



PIBIC/CNPq/UFPG-2010



AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E DAS CONDIÇÕES DE ESTOCAGEM DOS IOGURTES COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE PATOS NO ESTADO DA PARAÍBA

Maria do Carmo R. de MEDEIROS¹, Maria das Graças X. de CARVALHO², Felício Garino JÚNIOR³, Amanda Chagas da SILVA⁴, Jesimiel de Lima PESSOA⁴, Maria Júlia NARDELLI⁵, Francisco Roserlândio Botão NOGUEIRA⁵, Bonifácio Benício de SOUZA⁶

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica e condições de estocagem dos iogurtes integral e desnatado, com e sem sabor totalizando 81 amostras coletadas em dois pontos comerciais no Município de Patos-PB, no período de agosto de 2009 a julho de 2010. Foram realizadas as análises microbiológicas de coliformes totais, termotolerantes, fungos filamentosos, leveduras e bactérias lácticas, assim como avaliada as condições de estocagem nos locais de comercialização através da aferição de temperatura. Os resultados obtidos foram analisados através da estatística descritiva. Dentre as 81 amostras analisadas entre coliformes totais e termotolerantes verificou-se que as mesmas encontram-se no padrão, de acordo com a IN 46. Na análise de fungos, dentre as 81 amostras analisadas, 80,25% (65 amostras) apresentaram contaminação fúngica. Dentre as bactérias lácteas viáveis, 22 amostras encontravam-se fora do padrão. Quanto a temperatura, nos locais de comercialização, não encontrava-se no padrão. Contudo, faz necessário buscar melhorias para garantir a qualidade desse tipo de leite fermentado.

Palavras-chaves: leite fermentado, microbiologia, qualidade.

MICROBIOLOGICAL EVALUATION AND THE OBSERVANCE OF THE CONDITIONS FOR STORAGE OF THE DAIRY FERMENTED MILK SOLD IN PATOS CITY, PARAÍBA.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the microbiological quality and storage conditions of integral and skimmed yogurt, with and without flavor totaling 81 samples collected from two commercial spots in the city of Patos, state of Paraíba, in the period August 2009 to July 2010. Were made for microbiological analysis, the total of coliforms, thermotolerant coliforms, filamentous fungi, yeasts and lactic acid bacteria, and assessed the conditions of storage in the local market through the measurement of temperature. The results were analyzed using descriptive statistics. Among the 81 samples analyzed between thermotolerant coliforms and it was found that they are in default under the IN number 46. The analysis of fungi, among the 81 samples examined, 80.25% (65 samples) showed fungal contamination. Among the viable lactic acid bacteria, 22 samples were outside the mainstream. About the temperature at points of sale, was not observed to be within the standards. So it is necessary to seek improvements to ensure the quality of this type of fermented milk.

Keywords: fermented milk, microbiology, quality.

¹Aluna do Curso de Medicina Veterinária, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Patos, PB, E-mail: ducarmo1986@hotmail.com

²Medica Veterinária, Professora. Doutora, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, UFPG, Patos, PB, E-mail: gxavier@cstr.ufcg.edu.br

³Biólogo, professor, Doutor, Unidade Acadêmica de Medicina veterinária, UFPG, Patos, PB.

⁴Alunos do Curso de Medicina Veterinária, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Patos, PB.

⁵Alunos de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, UFPG, Patos, PB.

⁶Médico veterinário, professor, Doutor, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, UFPG, Patos, PB.

INTRODUÇÃO

O iogurte é um derivado do leite, um tipo de leite fermentado e/ou coagulado, sendo processado mediante a ação de cultivo de protossimbíóticos de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, podendo ter outras bactérias ácido lácticas. Nestes produtos a legislação exige uma contagem mínima de bactérias lácteas viáveis na ordem de 10^7 UFC/g no produto final até o fim de seu prazo de validade. O componente obrigatório pode ser o leite e/ou leite reconstituído padronizado em seu conteúdo de gordura, cultivos de bactérias lácticas e/ou cultivo de bactérias específicas fazem parte dessa composição, assim como os ingredientes opcionais não-lácteos, só ou combinada, devem está presentes em uma proporção máxima de 30% (m/m) do produto final (BRASIL, 2007).

Este leite fermentado é um dos mais consumidos pela população em nível nacional e internacional, e faz parte da dieta de pessoas das diferentes faixas etárias tanto por ser um alimento de excelente valor nutritivo quanto por apresentar propriedades benéficas à flora intestinal. Os microrganismos presentes, denominados probióticos, podem estimular a imunidade, produzir substâncias antimicrobianas e competir com bactérias que não são benéficas ao trato intestinal auxiliando na digestão, além de reduzir o risco do aparecimento de doenças. Os constituintes deste produto são pré-digeridos pelas bactérias lácticas, facilitando, assim, a absorção dos seus nutrientes pelo organismo (SPAGNOL *et al*, 2004). Além de ser aumentada a sua vida-de-prateleira em relação ao leite fresco torna-se seguro e nutritivo ao consumo humano. Contudo, é importante ressaltar a qualidade da matéria prima em que animais tratados com antibióticos, dependendo do período de carência, o leite ao apresentar resíduos, em determinados níveis podem inibir o crescimento das bactérias fermentadoras, causando consideráveis perdas econômicas e à saúde dos consumidores (FEITOSA & SANTOS, 2000).

A produção de iogurtes, no Brasil, tem apresentado um crescimento significativo, nos últimos anos, para atender um mercado consumidor muito amplo, tornando o produto acessível à população, de modo geral. Esse alimento saudável e nutritivo promove o melhoramento das condições de saúde pelo aumento da efetividade do sistema imune, dando sensação de bem-estar e prevenindo o aparecimento precoce de doenças, além disto, contém proteínas, gorduras, lactose, minerais e vitaminas de alto valor biológico.

O crescente consumo de leites fermentados tem sido influenciado pela conveniência e praticidade, saúde e segurança proporcionada por este produto. Todavia, com o avanço da tecnologia, o setor alimentício tem adotado medidas de exigências não apenas por parte do consumidor, mas também pela legislação vigente, em que se tem intensificado as pesquisas relacionadas aos iogurtes principalmente em relação aos seus efeitos com relação à prevenção de algumas patologias. De modo geral, a segurança alimentar tem sido alvo de muitas pesquisas científicas que acabam por mostrar que grande parte dos alimentos comercializados encontra-se fora dos padrões higiênico-sanitários estabelecidos por lei, para garantir a saúde pública. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica e as condições de estocagem dos iogurtes comercializados em dois pontos de venda da cidade de Patos no Estado da Paraíba.

MATERIAL E MÉTODOS

LOCAIS DE COLETA E NÚMERO DE AMOSTRAS

As amostras foram coletadas aleatoriamente em dois pontos de venda da cidade de Patos - Paraíba. Nestes estabelecimentos foram coletadas marcas de iogurte natural, integral e desnatado, com e sem sabor, totalizando 81 amostras.

COLETA DE AMOSTRA

As amostras foram coletadas diretamente das gôndolas refrigeradas e dos balcões térmicos e acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável e assim mantidas por um período máximo de duas horas até a realização das análises. Estes locais onde as amostras são acondicionadas para venda, tiveram suas temperaturas aferidas por meio de termômetro digital.

LOCAL DE ANÁLISE DAS AMOSTRAS

As análises das amostras foram realizadas no Laboratório de Tecnologia e Inspeção de Leite e Derivados, localizado na Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, no município de Patos Paraíba. Situado a uma distância de aproximadamente 300 Km da capital do Estado, com área de 508,7 Km², população de 86.036 (oitenta e seis mil e trinta e seis) habitantes, temperatura média de 28°C, umidade relativa média do ar de 55%, precipitação pluviométrica média anual de 700 mm, e altitude média de 242 m, acima do nível do mar.

IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

Foram analisadas 22 marcas de iogurtes, sendo estas identificadas em ordem alfabética: A,B,C,D,E,F,G,H,I,J,L,M,N,O,P,Q,R,S,T,U,V,X, exceto a letra K da sequência.

ANÁLISES LABORATORIAIS: COLIFORMES TOTAIS E TERMOTOLERANTES

As análises microbiológicas que foram realizadas nas amostras coletadas: número mais provável de coliformes totais, fecais termotolerantes, (HAJDENWURCEL, 1998; SIGARINI, 2004).

TÉCNICA EMPREGADA

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

Ao final deste período são caracterizados como positivos os tubos que apresentem, sobretudo, presença de gás no tubo de Durham, efervescência após agitação, turvação e amarelam o meio. Nestes tubos classificados como coliformes 32/35°C ocorre sua quantificação de acordo com a tabela de NMP¹ que se baseia no padrão de tubos contendo gás nas diferentes diluições. A determinação de coliformes fecais termotolerantes é feita mediante o repique com alça de platina das diluições positivas para coliformes 32/35°C em caldo verde bile brilhante e caldo triptona. Incuba-se então por 24 horas a $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$ e verifica se houve a formação de gás, nos tubos em que isto se confirmou após adição de 0,3ml do reativo de Kovacs, para cada 5 mL do caldo triptona correspondente ao tubo positivo, caso haja a formação de um anel vermelho na porção superior da amostra esta é considerada positiva para coliformes 45°C. como mostra a figura 1 (HAJDENWURCEL, 1998).



Figura1. Tubo com caldo triptona à esquerda apresentando anel vermelho indicando a presença de coliforme termotolerante a partir da presença gás no tubo à direita com Brilliant Green Bile Broth 2%.

PESQUISA DE *E. COLI* UTILIZANDO PROVAS BIOQUÍMICAS DO IMVIC

Este conjunto de provas bioquímicas é composto pelo indol, vermelho de metila, Voges-Proskauer e citrato (BIER, 1981).

No caldo triptona existe o aminoácido triptofano, que quando degradado pela *E. coli* produz como compostos intermediários o ácido indolpirúvico e o ácido indolacético, sendo que as enzimas envolvidas nesse processo são as triptofanases. Após essa degradação o ácido indolpirúvico sofre desaminação liberando indol, e o ácido indolacético por descarboxilação libera escalatol, sendo este composto volátil. Com isso, o indol formado irá reagir com o p-dimetilamino benzoaldeído, presente no reativo de Kovac's, formando um composto quindidal vermelho solúvel em álcool iso-amílico (este também é componente de

reativo) o tornando vermelho, o álcool por ser menos denso que o meio se mantém na superfície formando assim o anel (SIGARINI, 2001).

Para a prova do vermelho de metila e Voges-Proskauer foi incubado a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas 10 mL do meio VM-VP² (também chamado de MR-VP ou meio Clark & Lubs) inoculado com uma alçada do tubo de verde brilhante cujo seu correspondente de caldo triptona foi positivo na prova do Indol. Passado esse período foram separadas em tubos de ensaio limpos, duas alíquotas de 2,5 mL para serem testadas. Em uma foi adicionado 0,1 mL de solução alcoólica de vermelho de metila a 0,06% e na outra foram colocados os reagentes de Barrit, solução alcoólica de α -naftol a 5% e solução de hidróxido de potássio a 40% nas quantidades de 0,6 e 0,2 mL respectivamente e nesta mesma ordem, seguido de vigorosa agitação do tubo com a finalidade de oxigená-lo (BIER, 1981).

Na prova do vermelho de metila se verifica a capacidade que o microrganismo tem de a partir da glicose produzir ácidos orgânicos de forma tão intensa que submeta a capacidade tampão do meio de cultivo. Dentre os ácidos podemos destacar o láctico, acético, fórmico, succínico e etílico. Quando a produção é intensa o suficiente ocorre a liberação de grande quantidade de íons H^+ no meio, e quando o pH atinge 4,4 o indicador (solução alcoólica de vermelho de metila), permanecerá vermelho caracterizando assim a reação positiva (BIER, 1981).

No caso do Voges-Proskauer o que se procura é a produção de um composto de alto pH o acetilmetilcarbinol (acetoína), este é um produto final da degradação da glicose, com a adição dos reagentes de Barrit, a acetoína se unirá com o α -naftol e será oxidada pelo oxigênio atmosférico formando a diacetila, que tem coloração vermelha. Nesta reação a solução de hidróxido de potássio age como oxidante e o α -naftol como catalisador da reação, intensificando a cor. Caso a reação seja negativa para a presença de acetoína, o meio permanecerá inalterado ou ficará com uma cor cobre, após a adição dos reagentes, resultado a ação da solução de KOH sobre a de α -naftol (BIER, 1981).

A utilização do citrato como única fonte de carbono é uma propriedade que alguns microrganismos, eles usam esse citrato no ciclo de Krebs para formar oxalacetato e acetato, depois piruvato e CO_2 terminando com alcalinização do meio, devido à liberação de sais de amônia. O meio utilizado para a determinação dessa prova é o ágar citrato de Simmons cuja formulação tem como indicador de pH o azul-de-bromotimol, que no meio estéril tem coloração verde com um pH de 6,9. Este meio é utilizado na forma de ágar de superfície inclinada em tubos e quando inoculado, este por meio de estrias na superfície inclinada, quando o microrganismo realiza a utilização do citrato o meio se torna azul, caso não ocorra a utilização este permanecerá inalterado caracterizando uma reação negativa. No caso da *E. coli* este caminho metabólico não existe e portanto é negativo (BIER, 1981).

CULTIVO DE FUNGOS

A identificação de fungos filamentosos tem como fundamento a observação da morfologia da colônia e aspectos microscópicos. A análise da colônia visa observar: cor, textura, superfície, pigmento difusível no meio de cultura, entre outros, e pode ser feita no tubo de ensaio contendo a cultura primária do fungo. Porém, o mais adequado é a análise a partir da “colônia gigante”, ou seja, uma cultura feita no ponto central de uma camada de Agar distribuído em placa de Petri. A velocidade de crescimento, que pode ser rápida (< 7 dias), intermediária (8 a 14 dias) ou lenta (> 15 dias) é fundamental para identificação presuntiva do fungo. A observação das estruturas microscópicas, tais como: hifa hialina ou demácia, septada ou cenocítica, forma disposição e formação dos esporos, são suficientes, em geral, para identificação de fungos filamentosos. Em alguns grupos, porém, como os fungos demácios, pode ser necessário também o uso de provas bioquímicas. A morfologia microscópica é melhor visualizada com a técnica de microcultivo que preserva a disposição original dos esporos sobre as hifas e mantém íntegras certas estruturas formadoras de esporos, por ex. esporângios que são órgãos de reprodução de zigomicetos. Os fungos filamentosos, patogênicos ou contaminantes ambientais, potencialmente oportunitas, formam um grupo muito extenso (BRASIL, 2004).

TÉCNICA DE MICROCULTIVO PARA FUNGOS FILAMENTOSOS

Colocar sobre uma lâmina esterilizada, contida em uma placa de Petri estéril, um cubo de Agar: ASD ou Agar batata. A lâmina deve estar sobre um suporte, que pode ser formado por outra lâmina, ou um pequeno bastão de vidro recurvado, ou ainda, dois palitos de fósforo. Semear o fundo, a partir de repique recente, nos quatro lados do cubo de Agar. Recobrir com uma lamínula esterilizada. Fazer uma câmara úmida, adicionando 1 a 2 mL de água destilada estéril no fundo da placa ou embeber um pequeno chumaço de algodão estéril, para evitar a dessecação do meio de cultura, durante o crescimento do fungo. Tampar a placa e deixar à temperatura ambiente por 7 a 10 dias, até que se observe desenvolvimento de hifas com ou sem pigmentação. Após esse período, inativar a esporulação, adicionando 1 mL de formol ao algodão e

vedando a placa com uma fita adesiva durante 24h-48h. O vapor de formol, além de inativar o fungo, irá auxiliar na fixação das estruturas microscópicas. Retirar a lamínula com auxílio de uma pinça, cuidadosamente, uma vez que nela deverão estar aderidas as hifas e esporos do fungo. Pingar uma gota de azul de lactofenol-algodão (Cotton Blue) e montar sobre uma lâmina. Desprezar o cubo de Agar e, em seu lugar, pingar outra gota de corante azul e recobrir com lamínula, para visualizar esporos e hifas também aderidos à lâmina. Observar em microscópio óptico com objetiva de 40x, o tipo de cor da hifa, forma disposição e formação de esporos (BRASIL, 2004).

CONTAGEM DE BACTÉRIAS LÁCTICAS

Na preparação de 1 L de meio de cultivo para bactérias lácticas faz-se necessário a utilização do seguinte meio: 23,5 g de Agar padrão (PCA); 0,04 g de púrpura de bromocresol; 5g de lactose e 2 g de carbonato de cálcio. Faz-se em profundidade e cultiva-se a 36°C de 24h-48h, em seguida se realiza a contagem colônias que se mostrarem com um alo amarelo em seu redor.

Segundo BRASIL (2007), a contagem mínima de bactérias lácticas em iogurtes deve ser $\geq 10^7$ UFC/g.

ANÁLISE DAS TEMPERATURAS

As temperaturas foram aferidas com termômetro digital infravermelho na superfície do produto.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados da pesquisa foram quantificados e submetidos à estatística descritiva, com os resultados representados em termos percentuais e absolutos (VIEIRA, 1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram feitas análises microbiológicas em 22 marcas de iogurtes totalizando 81 amostras comercializadas no município de Patos- PB, onde se procurou identificar a contaminação por Coliformes Totais, Termotolerantes, *Escherichia coli*, Bolores, Leveduras, pesquisado a presença de Bactérias Lácticas, bem como aferidas as temperaturas do produto nas gônodos de armazenamentos nos estabelecimentos comerciais.

Na pesquisa de coliformes totais 08 (9,88%) amostras foram positivas (Tabela 1), as quais se encontravam dentro do padrão estabelecido pelo regulamento técnico de identidade e qualidade dos leites fermentados $\leq 1 \times 10^2$ (BRASIL, 2007). Dentre as amostras analisadas se verificou presença de coliformes termotolerantes nas respectivas amostras, **G** 0,36 NMP/MI, **L** 0,61 NMP/mL e **V** 2,0 NMP/mL estando estas também dentro do padrão $\leq 1 \times 10^1$. Quanto à presença de coliformes termotolerantes, realizou-se o teste para *E. coli*, o qual foi negativo (Tabela 1).

Amaral et al (2009) pesquisando a qualidade microbiológica de iogurte comercializado em Viçosa-MG analisaram 15 amostras e não encontraram coliformes totais, Já Melo et al (2009) avaliaram 44 amostras de iogurtes comercializados na Bahia e encontraram 15,9% das amostras com presença de coliformes totais, 31,8% de amostras positivas para coliformes termotolerantes e 25% com presença de *E. Coli*, o que não foi encontrado neste trabalho.

A determinação do número dessas bactérias serve como parâmetro microbiológico básico às leis criadas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento para que os laticínios garantam a qualidade desse alimento para o consumidor.

A ausência de coliformes termotolerantes indica boa qualidade do produto quando se aplica cuidados higiênicos durante o processo de fabricação ou tratamento térmico do produto após a acidificação, o que, neste caso, corresponde à fraude, pela IN 46, por destruir também a flora láctica do produto (AMARAL et al., 2009).

Dentre as 81 amostras analisadas, 80,25% (65 amostras) apresentaram contaminação fúngica. Sendo que 64 (98,46%) apresentaram bolores, e destas, 19 amostras (29,23%) continham bolores e leveduras. Do total de fungos encontrados, uma amostra apresentou somente levedura correspondendo a 1,54% (Tabela 3 e 4).

Ao verificar leveduras e fungos filamentosos que se encontravam ou não dentro do padrão $\leq 2 \times 10^2$ UFC/g, obteve-se 15 amostras contendo leveduras fora do padrão, restando apenas 5 amostras dentro do padrão. Em relação aos fungos filamentosos (bolores) 51 amostras encontravam-se fora do padrão e 13 dentro do padrão (Figuras 2 e 3).



Figura 2. Placa de Petri apresentando crescimento de levedura de cor amarelada e uma colônia de bolor de cor verde acinzentada, em meio Sabouraud Chloramphenicol Agar.



Figura 3. Placa de Petri apresentando crescimento de bolor (fungos filamentosos) em meio Sabouraud Chloramphenicol Agar.

Dentre os microrganismos patógenos pesquisados o bolor foi o agente que apresentou maior frequência, sendo o *Aspergillus flavus* a espécie de maior predominância . Também foram identificados *Aspergillus fumigatus* (Figura 2), *Aspergillus niger* e o *Penicilium notatum* (Tabela 5). Na análise histológica, para fungos filamentosos observou-se presença elevada de *Aspergillus flavus*. Segundo Rodas et al (2001), a presença de fungo filamentosos é indicativo de utilização inadequada de matéria prima.

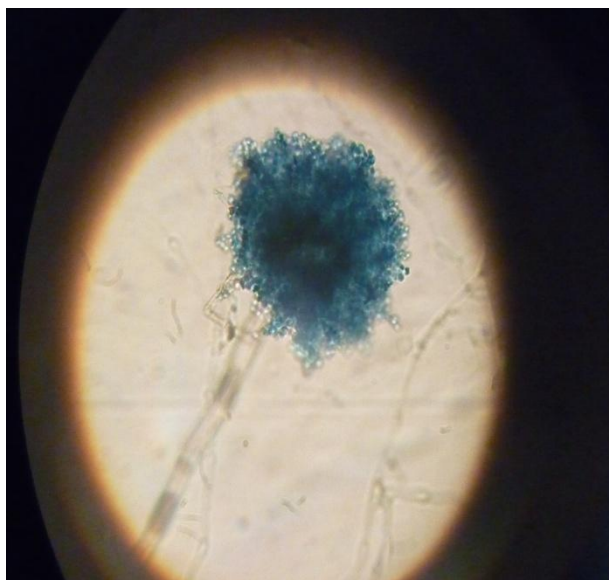


Figura 4. Representação histológica mostrando um fungo filamentosos (bolor) *Aspergillus fumigatus*, encontrado em amostras de iogurtes, comercializados no município de Patos-PB, no período de agosto de 2009 a julho de 2010.

Moreira et al (1999) analisaram 72 amostras de iogurtes comercializados em Lavras-MG, encontrou 28% das amostras foi encontrada população de levedura acima de 100 UFC/g, enquanto que 7% foram obtidas contagens de leveduras maiores que 1000 UFC/g, e justifica essa contaminação por leveduras no produto final à adição de frutas ou açúcar. Em relação à polpa, os produtores de iogurtes ou fornecedores de polpa deveriam pasteurizar este material antes de seu uso ou adquirirem frutas termoprocessadas. Iogurtes adicionados com açúcar ou frutas são mais susceptíveis ao crescimento de leveduras.

Amaral et al (2009) analisaram 15 amostras e encontraram um percentual de 66% fora do padrão $\geq 2 \times 10^2$. Já Melo et al (2009) avaliaram 44 amostras de iogurtes e encontraram um percentual de 22,7% de amostras fora do padrão para bolores e leveduras.

A contagem de fungos filamentosos e leveduras indicam que o produto foi fabricado em um ambiente sem aplicação de boas práticas de fabricação ou, deixando-o impróprio para o consumo, devido à possibilidade de produção de micotoxinas por estes microrganismos (AMARAL et al, 2009).

As bactérias lácticas desempenham importante papel no processo de fermentação do leite além de preservação. São produtoras de ácido láctico em que ocasiona um meio desfavorável ao desenvolvimento de microrganismos patogênicos e/ou deteriorantes (MORENO, I.; LERYER, A. L. S. & LEITÃO, M. F. F., 2008). As bactérias lácticas acidificam o alimento pela produção de ácidos orgânicos e com isso impedindo o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis.

A contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de 10^7 UFC/g no produto final para o(s) cultivo(s) láctico(s) específico(s) empregado(s), durante todo o prazo de validade (BRASIL, 2007).

Foram realizados cultivos de bactérias lácticas com o intuito de determinar se a contagem total dessas bactérias que são incubadas à temperatura média de 35°C, estaria dentro do padrão estabelecido pelo regulamento técnico de identidade e qualidade de iogurtes. Foram encontradas entre as 81 amostras analisadas 59 amostras dentro do padrão correspondendo a 72,84%, dentro das amostras analisadas que apresentaram bactérias lácticas 7 amostras (8,64%) foram abaixo de 10^6 , estando estas fora do padrão (Figura 5). Do total analisado 15 amostras foram ausentes para bactérias lácticas e presentes para outros mesófilos correspondendo a 18,52%, de acordo com o estabelecido pela IN 46 (Brasil, 2007). Pode-se verificar que, em algumas diluições não haviam desenvolvido colônias de bactérias lácticas, as quais são caracterizadas por apresentarem um halo de coloração amarelada. Contudo, apareceram outras espécies de bactérias mesófilas, o que corresponderia que a bebida láctea fermentada não estaria sendo processada de forma adequada e assim, prejudicando o processo de fermentação e de vida útil de prateleira, (Tabela 2).

Vários fatores contribuem para ausência ou $\leq 10^6$ UFC/g, como o controle inadequado da cultura, pontos falhos na fabricação ou deficiência na manipulação e condições de estocagem incorretas, durante a fabricação e comercialização (PEREIRA, M. A., ALMEIDA, D. M., SAUER, E. 2007).



Figura 5. Placa com meio de cultivo para bactérias lácteas, apresentando colônias amarelas características.

A temperatura estabelecida para que sejam mantidas as condições de conservação e comercialização adequadas não deve ser superior a 10°C para iogurtes (BRASIL, 2007). Todavia, a temperatura ao ser avaliada nos dois pontos comerciais da cidade de Patos-PB, 15 amostras (18,52%) estavam superior a 10°C não se encontrando dentro dos padrões estabelecidos, como mostra a tabela 6. Contudo, 66 amostras (81,48%) encontravam-se com suas temperaturas $\leq 10^{\circ}\text{C}$, estando estas de acordo com o regulamento exigido pelo MAPA (Tabela 6).

Tabela1: Resultado da contagem de coliformes totais e termotolerantes em NMP/mL, nas amostras coletadas no período de agosto de 2009 a julho de 2010, em dois pontos comerciais do Município de Patos-PB.

COLETAS										
AMOSTRAS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	*ausente	-	-	-	*0,36 NMP/ml **ausente	-	*ausente	-	*ausente	-
B	*ausente	*ausente	*ausente	-	*ausente	*ausente	-	-	*ausente	*ausente
C	*ausente	*ausente	*ausente	*ausente	-	-	*ausente	*ausente	-	-
D	*ausente	-	*ausente	-	-	-	-	-	-	-
E	*ausente	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F	*ausente	-	-	-	-	-	-	*ausente	-	-
G	*ausente	*ausente	-	*ausente	*ausente	*ausente	*2,9NMP/mL **ausente	*0,91 NMP/ml **0,36NMP/mL	*ausente	*ausente
H	-	*ausente	-	*ausente	*ausente	*ausente	*ausente	*0,3 NMP/ml **ausente	-	*ausente
I	-	-	*ausente	*ausente	-	-	-	-	*ausente	*ausente
J	-	-	*ausente	*ausente	*ausente	*ausente	*ausente	-	*ausente	*ausente
L	*ausente	*ausente	-	-	-	-	-	*0,92 NMP/ml **0,61NMP/mL	-	-
M	*ausente	*ausente	-	-	-	-	-	-	-	-
N	-	*ausente	*0,36 NMP/ml **ausente	-	*ausente	*ausente	*ausente	-	-	-
O	-	-	*0,6 NMP/ml **ausente	-	-	-	-	-	-	-
P	-	-	*ausente	*ausente	-	-	-	-	-	*ausente
Q	*ausente	-	-	-	*ausente	*ausente	-	-	*ausente	-
R	-	-	-	*ausente	-	-	-	-	-	-
S	-	*ausente	-	-	-	-	*ausente	-	-	-
T	-	-	-	*ausente	-	*ausente	-	-	-	-
U	-	-	-	-	*ausente	*ausente	-	*ausente	*ausente	-
V	-	-	-	-	-	-	*ausente	*3,5NMP/mL**2,0NMP/mL	-	-
X	-	-	-	-	-	-	*ausente	*ausente	*ausente	-

* Corresponde à contagem de coliformes totais; ** coliformes termotolerantes.

- amostra não disponível no estabelecimento.

Tabela 2: Resultado da contagem total de bactérias lácticas viáveis ($\geq 10^7$ UFC/g), nas amostras coletadas no período de agosto de 2009 a julho de 2010.

COLETAS										
AMOSTRAS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	3×10^8	-	-	-	$2,7 \times 10^8$	-	Ausente	-	$7,1 \times 10^6$	-
B	$4,8 \times 10^6$	7×10^8	$1,7 \times 10^8$	-	Ausente	$1,1 \times 10^8$	-	-	3×10^7	6×10^7
C	1×10^7	8×10^7	8×10^8	$3,7 \times 10^7$	-	-	$7,5 \times 10^8$	5×10^7	-	-
D	$7,2 \times 10^8$	-	$2,5 \times 10^7$	-	-	-	-	-	-	-
E	3×10^7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F	$4,7 \times 10^8$	-	-	-	-	-	-	4×10^7	-	-
G	$5,3 \times 10^7$	$2,5 \times 10^7$	-	Ausente	$5,5 \times 10^8$	$6,5 \times 10^7$	7×10^7	Ausente	6×10^7	$2,9 \times 10^8$
H	-	$9,5 \times 10^7$	-	$8,5 \times 10^7$	$1,4 \times 10^8$	Ausente	1×10^8	5×10^7	-	9×10^7
I	-	-	4×10^7	$1,8 \times 10^8$	-	-	-	-	5×10^7	2×10^7
J	-	-	1×10^7	Ausente	$2,7 \times 10^8$	Ausente	6×10^7	-	$4,2 \times 10^7$	3×10^6
L	2×10^7	4×10^6	-	-	-	-	-	3×10^7	-	-
M	Ausente	$5,5 \times 10^7$	-	-	-	-	-	-	-	-
N	-	$3,5 \times 10^7$	1×10^6	-	$1,3 \times 10^6$	3×10^7	7×10^8	-	-	-
O	-	-	2×10^7	-	-	-	-	-	-	-
P	-	-	Ausente	4×10^8	-	-	-	-	-	1×10^8
Q	$1,5 \times 10^8$	-	-	-	$1,5 \times 10^8$	Ausente	-	-	3×10^6	-
R	-	-	-	$9,1 \times 10^7$	-	-	-	-	-	-
S	-	$2,5 \times 10^7$	-	-	-	-	2×10^7	-	-	-
T	-	-	-	Ausente	-	1×10^7	-	-	-	-
U	-	-	-	-	$1,4 \times 10^8$	$1,1 \times 10^8$	-	Ausente	3×10^8	-
V	-	-	-	-	-	-	Ausente	Ausente	-	-
X	-	-	-	-	-	-	1×10^8	Ausente	7×10^8	-

- Amostra não disponível no estabelecimento.

TABELA 3- Resultado da contagem de bolores ($\leq 2 \times 10^2$) nas amostras coletadas no período de agosto de 2009 a julho de 2010.

AMOSTRAS	COLETAS									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	BOLOR	BOLOR	BOLOR	BOLOR	BOLOR	BOLOR	BOLOR	BOLOR	BOLOR	BOLOR
A	2×10^2	-	-	-	4×10^4	-	2×10^3	-	$1,8 \times 10^2$	-
B	1×10^4	2×10^3	2×10^4	-	$3,6 \times 10^4$	$1,1 \times 10^4$	-	-	2×10^3	2×10^3
C	2×10^3	1×10^2	Ausente	4×10^2	-	-	Ausente	7×10^2	-	-
D	1×10^2	-	1×10^2	-	-	-	-	-	-	-
E	$1,2 \times 10^4$	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F	$3,1 \times 10^3$	-	-	-	-	-	-	7×10^3	-	-
G	$1,1 \times 10^4$	3×10^3	-	-	6×10^3	8×10^3	$3,8 \times 10^3$	$1,1 \times 10^4$	$5,3 \times 10^2$	Ausente
H	-	2×10^2	-	2×10^3	9×10^3	ausente	Ausente	$7,1 \times 10^4$	-	Ausente
I	-	-	$1,3 \times 10^4$	9×10^2	-	-	-	-	3×10^2	Ausente
J	-	-	$1,5 \times 10^5$	$2,1 \times 10^2$	ausente	ausente	3×10^4	-	5×10^3	1×10^2
L	1×10^2	1×10^2	-	-	-	-	-	$8,5 \times 10^3$	-	-
M	3×10^3	2×10^4	-	1×10^3	-	-	-	-	-	-
N	-	1×10^2	2×10^2	-	ausente	1×10^3	Ausente	-	-	-
O	-	-	3×10^3	-	-	-	-	-	-	-
P	-	-	Ausente	4×10^4	-	-	-	-	-	Ausente
Q	$2,7 \times 10^2$	-	-	-	ausente	1×10^2	-	-	2×10^4	-
R	-	-	-	7×10^4	-	-	-	-	-	-
S	-	2×10^2	-	-	-	-	Ausente	-	-	-
T	-	-	-	$1,4 \times 10^5$	-	1×10^3	-	-	-	-
U	-	-	-	-	$1,2 \times 10^3$	$4,5 \times 10^2$	-	6×10^2	1×10^3	-
V	-	-	-	-	-	-	Ausente	2×10^4	-	-
X	-	-	-	-	-	-	Ausente	6×10^3	3×10^2	-

TABELA 4- Resultado da contagem de leveduras ($\leq 2 \times 10^2$) nas amostras coletadas no período de agosto de 2009 a julho de 2010.

AMOSTRAS	COLETAS									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	LEVEDURA	LEVEDURA	LEVEDURA	LEVEDUR A	LEVEDURA	LEVEDURA	LEVEDURA	LEVEDURA	LEVEDURA	LEVEDURA
A	ausente	-	-	-	Ausente	-	Ausente	-	Ausente	-
B	ausente	Ausente	Ausente	-	Ausente	$1,8 \times 10^2$	-	-	$2,5 \times 10^4$	ausente
C	1×10^4	2×10^3	Ausente	2×10^3	-	-	Ausente	Ausente	-	-
D	ausente	-	Ausente	-	-	-	-	-	-	-
E	ausente	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F	ausente	-	-	-	-	-	-	Ausente	-	-
G	ausente	Ausente	-	Ausente	Ausente	8×10^3	1×10^2	Ausente	Ausente	ausente
H	-	Ausente	-	Ausente	8×10^3	ausente	Ausente	$9,8 \times 10^3$	-	ausente
I	-	-	Ausente	Ausente	-	-	-	-	Ausente	ausente
J	-	-	Ausente	3×10^4	$1,6 \times 10^5$	ausente	Ausente	-	Ausente	ausente
L	ausente	$1,1 \times 10^2$	-	-	-	-	-	Ausente	-	-
M	ausente	Ausente	-	-	-	-	-	-	-	-
N	-	Ausente	Ausente	-	Ausente	ausente	Ausente	-	-	-
O	-	-	2×10^2	-	-	-	-	-	-	-
P	-	-	Ausente	Ausente	-	-	-	-	-	ausente
Q	ausente	-	-	-	Ausente	$8,4 \times 10^3$	-	-	Ausente	-
R	-	-	-	Ausente	-	-	-	-	-	-
S	-	3×10^4	-	-	-	-	Ausente	-	-	-
T	-	-	-	Ausente	-	$6,1 \times 10^5$	-	-	-	-
U	-	-	-	-	1×10^3	$9,7 \times 10^4$	-	$1,1 \times 10^3$	ausente	-
V	-	-	-	-	-	-	Ausente	3×10^2	-	-
X	-	-	-	-	-	-	Ausente	Ausente	ausente	-

TABELA 5- Espécies de bolor em suas respectivas diluições

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	*	–	–	–	<i>Aspergillus fumigatus</i> 10 ⁴	–	<i>Aspergillus niger</i> 10 ⁴	–	<i>Aspergillus flavus</i> 10 ²	–
B	<i>Aspergillus flavus</i> -10 ²	<i>Aspergillus flavus</i> 10 ⁴	*	–	<i>Aspergillus fumigatus</i> 10 ⁴	<i>Aspergillus flavus</i> 10 ⁴	–	<i>Penicillium notatum</i> 10 ²	<i>Aspergillus niger</i> 10 ²	*
C	<i>Aspergillus flavus</i> 10 ²	<i>Aspergillus flavus</i> 10 ³	*	*	–	–	Ausente	–	–	–
D	<i>Aspergillus flavus</i> 10 ²	–	<i>Aspergillus fumigatus</i> 10 ⁴	–	–	–	–	–	–	–
E	*	–	–	–	–	–	–	–	–	–
F	*	–	–	–	–	–	–	<i>Aspergillus fumigatus</i> 10 ³	–	–
G	*	*	–	–	<i>Aspergillus fumigatus</i> 10 ³	<i>Aspergillus niger</i> 10 ³	<i>Penicillium sp.</i> 10 ³	<i>Aspergillus flavus</i> 10 ²	<i>Aspergillus niger</i> 10 ²	ausente
H	–	<i>Penicillium notatum</i> 10 ²	–	*	<i>Aspergillus flavus</i> 10 ³	Ausente	Ausente	<i>Aspergillus niger</i> 10 ⁴	*	ausente
I	–	–	*	*	–	–	–	–	<i>Aspergillus flavus</i> 10 ²	ausente
J	–	–	<i>Aspergillus flavus</i> 10 ³	<i>Aspergillus flavus</i> 10 ⁴	ausente	Ausente	<i>Aspergillus fumigatus</i> 10 ⁴	–	<i>Aspergillus fumigatus</i> 10 ³	*
L	<i>Aspergillus flavus</i> 10 ²	<i>Aspergillus flavus</i> 10 ³	–	–	–	–	–	<i>Aspergillus niger</i> 10 ²	–	–
M	*	*	–	*	–	–	–	–	–	–
N	–	<i>Aspergillus flavus</i> 10 ³	<i>Aspergillus flavus</i> 10 ⁴	–	ausente	<i>Aspergillus fumigatus</i> 10 ³	Ausente	–	–	–
O	–	–	*	–	–	–	–	–	–	–
P	–	–	*	*	–	–	–	–	–	–
Q	<i>Aspergillus flavus</i> 10 ²	–	–	–	<i>Aspergillus flavus</i> 10 ²	*	–	–	<i>Aspergillus flavus</i> 10 ⁴	–
R	–	–	–	*	–	–	–	–	–	–
S	–	<i>Aspergillus flavus</i> 10 ³	–	–	–	–	Ausente	–	–	–
T	–	–	–	<i>Penicillium sp.</i> 10 ²	–	*	–	–	–	–
U	–	–	–	–	<i>Penicillium sp.</i> 10 ³	*	–	<i>Penicillium notatum</i> 10 ²	*	–
V	–	–	–	–	–	–	Ausente	<i>Penicillium notatum</i> 10 ²	-	–
X	–	–	–	–	–	–	ausente	<i>A.flavus</i> 10 ³	<i>Penicillium sp.</i> 10 ³	–

*Bolor não identificado

Tabela 6- Avaliação da temperatura (°C) de estocagem dos iogurtes, no período de agosto de 2009 a julho de 2010, comercializados em dois pontos comerciais do Município de Patos –PB.

COLETAS										
AMOSTRAS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	11°C	–	–	–	11°C	–	9°C	–	9°C	–
B	7°C	15°C	9°C	–	8°C	16°C	–	–	9°C	6°C
C	5°C	9°C	6°C	8°C	–	–	11°C	8°C	–	–
D	10°C	–	8°C	–	–	–	–	–	–	–
E	9°C	–	–	–	–	–	–	–	–	–
F	6°C	–	–	–	–	–	–	8°C	–	–
G	9°C	9°C	–	4°C	10°C	8°C	7°C	10°C	6°C	8°C
H	–	12°C	–	7°C	11°C	14°C	8°C	8°C	–	9°C
I	–	–	4°C	5°C	–	–	–	–	9°C	6°C
J	–	–	3°C	9°C	13°C	17°C	8°C	–	8°C	7°C
L	5°C	7°C	–	–	–	–	–	5°C	–	–
M	3°C	6°C	–	–	–	–	–	–	–	–
N	–	6°C	4°C	–	9°C	15°C	7°C	–	–	–
O	–	–	7°C	–	–	–	–	–	–	–
P	–	–	4°C	4°C	–	–	–	–	–	9°C
Q	7°C	–	–	–	12°C	9°C	–	–	8°C	–
R	–	–	–	11°C	–	–	–	–	–	–
S	–	8°C	–	–	–	–	7°C	–	–	–
T	–	–	–	4°C	–	8°C	–	–	–	–
U	–	–	–	–	11°C	14°C	–	8°C	8°C	–
V	–	–	–	–	–	–	7°C	9°C	–	–
X	–	–	–	–	–	–	7°C	7°C	8°C	–

CONCLUSÕES

De acordo com esta pesquisa quanto a qualidade microbiológica e verificação das condições de estocagem dos iogurtes, pôde-se concluir que, dentre as amostras analisadas todas se encontravam dentro do critério de aceitação para coliformes totais e termotolerantes conforme a Instrução Normativa Nº46. Em relação às bactérias lácticas obtive-se amostras irregulares, bem como as condições de armazenamento.

Neste trabalho, ao analisar a presença de fungos (bolores e leveduras) constatou-se que de acordo com o critério de aceitação $\leq 2 \times 10^2$, amostras irregulares. Além disso, os bolores identificados são patogênicos oferecendo riscos à saúde pública, pela ingestão de micotoxinas. Portanto, faz-se necessário estabelecer temperatura de estocagem adequada de acordo com o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), bem como fiscalização desses produtos de origem animal.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, Y.A.; PINTO, E.M.; LIMA, A. A.; DIAS L.F.; CARVALHO, A.F. Qualidade microbiológica de iogurte comercializado na feira de Viçosa-MG. **Revista Higiene Alimentar**. Florianópolis. V.23, nº23, p.399-400, Mar/Abril 2009.

BIER, O. **Bacteriologia e imunologia**. 21ª Ed. São Paulo. Melhoramentos. 1981. p.501-510.

BRASIL, Ministério da saúde. ANVISA. **Detecção e Identificação dos Fungos de Importância Médica**. Módulo 7. 2004.

Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/microbiologia/mod_7_2004.pdf> 26 de setembro de 2009.

BRASIL, Ministério da Agricultura, pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa Nº46. De 23 de outubro de 2007. Regulamentos Técnico de Identidade e Qualidade de Leites fermentados**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/url>>. Acesso em: 16 de julho de 2010.

FEITOSA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle da mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. p.169.

HAJDENWURCEL, Judith Regina. **Atlas de microbiologia de alimentos**. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora Ltda., v.1, 1998, 65 p.

MELO, D. B.; CUNHA, A. C. S.; BITTENCOURT, L. R.; GÓIS, R. C. S.; ANJOS, T. Qualidade microbiológica de iogurtes comercializados no Estado da Bahia. **Revista Higiene Alimentar**. Florianópolis. V.23, nº23, 400, Mar/Abril 2009

MOREIRA, S. R.; SCHWAN, R. F.; CARVALHO, E. P.; FERREIRA, C. Análise microbiológica e química de iogurtes comercializados em Lavras-MG. **Ciência e tecnologia de alimentos**. Campinas, Jan/Abr 1999. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20611999000100027&script=sci_arttext&lng=es. Acesso em 13 de julho de 2010.

MORENO, I.; LEYRYER, A. L. S., LEITÃO, M. F. F. **Bacteriocinas de bactérias lácticas: utilização em laticínios e fatores que afetam a sua eficiência**. 2008. Artigo em Hipertexto . Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2008_3/bacteriocinas/index.htm>.: Acesso em 17 de maio de 2010.

PEREIRA, M. A.; ALMEIDA, D. M.; SAUER, E. Avaliação da concentração de bactérias lácticas viáveis em iogurtes com polpas de frutas. Série em ciência e tecnologia de alimentos: desenvolvimento em tecnologia d alimentos. SBN/ v.01, p. 07-13, 2007. Disponível em: http://www.pg.cefetpr.br/coali/livro/volume1/artigos/avaliacaodaconcentracao_artigo_02.pdf>.: acesso em 12 de julho de 2010.

RODAS, M. A. B.; RODRIGUES, R. M. M. S.; SAKUMA, H.; TAVARES, L. Z.; SGARBI, C. R.; LOPES, W. C. C. Caracterização físico-química, histológica e viabilidade de bactérias lácticas em iogurtes com frutas. **Ciência e tecnologia de alimentos**. Campinas, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v21n3/8547.pdf> >.: Acesso em 17 de julho de 2010.

SIGARINI, C. O.; **Avaliação bacteriológica da carne bovina desossada em estabelecimentos comerciais do município de Cuiabá – MT/Brasil**. 2004. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) Centro de Ciências Médicas. Universidade Federal Fluminense. Niterói.

SPAGNOL, C.; FERRO, D. M.; SOARES, D.; KONSKI, T. F.; CUCHI, L.; OLIVERA, W. X.; SILVEIRA, S. M. Aplicação da liofilização na obtenção de microrganismos viáveis para a elaboração de iogurtes. **Revista Ciências Exatas e Naturais**. Concórdia, v. 7, n° 2, p. 243-253, Jul/Dez 2005.

VIEIRA, S. **Introdução à bioestatística**, 2. ed. Campus: Rio de Janeiro, 1998. 216 p.