidas no tubo extrator de gordura. 250mL de éter dietílico foram adicionados em balões volumétricos de 500mL previamente secos em uma estufa a 105°C por 30 minutos e esfriados a temperatura ambiente e seu peso aferido, e posteriormente colocados na capela de aquecimento (60°C) para facilitar a extração da gordura contida na amostra. A gordura extraída depositava-se no balão, que após o processo de extração, foi novamente seco e pesado. A equação 4 foi usada para a determinação do percentual de gordura.

$$\frac{(\text{Peso do balão} + \text{gordura}) - \text{Peso do balão}}{\text{Peso da amostra} * 100} = \% \text{ de gordura} \quad (4)$$

3.4. Análises microbiológicas

Na realização das análises microbiológicas foi determinada a qualidade higiênico-sanitária, para o efeito foram feitas diluições seriadas da amostra em 10^{-1} , 10^{-2} a 10^{-3} para a contagem de coliformes totais e coliformes termotolerantes (*Escherichia coli*), empregando a técnica do número mais provável NMP/mL. Foi feita a inoculação de 1 mL da solução mãe (10^0) para tubos de ensaio contendo 9mL de Caldo Verde Brilhante Lactose (CVBL) e Caldo *Escherichia Coli* (CEC), cuidadosamente homogeneizados e flambados, foram incubados a 40°C em estufa por 24 a 48 horas, empregando as normas descritas pela Instrução Normativa 62/2003 de acordo com Pereira (2015).

3.4.1. Preparação das amostras, meios de cultura e diluições

Assepticamente, amostras de iogurte foram homogeneizadas em um béquer e deixadas prontas para as análises microbiológicas. Para este experimento foram usados (i) água peptonada, obtida através da diluição de 1 grama de peptona em 1000mL de água destilada, (ii) Caldo Lauril Sulfato Triptose, obtido a partir da diluição de 28,83 gramas deste meio em 810mL de água destilada, (iii) Caldo Verde Brilhante Lactose (CVBL) obtido pela diluição de 3,96 gramas em 100mL de água destilada e (iv) Caldo *Escherichia Coli* (CEC) preparado mediante a diluição de 3,0 gramas do meio em 81mL de água destilada. Todos os meios foram esterilizados a uma temperatura de 100°C por 25 minutos.

Para a obtenção das diferentes diluições, foi preparada uma solução mãe, adicionando-se 5 mL da amostra em 5mL da água peptonada. A partir desta solução, foram feitas diluições seriadas até 10^{-3} adicionando-se 1 mL em cada tubo de ensaio contendo 9 mL do caldo Lauril Sulfato Triptose (Apêndice G).

3.4.2. Determinação de coliformes totais e coliformes termotolerantes

A seguir estão descritos os procedimentos utilizados para a determinação de coliformes totais e coliformes termotolerantes no teste presuntivo e confirmativo.

3.4.2.1. Teste presuntivo

Em triplicata, as diluições indicadas no ponto 3.4.1 foram incubadas em uma estufa a 40°C por 24 horas para os coliformes totais e 48 horas para os coliformes termotolerantes constituindo assim, o teste presuntivo.

3.4.2.2. Teste confirmativo

O teste confirmativo foi executado através da verificação da turvação dos tubos do teste presuntivo que traduzia o crescimento microbiano ou não (-). Os tubos com turvação receberam a designação de positivos (+) (Apêndice A e B) e foram isolados dos demais para efeitos de confirmação da presença de carga microbiana. Para o efeito, alíquotas de 1mL do conteúdo de cada tubo positivo foram transferidas para tubos de ensaio contendo 9,0mL de Caldo Verde Brilhante Lactose (CVBL) para coliformes totais (CT) (Apêndice H) e Caldo *Escherichia coli* (CEC) para os coliformes termotolerantes (CTT) (Apêndice I). Depois de homogeneizados e flambados, os tubos foram incubados em uma estufa a 40°C por 24 e 48 horas para os CT e CTT, respectivamente. A determinação do número mais provável de coliformes por mililitro (NMP/mL) foi baseada na combinação do número de tubos positivos das diluições (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) utilizando a tabela de NMP de *Hoskins*.

3.5. Análise estatística

Para a análise dos dados do experimento foi utilizado o Delineamento Completamente Casualizado (DCC) para 16 amostras de iogurte. Os dados foram organizados em uma planilha Excel e em seguida foram submetidos à análise de variância (ANOVA) através do modelo linear geral (GLM), no caso de efeitos significativos, as médias foram avaliadas através do teste de Tukey ao nível de significância de 5%, usando o pacote estatístico Minitab versão 16.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análises físico-químicas

Os componentes físico-químicos estudados no presente trabalho estão apresentados na tabela 3, quanto aos parâmetros pH, acidez titulável, teor de humidade, teor de cinzas e teor de gordura.

Tabela 3: Avaliação das características físico-químicas em iogurtes de produção artesanal e industrial.

Amostras	Parâmetros				
	pH	Acidez titulável	Humidade	Cinzas	Gordura
1.	3,99±0,01 ^g	0,33±0,05 ^{abc}	88,58±0,11 ^{cd}	0,74±0,10 ^{bcdef}	3,04±0,91 ^{abc}
2.	4,03±0,00 ^f	0,39±0,02 ^a	85,78±0,17 ^f	0,92±0,04 ^{bcd}	3,09±0,47 ^{abc}
3.	4,13±0,02 ^d	0,35±0,02 ^{abc}	86,11±0,11 ^{ef}	0,86±0,10 ^{bcde}	4,17±0,16 ^{ab}
4.	4,14±0,00 ^d	0,32±0,05 ^{abc}	90,84±0,20 ^{ab}	0,22±0,26 ^f	2,42±0,05 ^{abc}
5.	4,09±0,01 ^e	0,28±0,06 ^{abc}	89,92±1,50 ^{bc}	0,52±0,07 ^{cdef}	4,68±1,35 ^{ab}
6.	3,96±0,00 ^g	0,32±0,02 ^{abc}	87,58±0,29 ^{de}	0,76±0,10 ^{bcdef}	4,03±0,74 ^{ab}
7.	4,03±0,02 ^f	0,35±0,06 ^{abc}	91,84±0,37 ^a	0,28±0,06 ^{ef}	3,97±0,60 ^{ab}
8.	3,98±0,00 ^g	0,38±0,05 ^{ab}	85,66±0,3 ^f	0,84±0,14 ^{bcde}	4,22±0,67 ^{ab}
9.	3,84±0,01 ^h	0,37±0,09 ^{ab}	80,95±0,26 ^g	1,00±0,25 ^{bc}	3,54±0,17 ^{ab}
10.	4,44±0,01 ^b	0,37±0,01 ^{ab}	89,04±0,99 ^{cd}	0,30±0,23 ^{ef}	2,10±0,97 ^{bc}
11.	4,49±0,00 ^a	0,32±0,02 ^{abc}	88,77±0,62 ^{cd}	1,88±0,25 ^a	2,28±1,77 ^{abc}
12.	4,41±0,00 ^b	0,28±0,08 ^{abc}	86,59±0,24 ^{ef}	1,18±0,32 ^b	0,34±0,31 ^c
13.	4,12±0,01 ^{de}	0,36±0,01 ^{ab}	88,66±0,13 ^{cd}	0,32±0,32 ^{ef}	4,76±1,41 ^{ab}
14.	4,20±0,00 ^c	0,23±0,02 ^{bc}	89,80±0,27 ^{bc}	0,68±0,15 ^{bcdef}	5,27±1,46 ^a
15.	4,11±0,00 ^{de}	0,38±0,02 ^{ab}	86,06±0,61 ^{ef}	0,36±0,23 ^{def}	4,69±1,24 ^{ab}
P	4,21±0,00 ^c	0,21±0,03 ^c	87,56±0,55 ^{de}	0,56±0,10 ^{cdef}	3,50±1,27 ^{ab}

Médias ± desvio padrão seguidas da mesma letra na mesma coluna não possuem diferenças significativas entre si ao nível de 5% de significância. P = iogurte de produção industrial (Cactinoza).

Fonte: (Autor).

4.1.1. Potencial de hidrogénio (pH)

Os resultados mostram que o pH variou de 3,84 a 4,49 nas amostras de produção artesanal e foi evidente diferença estatística neste quesito. Este intervalo de valores pode ser considerado aceitável assumindo que no processo de produção do iogurte, o valor de pH implica directamente na actividade metabólica das bactérias, podendo favorecer a um determinado grupo em detrimento de outro. No caso da fermentação do iogurte, bactérias do género *lactobacillus* tendem a resistir melhor a valores de pH mais baixos e superaram aos géneros *streptococcus*. De igual modo este facto pode estar associado com a etapa de resfriamento durante o processamento. Enquanto isso o valor do pH da amostra de produção industrial mostrou diferença significativa com a maioria (93,3%) das amostras artesanais. Isto possivelmente está relacionado exclusivamente com o

próprio processo de produção industrial que inclui etapa(s) de controle de acidez durante a cadeia produtiva, possibilitando a interrupção da actividade metabólica das bactérias lácticas ao se atingir o ponto de acidez desejado, as amostras artesanais diferiram-se maioritariamente da amostra de produção industrial, esse indicio possivelmente explique-se pela informalidade do modo de produção, ostentando que por se tratar de um produto artesanal pode não ter ocorrido a padronização da fermentação influenciando assim o pH, pois cada produtor possui seu conhecimento quanto às técnicas de produção do iogurte (porventura os ingredientes incorporados também favorecem para a diferenciação verificada).

Segundo Martin (2002) valores de pH entre a faixa de 3,7 e 4,6 são normalmente encontrados em iogurtes, mas os valores ideais devem estar entre 4,0 e 4,4 apresentados em seu estudo sobre armazenamento do iogurte comercial e o efeito na proporção das bactérias lácticas, estando em concordância com os resultados obtidos no presente estudo, de forma semelhante com os resultados reportados por Silva *et al.* (2012) no seu trabalho sobre aspectos microbiológicos, pH e acidez de iogurtes de produção caseira comparado aos industrializados da região de Santa Maria-RS que a faixa ideal do pH deve encontrar-se no intervalo de 4,2 a 4,4, resultados dos quais são similares aos encontrados no presente estudo. Os resultados encontrados para o pH neste estudo são similares aos relatados por Tamime *et al.* (2007) no seu estudo sobre iogurte, onde afirmaram que este parâmetro tem uma grande amplitude, podendo ser encontrado em intervalo de pH entre 3,7 e 4,6.

Os resultados encontrados por Luz *et al.*, (2007), referentes ao pH, factor diretamente relacionado à viabilidade dos microrganismos e da acidez, foi no valor de pH na faixa de 4,53, no seu estudo acerca de processo de produção de iogurte na unidade de produção de alimentos. Os valores de pH encontrados neste estudo vão de acordo com a pesquisa realizada por Fernandes *et al.*, (2013) ao avaliarem a qualidade físico-química de iogurtes comercializados em Viçosa, os valores de pH variaram em torno de 3,7 a 4,6.

Fernandes (2011) descreveu em seu estudo acerca do monitoramento da microbiota de iogurtes comerciais, que valores de pH inferiores a 4,0 são frequentemente atingidos devido à após-acidificação durante a validade comercial, o mesmo foi relatado por Andrade (2010), que o aumento da acidificação verifica-se com valores de pH na faixa de 3,5 a 3,8.

No estudo realizado por Morais *et al.* (2016) encontraram valores de pH entre 4,26 e 4,46 no seu estudo ao desenvolverem iogurtes elaborados com diferentes concentrações de polpa de araticum, valores similares aos encontrados nesse estudo.

Silva *et al.* (2017) em seu trabalho sobre elaboração e caracterização físico-química de iogurte adicionado de polpa do fruto do xique-xique (*Pilosocereus gounellei*), o valor de pH encontrado no iogurte produzido foi de 4,88, resultado superior ao encontrado no presente estudo. Segundo Rodas *et al.* (2001) ao analisarem o pH de oito amostras de iogurtes acrescidas de frutas, verificaram valores de pH entre 3,6 a 4,3. De forma semelhante Gutierrez *et al.* (2012), encontraram uma faixa de pH que variou de 3,90 a 4,33 para amostras de iogurte, resultados similares aos encontrados no presente estudo.

4.1.2. Acidez titulável

Os resultados demonstraram que a acidez variou de 0,23 a 0,39% nas amostras de produção artesanal e foi notória diferença estatística neste parâmetro. Este intervalo de valores pode ser considerado aceitável assumindo que a percentagem de ácido láctico resultante do processo fermentativo, correlaciona-se com a quantidade de lactose hidrolisada pelas bactérias lácticas (*streptococcus* e *lactobacillus*) atendendo a Fernandes *et al.*, (2013). Do mesmo modo que as variações observadas nos níveis de acidez podem estar associadas ao valor inicial do pH que se fixou em 3.84 a 4.49. No entanto, o valor de acidez da amostra industrial evidenciou diferença estatística com todas amostras artesanais. Esta diferenciação quanto aos níveis de acidez observados na amostra industrial e nas amostras artesanais, possivelmente alia-se ao tempo de prateleira da amostra (duas semanas) industrial durante a sua comercialização no Super Mercado, proporcionando continua hidrólise da lactose e elevando a acidez, considerando que o aumento da acidez titulável é diretamente proporcional ao tempo de armazenamento.

Na avaliação feita por Fernandes (2011) em sua pesquisa sobre monitoramento da microbiota de iogurtes comerciais foram, obtidos valores de acidez em torno de 0,7 e 1,25%, intervalo de valores que foram encontrados no presente estudo, conformando com os resultados reportados por Silva *et al.* (2012) que obtiveram acidez em torno de 0,7 e 1,17% de ácido láctico em seu trabalho sobre avaliação da qualidade de iogurtes, assemelhando-se de igual forma com os resultados obtidos por Martin (2002), ao destacar que encontrou percentual de acidez em torno de 0,7 e 1,25 % de ácido láctico, o mesmo foi verificado por Morais *et al.* (2016) em seu trabalho acerca das análises físico-químicas e composição centesimal de iogurte com polpa de araticum adicionado de óleo essencial

de capim-cidreira que obtiveram acidez de 0,6 a 2,0%, concordando como intervalo de valores de acidez reportados no presente estudo.

Valores de acidez superiores encontrados no presente estudo, também foram relatados por Pimentel *et al.* (2012) em sua pesquisa acerca de características físico-químicas, microbiológicas e estabilidade ao armazenamento do iogurte probiótico tipo inulina de diferentes graus de polimerização, que encontraram acidez em torno de 1,11 e 1,17% de ácido láctico, assemelhando-se aos resultados da pesquisa feita por Medeiros (2012) que obteve valores de acidez na faixa de $0,98 \pm 0,02\%$ de ácido láctico em seu estudo acerca de amostras comerciais de iogurte sabor ameixa.

Valores superiores aos encontrados neste estudo, também foram reportados por Giese *et al.* (2010), que obtiveram valor da acidez titulável em torno de 0,70-0,72% de ácido láctico, assemelhando-se dos resultados da pesquisa realizada por Silva *et al.* (2017) sobre caracterização físico-química de iogurte adicionado de polpa do fruto do xique-xique (*Pilosocereus gounellei*), encontraram valor de acidez em torno de 0,79% de ácido láctico. Por sua vez Moreira *et al.* (2014) verificaram valores de acidez na faixa de 0,68% para iogurtes de maçã adoçados com mel, concordando com os resultados encontrados por Mundim (2008) ao elaborar iogurtes suplementados com inulina, e obteve resultados de acidez que variaram entre 0,48% a 0,72 %, resultados acima dos reportados no presente estudo.

4.1.3. Teor de humidade

Os resultados mostraram que o teor de humidade variou de 80,95% a 91,84% nas amostras de produção artesanal. Este intervalo de valores de humidade, pode ser considerado aceitável assumindo que a composição do matéria-prima empregue na produção dos produtos pode variar de (86,0 a 88,0%), conforme referenciado por Noro (2001). As variações observadas nos valores de humidade destas amostras pode estar associada a adulterações por adição de água. Outro facto que possivelmente afere a esta diferenciação pode correlacionar-se com o teor de sólidos solúveis (6-12%) disponíveis e do tipo de iogurte. A humidade da amostra de produção industrial mostrou-se com diferença significativa em relação a maioria (93,3%) das amostras de produção artesanal. Essas diferenças podem estar relacionadas com o processo tecnológico das indústrias lácteas, caracterizado pela prévia análise química da matéria-prima, que consente ao uso ou não do leite mediante a sua qualidade, assim como da severidade da homogeneização elevando a capacidade de retenção de água do produto final.

Na pesquisa feita por Silva *et al.* (2017) em seu trabalho sobre elaboração e caracterização físico-química de iogurte adicionado de polpa do fruto do xique-xique (*Pilosocereus gounellei*), encontraram teor de humidade em torno de 86,5% estando em concordância com os resultados obtidos no presente estudo. Rensis e Souza (2008) ao desenvolverem seu trabalho sobre iogurtes *light* elaborados com adição de fibra de inulina e oligofrutose, tiveram humidade em torno de 83,96% valor este que encontra-se no intervalo médio dos resultados encontrados no presente estudo. De acordo com o estudo feito por Martins *et al.* (2013) na sua avaliação sobre perfil físico-químico, sensorial e reológico de iogurte elaborado com extracto hidrossolúvel de soja e suplementado com inulina, encontraram valores de humidade em torno de 85,2%, valores estes que assemelham-se aos encontrados no presente estudo.

Os valores obtidos neste estudo são superiores aos reportados por Tamime *et al.* (2007) em sua pesquisa sobre iogurte: ciência e tecnologia, que descreve que o iogurte possui uma humidade na faixa de 78,57 %, assemelhando-se aos resultados encontrados na pesquisa feita por Medeiros *et al.* (2011) sobre o iogurte, tendo obtido teor de humidade na faixa de 78,8%. Segundo Hauly *et al.* (2005) relataram em seu estudo que objectivava produzir iogurte de soja suplementado com fruto-oligossacarídeos, obtiveram valores de humidade em torno de 77,85%, o mesmo foi verificado na pesquisa de Oliveira *et al.* (2007) ao elaborarem iogurte desnatado (*light*) a base de leite de búfala e adoçado com mel, obteram valores de humidade em torno de 77,07%, valores estes que estão abaixo dos encontrados no presente estudo, eventualmente estejam relacionados ao tipo de leite utilizado para a produção do iogurte ou do teor de sólidos solúveis incorporados.

4.1.4. Teor de cinzas

Os resultados demonstraram que o teor de cinzas variou de 0,22 a 1,88% nas amostras artesanais com diferenças estatísticas entre si. Este intervalo de valores pode ser considerado aceitável ostentando-se ao índice de minerais da constituição da matéria-prima (0,80%) empregue no processamento destes produtos, como referido por Noro (2006). No entanto o valor de cinzas da amostra industrial revelou diferença significativa com a maioria (93,3%) das amostras artesanais. Este facto possivelmente está associado ao tipo de raça do animal sendo um fator que influencia na composição química do leite e do tipo de alimentação administrada. Assim como, a diferenciação destas amostras pode ser justificada pela quantidade adicionada de leite em pó, conforme referenciado por (Capitani *et al.*, 2014).

De acordo com a pesquisa efectuada por Silva *et al.* (2017) que objectivava a elaboração e caracterização físico-química de iogurte adicionado de polpa do fruto do Xique-Xique (*Pilosocereus gounellei*), encontraram cinzas em torno de 0,76%, resultados similares foram encontrados no presente estudo. De acordo com a avaliação realizada por Tronco (2008) em seu estudo acerca de manual para inspecção da qualidade de produtos lácteos, as amostras de iogurte apresentaram valores de cinzas variando em torno de 0,7 a 1,0% no 1º dia e 0,6 a 1,0% no 14º dia de fabricação, parte das amostras apresentou teor de cinzas em torno de 0,8%, resultados similares foram encontrados no presente estudo, porém, variações quanto a maior e menor quantidades de cinzas está aliada com a constituição da matéria-prima empregue na produção do iogurte, assim como referenciado por Queiroz (2014) em sua pesquisa sobre elaboração e caracterização físico-química e sensorial de iogurte probiótico de acerola, ao afirmar que os minerais em que são encontrados em maior quantidade em produtos lácteos como o iogurte são: o cálcio, magnésio, fósforo e potássio.

No estudo desenvolvido por Silva (2007), foram verificados teores de cinzas que variaram faixa de entre 0,73% a 0,82%, resultados que assemelham-se aos obtidos por Antunes *et al.* (2015), que encontraram teores de cinzas em torno de 0,81% ao trabalharem com iogurte feito a parte de leite bovino, em seu estudo sobre desenvolvimento e caracterização química e sensorial de iogurte semidesnatado adicionado de concentrado proteico de soro, resultados concordantes aos encontrados no presente estudo. Valores inferiores em relação aos obtidos neste estudo foram verificados no estudo realizado por Martins *et al.* (2013), em que teor encontrado foi de 0,5% de cinzas.

4.1.5. Teor de gordura

O teor de gordura variou de 0,34 a 5,27% nas amostras artesanais e foi verificada diferença estatística neste quesito. Este intervalo de valores pode ser considerado aceitável assumindo que o iogurte pode ser classificado quanto ao teor de gordura em (creme no mínimo de 6% de gordura); (integral com mínimo de 3% de gordura); (parcialmente desnatado no máximo de 2,9% teor de gordura) e (desnatado com máximo de 0,5% de gordura) atendendo Souza (2015). Outro factor que possivelmente está relacionado a estas diferenças é a desnatação do leite durante o processamento, que consiste segundo Vidal e Netto (2018), na remoção parcial da nata do leite. O teor de gordura da amostra industrial mostrou diferença significativa com algumas amostras artesanais (46,6%). Estas diferenças, podem correlacionam-se exclusivamente ao processo

tecnológico industrial, que exerce a produção do tipo de iogurte (integral, semi-desnatado ou desnatado) mediante ao teor de gordura desejado. Outros factores que possivelmente originam a diferenciação destas amostras quanto a gordura aliam-se com o período de lactação, alimentação administrada e da composição de cada tipo de raça de animal.

Nascimento *et al.* (2016) relataram em seu estudo acerca da elaboração do iogurte acrescido de açúcar e sem incorporação de adição de açúcar, que os valores do teor de gordura foram encontrados em torno de 4% a 4,50%, resultados similares foram encontrados no presente estudo. Na avaliação feita por Medeiros *et al.* (2011) encontraram valores do teor lipídico em torno de 2% ao realizar sua pesquisa sobre avaliação físico-química, microbiológica e sensorial do iogurte, assimilando-se aos resultados obtidos por Rodas *et al.* (2001) relatados em seu estudo sobre caracterização físico-química histológica e viabilidade de bactérias lácticas em iogurtes com frutas, tendo encontrado valores nas faixas entre 1,88% e 2,73% de lípidos, resultados estes que assemelham-se aos encontrados no presente estudo, os baixos valores do teor de gordura podem justificar-se pela constituição química da matéria-prima usada na produção do iogurte ser insaturada.

Pereira (2002) relatou em seu trabalho que objectivava a avaliação do efeito do teor de lactose e do tipo de cultura na acidificação e pós-acidificação de iogurtes, que ao analisar as amostras de iogurtes elaborados com leite de baixo teor de lactose encontrou teores de lipídios entre 3,92 a 4,07%, o mesmo foi verificado no trabalho de Cunha *et al.* (2008) que encontraram 3,03% de lipídios em sua pesquisa sobre avaliação físico-química microbiológica e reológica de bebida láctea e leite fermentado adicionados de probióticos, resultados similares aos encontrados no presente estudo. Da mesma forma que Silva (2007), que utilizando culturas *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*, verificou teores de lipídios entre 3,12 e 3,15% valores abordados em seu trabalho acerca do desenvolvimento de iogurte probiótico.

4.2. Análises Microbiológicas

Estão apresentados na tabela 4 os resultados da determinação microbiológica de coliformes totais (CT) e termotolerantes (CTT) em amostras de iogurte de produção artesanal nas comunidades da cidade de Xai-Xai e de produção industrial.

Tabela 4: Contagem microbiológica em amostras de iogurte de produção artesanal e industrial.

Amostras	(NMP/mL)	(NMP/mL)
	Coliformes Totais	Coliformes Termotolerantes
1.	< 3,0	< 3,0
2.	< 3,0	< 3,0
3.	< 3,0	< 3,0
4.	< 3,0	< 3,0
5.	< 3,0	< 3,0
6.	< 3,0	< 3,0
7.	9,2	< 3,0
8.	< 3,0	< 3,0
9.	< 3,0	< 3,0
10.	< 3,0	< 3,0
11.	< 3,0	< 3,0
12.	< 3,0	< 3,0
13.	< 3,0	< 3,0
14.	< 3,0	< 3,0
15.	< 3,0	< 3,0
P	< 3,0	< 3,0

NMP/mL- Número mais provável por mililitro para coliformes totais e, ou termotolerantes.

P = Iogurte de produção industrial (Cactinoza).

Fonte: (Autor).

A contagem microbiológica de coliformes totais (TC) e coliformes termotolerantes (CTT) variou de <3,0 a 9,2NMP/mL, este intervalo é aceitável de acordo com os critérios microbiológicos para contagem deste grupo de microrganismos. Os resultados mostraram que o NMP/mL de CT da amostra industrial não traduziu crescimento microbiano (-) e assemelhou-se com a contagem da maioria das amostras artesanais. Somente uma (6,7%) amostra artesanal apresentou crescimento microbiano (+). Porém, esta carga microbiana pode estar relacionada com a carência de rigorosidade higiênico-sanitária no momento da produção. Outro aspecto que pode correlacionar-se a este resultado é a falta de uso de sanitizantes e/ou detergentes durante o processo de higienização dos utensílios, considerando que segundo Nascimento *et al.* (2016), os coliformes totais são dificilmente eliminados sem o uso destes sanitizantes.

Quanto aos coliformes termotolerantes, verificou-se que todas amostras analisadas não caracterizaram desenvolvimento bacteriano. A inocuidade destas amostras é indicativa de severidade das condições higiênico-sanitárias. Outro factor que possivelmente está aliado com a isenção deste grupo de microrganismos, é a acidez promovida pelas bactérias lácticas durante a fermentação, cujo ácido láctico produzido, resulta no aumento dos níveis de acidez causando diminuição do pH, fenômeno que favorece a perturbação das células microbianas (cepas) inibindo a sua proliferação.

Na avaliação feita por Moraes *et al.* (2002) em seu estudo sobre qualidade microbiológica do iogurte comercializado na cidade de pelotas, contabilizou-se uma carga microbiana de <3,0NMP/mL em todas as amostras analisadas quanto aos coliformes totais e termotolerantes, ficando concordante com os resultados encontrados no presente estudo, com a contagem de <3,0NMP/mL, estes resultados estão associados a severa condução higiênico-sanitária e da acidez do meio, assim como referenciado por Ferreira (2005) ao relatar sobre produtos lácteos fermentados: aspectos bioquímicos e tecnológicos, presumiu que a condição desfavorável para o desenvolvimento desses microrganismos são os níveis de acidez, pois os leites fermentados caracterizam-se por apresentar acidez reduzida devido à fermentação realizada pelas bactérias lácticas, cujo ácido láctico produzido resulta na diminuição da acidez promovendo ao estresse das células microbianas, que porventura possam estar presentes no produto, impedindo o seu desenvolvimento.

O NMP de coliformes totais e fecais encontrado nas amostras analisadas neste estudo, é similar aos resultados encontrados por Emiliano *et al.* (2017) em seu trabalho acerca de aspectos microbiológicos de iogurtes de produção caseira comparados aos industrializados da região de Santa Maria-RS, dos quais encontraram-se em conformidade com o padrão estabelecido pela legislação (<10NMP/mL). Tebaldi *et al.* (2007) presumem em seu trabalho acerca da avaliação microbiológica de bebidas lácteas fermentadas adquiridas no comércio varejista do sul de Minas Gerais, que a ausência de coliformes nas amostras avaliadas possibilita a indicativa de boas condições higiênico-sanitárias durante o processo de produção e embalagem dos produtos.

O NMP de coliformes permitidos para leites fermentados é de até 100NMP/mL para coliformes totais e 10NMP/mL para os coliformes termotolerantes (Costa *et al.*, 2013), concordando com os resultados obtidos no presente estudo, estando dentro dos padrões indicados para qualidade higiênico-sanitária adequada em iogurtes. Critério semelhante foi relatado por Almeida *et al.*

(2006) ao estudarem o efeito da adição de diferentes tipos e concentrações de Sólidos nas características do iogurte tipo firme, descreveram que os critérios microbiológicos para iogurte devem apresentar uma contabilidade máxima de 100NMP/mL quanto aos coliformes totais e coliformes fecais com uma contagem no máximo de 10NMP/mL e mínima de <3,0NMP/mL, resultados similares foram encontrados no presente trabalho.

Lima *et al.* (2009) referenciaram em seu trabalho ao efectuarem análise microbiológica e físico-química de bebidas lácteas comercializadas no Recife, que a presença de coliformes em iogurtes é limitada pela acidez. Na pesquisa realizada por Nascimento *et al.* (2016), relataram em seu estudo acerca da elaboração do iogurte acrescido de açúcar e sem incorporação de adição de açúcar, contabilizaram carga microbiana de <3,0NMP/g, abordaram ainda que as boas condições verificadas estão relacionadas com a higiene sanitária durante o processamento, visto que os coliformes totais são consideravelmente sensíveis ao tratamento térmico e ao uso de sanitizantes e detergentes nos processos de higienização.

5. CONCLUSÃO

Os resultados das análises microbiológicas das diferentes amostras de iogurte produzido pelos produtores artesanais das comunidades da cidade de Xai-Xai abrangidas pelo estudo, não mostraram presença de coliformes termotolerantes, podendo ser encarado como sadias.

Quantificados os consituíntes físico-químicos não foram encontradas diferenças significativas entre o iogurte de produção artesanal e o Cactinoza quanto ao pH, teores de humidade, cinzas e gordura. Porém, foram observadas diferenças quanto aos níveis de acidez titulável.

Em relação a qualidade microbiológica todas amostras analisadas estiveram isentas de coliformes termotolerantes e coliformes totais onde somente uma amostra foi positiva. Deste modo, houve evidências suficientes de que todas as amostras analisadas estão em conformidade com a legislação estabelecida pela ANVISA e RITIQLF.

6. RECOMENDAÇÕES

Realizado o presente estudo constataram-se aspectos cruciais que necessitam de extrema atenção e árduo empenho do analista de modo a assegurar a qualidade. Recomenda-se aos próximos estudos:

- ✓ Avaliar a constituição físico-química das amostras no intervalo de 3 a 4 dias após abertas, de modo a minimizar pós-acidificação;
- ✓ Determinar a qualidade microbiológica de antemão à físico-química, com ênfase a evitar eventual contaminação das amostras;
- ✓ Efectuar a colecta de forma segmentada, com 3 amostras por ponto de colecta, de modo a melhores condições de transporte e controle do tamanho amostral.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A. M. S. *Características biológicas e antigênicas de Escherichia coli com ênfase aos genes de virulência*. Goiânia. Pg:1-3. 2013.

ALMEIDA, E. S.; NADER, A. *Ocorrência de coliformes fecais e Escherichia coli em queijo minas frescal de produção artesanal, comercializado em poços de caldas, Minas Gerais*. Revista Higiene Alimentar, v.16, n. 102/103, p. 71-73, 2002.

ALMEIDA, P.; FERNANDES, P. P. *Produção de iogurte*. Outubro de 2010.

ALMEIDA, T. C. A.; GIGANTE, M. L.; LIMA, S. C. G. *Efeito da adição de diferentes tipos e concentrações de Sólidos nas características sensoriais de iogurte tipo firme*. Revista Brasileira de Produtos Agro-industriais, Campina Grande, v.8, n.1, p.75-84, 2006.

ANDRADE, E. H. P. *Qualidade físico-química, microbiológica e detecção de soro lácteo por cromatografia líquida de alta eficiência em bebidas lácteas fermentadas*. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2010.

ANTUNES, A. E. C.; MOTTA, E. M. P.; ANTUNES, A. J. *Perfil de textura e capacidade de retenção de água de géis ácidos de concentrado protéico de soro de leite*. Campinas, v. 23 (Supl), p. 183-189, 2003.

ANTUNES, A.; FARINÃ, L.; KOTTWITZ, L.; PASSOTTO, J. *Desenvolvimento e caracterização química e sensorial de iogurte semidesnatado adicionado de concentrado proteico de soro*. Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes. Paraná, v. 70, n. 1, p. 44-54, 2015.

APAD- Associação Portuguesa da Distribuição e Drenagem de Água. *Comissão especializada de qualidade da água*. p. 1-2, 2012.

APN- Associação Portuguesa de Nutricionistas. *O iogurte*. Helena Ávila, Portugal, 2013.

BANDE, R. A. *Avaliação da qualidade microbiológica de iogurte processado pela indústria DANMOZ*. Chimoio-MN. p. 5-27, 2016.

BASSO, L. C.; MOURA, D. S.; CARRER, H.; GALLO, L. A. *Bioquímica*. Piracicaba – SP, 2014.

BEZERRA, M. F. *Caracterização físico-química, reológica e sensorial de iogurte obtido pela mistura dos leites bubalino e caprino*. UFRG-N, 2010.

BRASIL- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº. 46. Regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados*, 2007.

BRASIL- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Resolução nº 5, de 13 de Novembro de 2000. Padrões de identidade e qualidade de leites fermentados*. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 27 de Novembro de 2000.

BRASIL- Ministério da Saúde. *Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos*. Diário Oficial da União. Brasília, 2 de Janeiro de 2001.

BRASIL, MSANVS. *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. 4^a ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

CAPITANI, C.; HAUSCHILD, F. A. D; FRIEDRICH, C. J.; LEHN, D. N.; SOUZA, C. F. V. *Caracterização de iogurtes elaborados com probióticos e fibra solúvel*. Paraná – Brasil, p. 1285-1300, 2014.

CARNEIRO, C. S.; CUNHA, F. L.; CARVALHO, L. R.; CARRIJO, K. F.; BORGES, A.; CORTEZ, M. A. S. *Leites fermentados: histórico, composição, características físico-químicas, tecnologia de processamento e defeitos*. Pubvet, Londrina, Ed. 214, Art. 1424, 2012.

CASTRO, S. P. *Tecnologia de leites e derivados*. Universidade Católica de Goiás, 2009.

CAVALCANTE, P. S.; FERREIRA, J. H.; NETO, A. C. N. *Pesquisa de bactérias coliformes totais e termotolerantes no córrego ouro preto do município de ouro preto do oeste*. Paraná, 2018.

CECÍLIA DA SILVA, M. *Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema simplate*. Piracicaba- SP, 2002.

- CÉLIA, J. A. *Influência do amostra térmico nas características físico-químicas e reológicas de iogurtes naturais*. Rio verde – Go, 2015.
- CHANDAN, R. *Fabricação de iogurtes e leites fermentados*. Ames: Editora profissional, 2006.
- CHAVES, M. C. V.; GOUVEIA, J. P. G.; LEITE, J. C. A.; ALMEIDA, F. A.; SILVA, F. L. H. *Caracterização físico-química do suco da Acerola*. V. 4, n. 2, 2004.
- COELHO, F. J. O.; QUEVEDO, P. S.; MENIN, A.; TIMM, C. D. *Avaliação do prazo de validade do iogurte*. Goiânia. p.1155-1160, 2009.
- CORTEZ, A. L. L.; CARVALHO, A. C. F. B.; AMARAL, L. A.; SALOTTI, B. M. *Coliformes fecais, estafilococos coagulase positiva (ecp), salmonella spp. e campylobacter spp. em lingüiça frescal*. Araraquara. p. 215-220, 2004.
- COSTA, A. V. S.; NICOLAU, E. S.; MARIA, C. L. T.; PATRÍCIA, R. F.; SARAH, I. R. R.; NASCIMENTO, R. C. *Desenvolvimento e caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de bebida láctea fermentada elaborada com diferentes estabilizantes/espessantes*. Londrina, p. 209-226, 2013.
- CRISTINA S. P. *segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos*, 2006.
- CUNHA, A. F. *Qualidade físico-química de iogurtes comercializados em Viçosa (MG)*. Viçosa-MG, p. 519-524, 2013.
- CUNHA, T. M.; CASTRO, F. P.; BARRETO, P. L. M.; BENEDET, H. D.; PRUDÊNCIO, E. S. *Avaliação físico-química, microbiológica e reológica de bebida láctea e leite fermentado adicionados de probióticos*. Ciências Agrárias, p. 103-116, 2008.
- DALLA, S. O. R. *Avaliação da qualidade de salames artesanais e seleção de culturas starter para a produção de salame tipo italiano*. Curitiba. p. 133, 2008.
- EMILIANO, J. V. S.; JÚNIOR, S. M.; MARTINS, F. O.; SILVA, C. R.; CAMPOS, R. C. A. B.; BALBI, P. V. T.; MARTINS, A. D. O. *Avaliação físico-química e microbiológica de iogurtes*

- comercializados em Rio Pomba/MG e comparação com os parâmetros da legislação*. Rio de Janeiro, 2017.
- EVANGELISTA, J. *Tecnologia de alimentos*. 2 ed. São Paulo. p. 652, 2005.
- FERNANDES, E. N.; ABREU, C. C.; CASTRO, I.; RASMINI, J. P.; CUNHA, A. F. *Qualidade físico-química de iogurtes comercializados em viçosa*. Viçosa-MG. p. 519-524, 2013.
- FERNANDES, S. S. *Monitoramento da microbiota de iogurtes comerciais*. Rio de Janeiro. p.40, 2011.
- FERREIRA, A. J. P.; KNOBL, T. *Enfermidades bacterianas*. Campinas. p. 457-474, 2009.
- FERREIRA, C. L. L. F. *Produtos lácteos fermentados: aspectos bioquímicos e tecnológicos*. Viçosa: UFV, 2005.
- FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. *Qualidade do leite e controle de mastite*. p.175, 2000.
- FRANCO, B. D. G. M. LANDGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo, 2008.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo, 2007.
- FUCHS, R. H. B.; BORSATO, D.; BONA, E. *Iogurte de soja suplementado com oligofrutose e inulina*. Campinas, p. 175-181, 2005.
- GEUS, J. A. M.; Lima, I. A. *Análise de coliformes totais e fecais: um comparativo entre técnicas oficiais VRBA e petrifilm EC aplicados em uma indústria de carnes*, 2008.
- GIESE, S.; Coelho, S. R. M.; Téó, C. R. P. A.; Nóbrega, L.H.P.; Christ, D. *Caracterização físico-química e sensorial de iogurtes comercializados na região Oeste do Paraná*. Revista Varia Scientia Agrárias, p. 121-129, 2010.
- GONÇALVES, A. C.; LEÃO, R. C.; SILVA, M. C. S.; SILVA, M. B. O. *Ocorrência de enteroparasitas e coliformes termotolerantes nas mãos de manipuladores de alimentos de um hospital de ensino*. p. 211-215, 2018.
- GUTIERREZ, E. M. R.; ZIBORDI, G.; SOUZA, M. C. D. *Avaliação físico-química e sensorial de leites fermentados probióticos*. Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes, p.22-29, 2012.

HART, C. A.; WINSTANLEY, C. *Microbiology*, p. 4-6, 2001.

HAULY, M. C. O. *Suplementação de iogurte de soja com fruto oligossacarídeos: características probióticas e aceitabilidade*. Revista de Nutrição, Campinas, p.613-622, 2005.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. Edição: 4ªed publicada em 2005. São Paulo, 2008.

JOSÉ, A. E. *Qualidade e estabilidade das propriedades físico-químicas e biológicas relacionadas as características fitoquímicas em Ipomoea batatas na perspectiva de cadeias de produção e de agregação de valor a alimentos em sistemas agropastoris familiares*. Porto Alegre-RS, 2016.

JÚNIOR, F. P. *Porcentagem de gordura, proteína e lactose em amostras de leite de tanques*. Curitiba, 2002.

KASHIBA, L. *Determinação de acidez titulável e pH em suco de fruta*, 2013.

KAWANO, B. R. *Otimização na indústria de laticínios: oportunidades de eficiência energética e econômica*. Campinas, SP, 2013.

LETÍCIA, C. S.; MACHADO, T. B.; SILVEIRA, M. L. R.; CLÁUDIA, S. R.; BERTAGNOLLI, S. M. M. *Aspectos microbiológicos, pH e acidez de iogurtes de produção caseira comparados aos industrializados da região de Santa Maria – RS*. Santa Maria, p. 111-120, 2012.

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*. Pernambuco, 2009,

LOBATO, V. *Tecnologia de fabricação de derivados do leite na propriedade rural*. Lavras-MG. p. 37, 2000.

LOPANDIC, K. *Identification of yeasts associated with milk products using traditional and molecular techniques*. Food Microbiology, p. 341-350, 2006.

LUZ, L. M.; SPRANGOSKI, A. L.; BORTOLOZO, E. A. F. Q. *Processo de produção de “iogurte de soja” na unidade de produção de alimentos*. Paraná. p. 41-46, 2007.

- MACHALELA, A. A. *Uso de bacteriófagos como alternativa de conservação de leite em Moçambique*. Viçosa-MG, 2016.
- MAE- Ministério da Administração Estatal. *Perfil do distrito do Xai-Xai provincial de Gaza*. Disponível em: <http://www.govnet.gov.mz>, 2005.
- MAE- Ministério da Administração Estatal. *Perfil do distrito do Xai-Xai provincial de Gaza*. Disponível em: <http://www.govnet.gov.mz>, 2014.
- MARIA, M. *Detection of kluyveromyces marxianus and other spoilage yeasts in yoghurt using a PCR-culture technique*. p. 27-34, 2005.
- MARIANA, C. C. *Impacto do processamento, embalagem e tempo de armazenamento sobre a qualidade da geleia de murici (byrsonima crassifolia (L.) Rich)*. Lavras-MG, 2016.
- MARTIN, A. F. *Armazenamento do iogurte comercial e o efeito na proporção das bactérias lácticas*. Estado SP-Brasil, 2002.
- MARTINS, G. H.; KWIATKOWSI, A.; BRACH, L.; SRUTKOSKE, C. L. Q.; HAMINIUK, C. W. I. *Perfil físico-químico, sensorial e reológico de iogurte elaborado com extrato hidrossolúvel de soja e suplementado com inulina*. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais. p. 93-102, 2013.
- MEDEIROS, A. P.; CASAGRANDE, F.; BITTARELO, K. P. *Iogurte*. Florianópolis. p 20, 2006.
- MEDEIROS, T. C.; MOURO, A.; ARAÚJO, K.; ALQUIRO, L. *Elaboração de iogurte: Avaliação físico-química, microbiológica e sensorial*. Scientia Plena, 2011.
- MENSEN, J. F. R. *Controle da qualidade: análises físico-químicas do leite e derivados em uma indústria de beneficiamento de leite*. Curitiba, 2015.
- MORAES, C. M.; COELHO, F. J. O.; BUCHLE, J.; GONZALEZ, H. L.; PORTO, C. R.; ALEXIS, M. A.; ROOS, T. B.; OLVEIRA, D. S.; TIMM, C. D. *Qualidade microbiológica do iogurte comercializado na cidade de pelotas*. Brasil. p. 161, 2002.

MORAIS, E. C.; PATIAS, S. G. O.; OLIVEIRA, L. C. P.; FARIAS, A. K. N.; PICANÇO, N. F. M.; FARIA, R. A. P. G. *Análises físico-químicas e composição centesimal de iogurte com polpa de araticum adicionado de óleo essencial de capim-cidreira*, 2016.

MOREIRA, I. S. *Elaboração e avaliação da qualidade de iogurtes de maçã adoçados com sacarose e com mel*. Mossoró, p.10-14, 2014.

MOREIRA, R. S. *Análise microbiológica e química de iogurtes comercializados em Lavras-MG*. Campinas, p. 206-215, 1999.

MOREIRA, Z.; XAVIER, N. E.; SANTOS, A. *Determinação de lipídios pelos métodos de Soxhlet e Bligh-Dyer*, 2012.

MOTA, J. C. M.; SILVA, M. C. R. *Processamento do iogurte*, Patos de Minas, 2012.

MOURA, A. P. B. L.; JUNIOR, J. W.; OLIVEIRA, R. B. A.; DUARTE, D. A. M.; RIBEIRO, A. R.; REIS, E. M. F. *Pesquisa de coliformes termotolerantes, totais e salmonella spp. Em carnes caprinas comercializadas na cidade do Recife*. Pernambuco. São Paulo, p.293, 2007.

MUNDIM, S. A. P. *Elaboração de iogurte funcional com leite de cabra, saborizado com frutos do cerrado e suplementado com inulina*. Rio de Janeiro, 2008.

MUNIZ, L. C. *Consumo de leite entre adultos e idosos de Pelotas*. Pelotas: UFPEL, 2010.

NASCIMENTO, T. C, P. V. S.; FERREIRA, C. R.; BENTO, R. C.; VALE, S. P.; OLIVEIRA, J. M. *Caracterização físico-química e microbiológica de iogurte grego produzido Por uma agro-indústria do município de Guarani, Minas Gerais*, 2016.

NEVES, L. S. *Fermentado probiótico de suco de maçã*. Curitiba, p.106, 2005.

NORO, G. *Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul*. Revista Brasileira de Zootecnia, v.35, p.1129-1135, 2006.

OLIVEIRA, A. J.; SANTOS M. C. H. G.; ITAYA N. M.; CALIL, R. M. *Coliformes termotolerantes: bioindicadores da qualidade da água destinada ao consumo humano*. São Paulo. p. 24-29, 2015.

- OLIVEIRA, M. G. *Análise microbiológica, físico-química e sensorial do iogurte de leite búfala integral e desnatado adoçado com mel de abelha*. Amazônia, 2007.
- ORDONEZ, J. A. *Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal*. Porto Alegre p. 207-233, 2005.
- PACHECO, H. F. B.; SÍGOLO, L. M. N.; RIBEIRO A. P. B.; OLIVEIRA, J. M. *Composição centesimal de iogurtes tradicionais e iogurtes líquidos: incompatibilidade com as descrições da rotulagem*. Rev. Inst Adolfo Lutz. São Paulo, 2015.
- PAIVA, R. M. B. *Avaliação físico-química e microbiológica de leite pasteurizado tipo C distribuído em programa social governamental*. Belo Horizonte, 2007.
- PEREIRA, F. S. G. *Processos tecnológicos de alimentos*. Recife- FPE, 2015.
- PEREIRA, M. A. G. *Efeito do teor de lactose e do tipo de cultura na acidificação e pós-acidificação de iogurtes*. Campinas, 2002.
- PEREIRA, M. J.; AUGUSTO, T. R. L.; BRANDES, P. A. S. *Análise microbiológica do trecho central do riacho são Lourenço*. P 2-3, 2015.
- PIARD, J. C.; LOIR, Y. L.; POQUET, I. *As bactérias lácticas no centro de novos desafios tecnológicos*, 2001.
- PGM- Portal do Governo de Moçambique. *Perfil do distrito de Xai-Xai*, 2015. Disponível em <https://www.portaldogoverno.gov.mz>.
- PILATTI, L. A.; BISCAIA, I. M. F.; STADLER, C. C. *Avaliação das alterações físico-químicas em iogurte adicionado de culturas probiótica*. São Paulo, 2004.
- PIMENTEL, T. C.; GARCIA, S.; PRUDÊNCIO, S. H. *Iogurte probiótico tipo inulina de diferentes graus de polimerização: Características físico-químicas e microbiológicas e estabilidade ao armazenamento*. Londrina, v. 33, n. 3, p. 1059-1070, 2012.
- PORTELINHA, D. M. G. *Valorização do soro para produção de Iogurte*. UME, 2013.
- PROZYN. *Lactase*. São Paulo. p. 4, 2004.

- PROZZI, D.; DECARIS, B.; BOLOTIN, A.; DELORME, C.; EHRILICH, D. RENAULT, P.; KLEEREBEZEM, M. *the molecular biology and physiology of Streptococcus thermophilus revealed by comparative genomics*. p. 435-463, 2005.
- QUEIROZ, M. B. *Elaboração e Caracterização físico-química e sensorial de iogurte probiótico de Acerola*. Rio Grande do Norte, 2014.
- RENSIS, C. M. V. B.; SOUZA, P. F. F. *Análise sensorial de iogurtes light elaborados com adição de fibras de inulina e oligofrutose*. Uberaba, p. 68-72, 2008.
- ROBERT, N. F. *Fabricação de iogurtes*. Rio de Janeiro. P 5-6, 2008.
- RODAS, A. B. M. *Caracterização físico-química histológica e viabilidade de bactérias lácticas em iogurtes com frutas*. Campinas, p.304-309, 2001,
- ROSS, T. B.; SCHEID FILHO, V. B.; TIMM, C. D.; OLIVEIRA, D. S. *Avaliação microbiológica de queijo colonial produzido na cidade de três passos*. São Paulo – SP, 2005.
- SANTOS, A.; XAVIER, N.; MOREIRA, Z. *Determinação de lipídios pelos métodos de Soxhlet e Bligh-Dyer*. Laboratório de Bramatologia, 2012.
- SCHERER, K.; GRANADA, C. E.; STULP, S.; SPEROTTO, R. A. *Avaliação bacteriológica e físico-química de águas de irrigação, solo e alface (Lactuca sativa L.)*. p. 665-675, 2016.
- SHIBATA, T.; SOLO-GABRIELE, H. M.; FLEMING, L. E. *Monitoring marine recreational water quality using multiple microbial indicators in an urban tropical environment*, 2004.
- SILVA, C. S.; MACHADO, T.B.; SILVEIRA, M. L. R.; ROSA, C. S.; BERTAGNOLLI, S. M. *Aspectos microbiológicos, pH e acidez de iogurtes de produção caseira comparado aos industrializados da região de Santa Maria-RS*. p.111-120, 2012.
- SILVA, CR, CALDONCELLI, LL, MOREIRA, IMV, ALCANTRA, EM, LUIZ, R. *Monitoramento da qualidade microbiológica do iogurte produzido por uma indústria de laticínios da cidade de Tocantins-MG*, 2008.
- SILVA, F. B. *Efeitos da inulina nas propriedades físico químicas, sensoriais e de textura de embutido de peito de peru defumado*. Florianópolis, 2010.

SILVA, J. S.; SOUZA, H. N.; GUIMARÃES, M. G. C.; CARVALHO, R. V. S.; SANTOS, V. R. M.; AZEVÊDO, L. C. *Caracterização de uma nova variedade de Tamarindo (Tamarindus indica) cultivada na Bahia*. Belém-PA, 2009.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água*. 4.ed., São Paulo, 2010.

SILVA, R. C. L.; FILHO, R. S. F.; MEDEIROS, I. F. *Avaliação da qualidade de iogurtes produzidos na Usina-Escola do IFRN Campus Currais Novos e distribuídos na merenda escolar*. Palmas, 2012.

SILVA, S. V. *Desenvolvimento de iogurte probiótico*. Santa Maria, 2007.

SILVA, T. R.; REIS, C. G.; ALVES, J. E. A.; OLIVEIRA, C. A. *Elaboração e caracterização físico-química de iogurte adicionado de polpa do fruto do xique-xique (Pilosocereus gounellei)*. UFMG - Belo Horizonte, 2017.

SOARES, D. S.; FAI, A.; OLIVEIRA, A.; PIRIS, E. *Uso de massa de queijo como alternativa de produção de iogurte probiótico*, 2011.

SOUSA, L. F. *Análises físico-químicas de iogurtes desnatados comercializados em campina grande / PB*. p. 14, 2015.

TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. *Yogurt: science and technology*, 2007.

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*. MG, 2007.

TINOCO, A. L. A.; COELHO, M. S. L.; PINTO, S. A.; BARCELLOS, R. M. C. *Análise das condições físico-químicas do leite oferecido ao comércio em Viçosa-MG*. p.101-106, 2002.

TOLEDO, N.M.V. *Aproveitamento de subprodutos da industrialização do maracujá para elaboração de iogurte*. Piracicaba, 2013.

TRONCO, V. M. *Manual para inspeção da qualidade do leite*. Santa Maria, p203, 2008.

VALIATTI, T. B.; BRASIL, C. A.; FONTES, R. M. S.; GÓIS, R. V. *Avaliação microbiológica de geleias caseiras comercializadas no estado de Rondonia*. Revista Eletrônica da Fainor, Vitória da Conquista, p.194-202, 2016.

VIDAL, M. C.; NETTO, A. S. *Obtenção e processamento do leite e derivados*. São Paulo. p.220, 2018.

VIEIRA, L. C.; KANEYOSHI, C. M.; FREITAS, H. *Qualidade do leite*. Embrapa. 2005.

ZAMBONIM, M. C. *Caracterização de leveduras promotoras de estufamento em iogurte com polpa de fruta*. Curitiba, 2014.

ZENEBO, O.; PASCUET, N. S.; TIGELA, P. *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. 1ª edição digital. Instituto Adolfo Lutz, 2008.

Apêndice C: Estufa digital e placas de Petri com amostras secas a 105°C



Apêndice D: Bureta de 25mL e amostras tituladas



Apêndice E: Carbonização da amostra e amostra incinerada



Apêndice F: Extractor Soxhlet



Apêndice G: Preparação das diluições do teste presuntivo **Apêndice H:** Meios de confirmação de CT



Apêndice I: Tubos com meios para confirmação de CTT

