



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**QUALIDADE E INOCUIDADE MICROBIOLÓGICA DE DERIVADOS LÁCTEOS
FERMENTADOS PRODUZIDOS NO DISTRITO FEDERAL, BRASIL**

DIANA LIMA DOS REIS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

BRASÍLIA/DF
FEVEREIRO/2013



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**QUALIDADE E INOCUIDADE MICROBIOLÓGICA DE DERIVADOS LÁCTEOS
FERMENTADOS PRODUZIDOS NO DISTRITO FEDERAL, BRASIL**

DIANA LIMA DOS REIS

ORIENTADORA: PROFa. Dra. MÁRCIA DE AGUIAR FERREIRA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

PUBLICAÇÃO: 065 /2013

**BRASÍLIA/DF
FEVEREIRO/2013**



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

QUALIDADE E INOCUIDADE MICROBIOLÓGICA DE DERIVADOS LÁCTEOS
FERMENTADOS PRODUZIDOS NO DISTRITO FEDERAL, BRASIL

DIANA LIMA DOS REIS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL
COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU
DE MESTRE EM SAÚDE ANIMAL.

APROVADA POR:

MARCIA DE AGUIAR FERREIRA (ORIENTADOR)
Doutorado em Ciência Animal
Professor Adjunto Universidade de Brasília - DF

SIMONE PERECMANIS (EXAMINADOR INTERNO)
Doutorado em Patologia Molecular
Professor Adjunto Universidade de Brasília - DF

LUIS AUGUSTO NERO (EXAMINADOR EXTERNO)
Doutorado em Ciências dos Alimentos
Professor Adjunto Universidade Federal de Viçosa - MG

Brasília – DF, 21 de Fevereiro de 2013.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

REIS, D. L. **Qualidade e Inocuidade microbiológica dos derivados lácteos fermentados produzidos no Distrito Federal, Brasil**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2013. 76 f. Dissertação de Mestrado em Saúde Animal, Brasília, 2013.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de mestrado, empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor reserva para si os outros direitos autorais de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestre pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Reis, Diana Lima dos
Qualidade e Inocuidade microbiológica dos derivados lácteos fermentados produzidos no Distrito Federal, Brasil / Diana Lima dos Reis Orientação de Márcia de Aguiar Ferreira – Brasília, 2013. 76 p.
Dissertação de Mestrado (M) - Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2013.

1. Qualidade 2. Inocuidade 3 Microbiológica 4. . Derivados Lácteos Fermentados. I. Reis, D. L. II. Título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por mais esta oportunidade em minha vida para aumentar meus conhecimentos. Obrigada pela força nos momentos mais difíceis e pela alegria nos momentos de realizações.

À minha família que foi o instrumento para concretizar esta fase, que me deu forças e me guiou nesta caminhada. Obrigada por tudo.

Ao meu namorado Marcelo, pelo carinho, dedicação, paciência e incentivo.

À Márcia, minha orientadora, por ter aceitado me orientar e pelo empenho na realização do meu trabalho.

Às Professoras Verônica, Yolanda e Alinne, tanto como à técnica Lorena e a estagiária Alline, pela paciência e incentivo.

Aos meus amigos, técnicos dos laboratórios (Jaqueline, Emanuel, Anderson e Nara), funcionários (Kelly Cristina) e aos colaboradores dos laticínios, por me ajudarem, quando e como puderam, e acreditarem no meu trabalho.

Finalmente, a todos que fizeram parte desta longa e difícil jornada, os meus mais sinceros agradecimentos e que Deus em sua infinita misericórdia derrame suas bênçãos, como raios de luz sobre todos. Muito obrigada.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| RESUMO | X |
| ABSTRACT | XI |
| CAPÍTULO I | 1 |
| INTRODUÇÃO | 1 |
| REFERENCIAL TEÓRICO | 2 |
| 1. Histórico..... | 2 |
| 2. Leites fermentados..... | 3 |
| 2.1 Iogurte..... | 4 |
| 2.2 Leite fermentado ou cultivado..... | 10 |
| 2.3 Leite acidófilo..... | 10 |
| 2.4 Kefir..... | 12 |
| 2.5 Kumys..... | 16 |
| 2.6 Coalhada..... | 18 |
| 3. Produção e Consumo de Leites Fermentados no Brasil..... | 20 |
| 4. Características Nutricionais dos Produtos Lácteos Fermentados..... | 20 |
| 5. Bebida Láctea..... | 22 |
| 5.1 Bebida Láctea Fermentada..... | 22 |
| 6. Qualidade dos Derivados Lácteos no Brasil e no Mundo..... | 25 |
| OBJETIVOS | 27 |
| REFERÊNCIAS | 28 |
| CAPÍTULO II | 38 |
| INTRODUÇÃO | 38 |
| MATERIAIS E MÉTODOS | 40 |
| Colheita das amostras..... | 40 |
| Processamento das amostras..... | 41 |
| Diluições..... | 41 |
| Análises microbiológicas..... | 41 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO | 43 |
| Contagens de Micro-organismos Aeróbios Mesófilos..... | 44 |
| Contagens de Coliformes Totais e <i>Escherichia coli</i> | 44 |
| Contagem de <i>Staphylococcus coagulase positivo</i> | 46 |
| Contagem de bolores e leveduras..... | 47 |
| Contagem de micro-organismos psicrotróficos..... | 48 |
| Contagem total de bactérias ácido lácticas viáveis..... | 48 |
| CONCLUSÃO | 50 |
| REFERÊNCIAS | 51 |
| CAPÍTULO III | 56 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS | 56 |
| ANEXOS | 58 |

LISTA DE TABELAS

Capítulo II

| | |
|--|----|
| Tabela 01. Classificação das amostras (n=105) de produtos coletados no período de abril a novembro de 2012, quanto a adição ou não de polpa de fruta, Brasília, 2013. | 40 |
| Tabela 02. Classificação de lotes (n=21) de leites fermentados e de bebida láctea fermentada, quanto ao atendimento aos padrões vigentes, colhidos em laticínios do Distrito Federal, no período de abril a novembro de 2012, Brasília, 2013..... | 43 |
| Tabela 03. Resultados das médias das contagens obtidas nas análises microbiológicas de amostras de iogurte (n=65) colhidas em laticínios do Distrito Federal, no período de abril a novembro de 2012, Brasília, 2013..... | 49 |
| Tabela 04. Resultados das médias das contagens obtidas nas análises microbiológicas de amostras de coalhada (n=20) colhidas em laticínios do Distrito Federal, no período de abril a novembro de 2012, Brasília, 2013..... | 49 |
| Tabela 05. Resultados das médias das contagens obtidas nas análises microbiológicas de amostras de bebida láctea fermentada (n=20) colhidas em laticínios do Distrito Federal, no período de abril a novembro de 2012, Brasília, 2013. | 49 |
| Tabela 06. Resultados das análises microbiológicas de amostras de iogurte (n=65) colhidas em laticínios do Distrito Federal, no período de abril a novembro de 2012, Brasília, 2013. | 59 |
| Tabela 07. Resultados das análises microbiológicas de amostras de coalhada (n=20) colhidas em laticínios do Distrito Federal, no período de abril a novembro de 2012, Brasília, 2013 | 62 |
| Tabela 08. Resultados das análises microbiológicas de amostras de bebida láctea (n=20) colhidas em laticínios do Distrito Federal, no período de abril a novembro de 2012, Brasília, 2013. | 63 |
| Tabela 09. Frequência de distribuição da contagem de aeróbios mesófilos nas amostras coletadas (n=105)..... | 64 |
| Tabela 10. Frequência de distribuição da contagem de coliformes (35°C) nas amostras coletadas (n=105)..... | 64 |
| Tabela 11. Frequência de distribuição da contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva nas amostras coletadas (n=105). | 64 |
| Tabela 12. Frequência de distribuição da contagem de bolores e leveduras nas amostras coletadas (n=105)..... | 64 |
| Tabela 13. Frequência de distribuição da contagem de psicrotóxicos nas amostras coletadas (n=105)..... | 65 |
| Tabela 14. Frequência de distribuição da contagem de bactérias ácido lácticas nas amostras coletadas (n=105)..... | 65 |

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo I

| | |
|--|----|
| Figura 2.1.1 - Diagrama geral de produção de iogurte. | 6 |
| Figura 2.1.2 - Curva de desenvolvimento simbiótico da cultura láctica durante a fermentação do iogurte. F = fator de multiplicação do micro-organismo | 8 |
| Figura 2.1.3 - Crescimento simbiótico de <i>Streptococcus thermophilus</i> e <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> | 9 |
| Figura 2.3.1 - Fluxograma de produção de leite acidófilo | 11 |
| Figura 2.4.1 - Esquema representativo da produção de kefir tradicional utilizando os grãos de kefir..... | 14 |
| Figura 2.4.2 - Esquema de produção de kefir usando cultura comercial direto na cuba..... | 15 |
| Figura 2.5.1 - Fluxograma de preparação tradicional de Kumys | 18 |
| Figura 5.1.1 - Esquema simplificado da tecnologia de fabricação de bebida láctea fermentada. | 24 |

Capítulo II

| | |
|--|----|
| Figura 1. Ocorrência dos lotes (n=21) de leites fermentados e bebidas lácteas fermentadas de laticínios do Distrito Federal no período de abril a novembro de 2012, classificados como aceitável, marginalmente aceitável e inaceitável, Brasília, 2013. | 43 |
|--|----|

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

RTIQ – Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade

BAL – Bactérias Ácido Láticas

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

DIPOVA – Diretoria de Inspeção de Produtos de Origem Vegetal e Animal

MERCOSUL – Mercado Comum do Sul

DF – Distrito Federal

RESUMO

QUALIDADE E INOCUIDADE MICROBIOLÓGICA DOS DERIVADOS LÁCTEOS FERMENTADOS PRODUZIDOS NO DISTRITO FEDERAL, BRASIL.

Considerando a crescente importância que os derivados lácteos fermentados vêm assumindo no mercado nacional, a escassez de estudos sobre o tema e, a inexistência de pesquisas no Distrito Federal (DF), essa pesquisa teve como objetivo, avaliar a qualidade e a segurança microbiológica destes produtos no DF e sua adequação aos padrões vigentes. Essa pesquisa foi desenvolvida em cinco laticínios localizados no DF, sendo coletadas 105 amostras de derivados lácteos fermentados correspondentes a 21 lotes (n=5 por lote), com 65 amostras de iogurte, 20 de coalhada e 20 de bebida láctea fermentada. Todas as amostras foram submetidas à contagem de aeróbios mesófilos, coliformes a 35°C, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase positivo, bolores e leveduras e bactérias ácido lácticas viáveis. Dos 21 lotes analisados, 62% foram considerados aceitáveis segundo as Instruções Normativas nº 46/2007 e nº 16/2005, sendo que, em ordem de qualidade, a bebida láctea fermentada foi a que apresentou mais lotes aptos ao consumo (75%), seguido do iogurte (61,5%) e, por último, da coalhada (50%). A maioria dos derivados lácteos fermentados analisados (80%) atendeu aos critérios de qualidade estabelecidos pelas normas vigentes sendo classificados como aceitáveis e aptos ao consumo em relação à presença de CT (acima de 80% das amostras) e de BALs (acima de 70% das amostras). 70% das amostras coletadas apresentaram valores abaixo do parâmetros exigidos pela legislação para bolores e leveduras, entretanto 16,9% das amostras de iogurtes adicionados de polpa de frutas, apresentaram contagens acima do estabelecido pela legislação vigente, sendo necessário maior rigor na seleção dos ingredientes utilizados na fabricação destes derivados e fiscalização efetiva nos laticínios.

Palavras chave: qualidade; inocuidade; iogurte; coalhada; bebida láctea fermentada; microbiológica.

ABSTRACT

QUALITY AND SAFETY OF MICROBIOLOGICAL FERMENTED DAIRY PRODUCTS PRODUCED IN FEDERAL DISTRICT, BRAZIL.

Considering the increasing importance of fermented dairy derivatives have gained in the domestic market, the shortage of studies on the topic and the lack of research in the Federal District (DF), this study aimed to evaluate the microbiological quality and safety of these products in DF and its suitability to current standards. This research was conducted in five dairy located in DF, being collected 105 samples of fermented dairy products (yogurt, curds and fermented dairy drinks), corresponding to 21 lots (n = 5 per lot), with 65 samples of yogurt, curd 20 and 20 fermented milk drink. All samples were submitted to a count of aerobic mesophilic, coliforms at 35°C, *Escherichia coli*, *Staphylococcus coagulase positivo*, molds and yeasts and viable lactic acid bacteria (BAL). Of the 21 lots, 62% were considered acceptable according to the Normative Instructions n° 46/2007 and n° 16/2005, and, in order of quality, fermented dairy drink was the one with lots more apt to consumption (75%) followed by the yogurt (61.5%) and finally curd (50%). Most fermented dairy products analyzed (80%) met the quality criteria set by the current standards being classified as acceptable and apt for consumption in the presence of CT (above 80% of samples) and BALs (above 70% samples). 70% of the samples had values below the parameters required by legislation for yeasts and molds, however 16.9% of the samples of yogurt added fruit pulp showed counts above established by current legislation, being necessary more rigor in the selection of ingredients used to manufacture these derivatives and effective monitoring the dairy.

Keywords: quality, safety, yoghurt, curd, fermented dairy drink; microbiological.

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

Atualmente, observa-se uma mudança nos hábitos alimentares da população, uma vez que, devido aos avanços da ciência e ao fácil acesso a informação, os consumidores passaram a se preocupar mais com as questões de saúde e a buscar alimentos que contribuam para uma vida mais saudável e de qualidade. Estes conceitos, na visão atual do consumidor, englobam não só as características de sabor, aroma, aparência e padronização do alimento, mas também a preocupação em adquirir alimentos que não causem danos à saúde (LIMA FILHO, 1999; SOUZA *et al.*, 2003; VIEIRA, 2009).

Além disso, com a maior expectativa de vida da população, são grandes os desafios para prevenir problemas graves de saúde pública como a obesidade, doenças cardiovasculares e diabetes em países desenvolvidos e subdesenvolvidos. Os consumidores, além de buscarem alimentos com propriedades funcionais, estão modificando seus hábitos alimentares como a redução na dieta de quantidade de gordura, açúcar, sal, colesterol e de certos aditivos (MORAES e COLLA, 2006; VIEIRA, 2009)

Com isso, observa-se um significativo aumento na demanda por alimentos nutritivos e seguros. As indústrias de alimentos, comprometidas com a promoção da

saúde e a prevenção de doenças, têm desenvolvido e aplicado tecnologias para a produção de alimentos funcionais, de baixo teor de calorias, vitaminados, com adição de minerais, entre outros. (PIMENTEL *et al.*, 2005; TEIXEIRA, 2006; VIEIRA, 2009)

Essa preocupação se deve ao grande número de produtos alimentícios existentes hoje no mercado e à tendência atual de se ingerir produtos denominados como naturais. Dada à importância destes alimentos, os produtos lácteos fermentados são uma das opções. Entre eles, os leites fermentados e a bebida láctea fermentada, que são fontes de cálcio e proteínas de baixo custo de produção e baixo preço final para o consumidor, por poderem carrear probióticos e serem reconhecidos como produtos saudáveis. E por isso, têm seu reconhecimento pelos profissionais de saúde que estimulam o seu consumo (ROBINSON, 1991; SALINAS, 1986; THAMER e PENNA, 2006)

Entretanto, há poucos estudos avaliando a microbiota dos derivados lácteos fermentados e, na sua maioria, apresentam resultados acima do permitido pela legislação vigente. Rodrigues e Santos (2006) relatam que 14 (28,57%) amostras de bebidas lácteas analisadas em Uberlândia estavam contaminadas por bolores e leveduras acima do permitido pela legislação vigente, 39 (17,97%) amostras de iogurte não continham bactérias ácido lácticas suficientes e 5,13% apresentaram contagens de coliformes termotolerantes acima do permitido.

No caso do Distrito Federal e região do entorno, essas pesquisas são inexistentes, sendo que a região conta com cinco estabelecimentos beneficiadores de derivados lácteos fermentados que atendem parcialmente à demanda, havendo necessidade de comercializar esses lácteos, oriundos de diferentes regiões do Brasil, para comercialização no DF.

Tendo em vista a importância desses produtos para a alimentação humana, a escassez de pesquisas sobre o tema e a inexistência de estudos sobre esses derivados na região, objetivou-se avaliar a qualidade e a segurança microbiológica de leites fermentados (iogurte e coalhada) e de bebidas lácteas fermentadas, produzidos e comercializados por laticínios do Distrito Federal e região do entorno.

REFERENCIAL TEÓRICO

1. Histórico

O consumo de leites fermentados por seres humanos remota ao início da civilização, uma vez que os resíduos destes produtos foram encontrados em fragmentos de cerâmica do Neolítico, Bronze e em assentamentos da Idade dos Metais na Grã-Bretanha (MCKINLEY, 2005). Admite-se que o consumo inicial de fermentados ou produtos lácteos cultivados, como iogurte, manteiga e queijo, ocorreu em uma época em que eram reconhecidos como meios eficazes de prolongar a vida de prateleira de leite (TAMIME E ROBINSON, 2007). Assim, o método de conservação mais antigo, do qual resultam os leites fermentados, é a acidificação (TAMIME E DEETH, 1980).

A produção deste tipo de leite no período Neolítico (entre 5.000 a 3.500 a.C) ocorreu quando pastores passaram a se alimentar com o leite de animais domesticados. Armazenado em marmitas de barro, o leite ficava exposto às altas temperaturas do deserto, fermentava e originava um tipo de iogurte. Outra teoria sobre a origem vem da Turquia, onde o leite fresco era guardado em sacos feitos de pele de cabra. Transportados por camelos, os sacos em contato com o calor do corpo do animal favoreciam a multiplicação de bactérias lácticas e transformavam o leite em iogurte (ROBERT, 2008).

Conforme ROBINSON (2002), o iogurte foi feito em agregados individuais ou em uma escala limitada comunal no Oriente Médio. O conhecimento da microbiologia não existia, mas, por utilizarem os mesmos utensílios e os vasos serem usados dia após dia, uma típica microbiota evoluiu. Geralmente, o iogurte “velho” tinha sido utilizado para iniciar a fermentação de um novo lote de leite e, dadas as altas temperaturas ambientes da região, a seleção natural de uma microbiota termofílica tornou-se inevitável. As vantagens foram evitar a deterioração do excedente do leite cru, pois leite cru estraga em poucas horas no ambiente ($20 \pm 25^{\circ}\text{C}$), e a derivação de um agradável, nutritivo e organoléptico complemento da dieta e com uma vida de armazenamento, não refrigerado, de vários dias.

2. Leites fermentados

Leites fermentados são produtos alimentícios a base de leite, pasteurizado ou esterilizado, de diferentes espécies (vaca, ovelha, cabra e, em alguns casos, búfala e égua) que sofre um processo fermentativo modificando suas propriedades sensoriais, resultante da ação de bactérias específicas, obtendo-se uma coagulação e diminuição

do pH do leite (ORDÓÑEZ-PEREIRA *et al.*, 2005). Podem ser adicionados ou não, de outros produtos lácteos para a fermentação láctica e de outras substâncias alimentícias, mas que não interfiram no processo de fermentação do leite pelos fermentos lácteos empregados (BRASIL, 2007).

As bactérias mais utilizadas pela indústria de alimentos para a fermentação do leite fazem parte do grupo das bactérias ácido lácticas, embora algumas leveduras também possam ser utilizadas (PIMENTEL, 2005). Esses micro-organismos específicos devem permanecer viáveis, ativos e abundantes no produto final e durante seu prazo de validade (BRASIL, 2007; RITTER, 2012).

O leite destinado à fabricação de leites fermentados deve apresentar uma baixa contagem de micro-organismos, para que se possa garantir um produto final com as características desejáveis de sabor e textura, além da segurança alimentar exigida pelo consumidor, uma vez que os micro-organismos podem competir os adicionados pela cultura láctica e interferir nas características do produto final (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Em diversos países, a fermentação do leite é feita por diferentes métodos, resultando em variados produtos de leite fermentados. Os produtos variam, consideravelmente, em composição, “flavor” e textura, de acordo com a natureza dos micro-organismos fermentadores, do tipo de leite e do processo usado na fabricação (DEETH E THAMINE, 1981; ROBINSON E TAMINE, 1990). Entre os leites fermentados, a legislação brasileira regulamenta os seguintes tipos: iogurte, leite fermentado ou cultivado, leite acidófilo, kefir, kumys e coalhada (BRASIL, 2007).

2.1 Iogurte

O iogurte é o leite fermentado mais importante do ponto de vista econômico e, um dos poucos alimentos mais conhecidos e de maior consumo em todos os níveis populacionais há mais de 4.500 anos (MORAES, 2004; ORDÓÑEZ-PEREIRA *et al.*, 2005). A origem do iogurte ainda não é totalmente conhecida, mas há vários episódios, espalhados pelo mundo, que podem estar na base do seu aparecimento na antiguidade. Não é difícil imaginar como as tribos nômades adquiriram a arte de conservar o leite que produziam mediante o armazenamento em odres e recipientes de cerâmica ou de peles de animais, onde o leite fermentava graças à flora láctica que chegava a ela acidentalmente após a ordenha. Logo observaram que o leite se

transformava em um produto apetecível cuja vida útil era mais prolongada que a matéria prima (ORDÓÑEZ-PEREIRA *et al.*, 2005).

Ribeiro *et al.* (2010) afirmam que a Bulgária foi um dos primeiros países a consumi-lo, e o divulgou para o restante do mundo. Os primeiros iogurtes comerciais foram produzidos na França e na Espanha, em 1920, e nos Estados Unidos, em 1940. Somente a partir da década de 1960 foi que houve um aumento no consumo deste produto, devido a melhorias nas técnicas de processamento e reconhecimento de sua qualidade nutritiva e função terapêutica. No Brasil, Krolow (2008) afirma que o iogurte foi introduzido nos anos de 1930, com a imigração europeia a partir de um pequeno grupo de consumidores; entretanto, o consumo só foi considerado significativo a partir de 1970. Na atualidade, os maiores consumidores de iogurtes são Ásia e Europa Central, sendo Bulgária o país de maior consumo *per capita*.

O iogurte, sendo um leite fermentado, também apresenta vantagens sobre a saúde dos consumidores, por se tratar de um alimento altamente nutritivo, rico em proteínas, cálcio e fósforo, com baixo teor de gorduras e fonte apropriada de minerais como zinco e magnésio. É especialmente recomendado para gestantes, lactantes, pessoas idosas ou que necessitem de reposição de cálcio e por apresentar uma elevada concentração de vitaminas (B6 e B12) comparada ao leite *in natura* (OLIVEIRA, 1993; ROCHA *et al.*, 2008).

O seu processo de produção é dividido em, aproximadamente, quatro fases gerais: preparo prévio do leite (normalização, filtração, desaeração, homogeneização, tratamento térmico e inoculação da cultura láctea), incubação, resfriamento e acondicionamento (Figura 2.1.1).

Existem, atualmente, no mercado três tipos de iogurte classificados de acordo com o processo de elaboração, adição de ingredientes, composição, consistência e textura. São eles (ROBINSON, 2002; TAMIME E DEETH, 1980):

- Iogurte tradicional (*set yogurt*): no qual o processo de fermentação ocorre dentro da própria embalagem, não sofre homogeneização e o resultado é um produto firme, mais ou menos consistente;
- Iogurte batido (*stirred yogurt*): o processo de fermentação ocorre em fermentadeiras ou incubadoras com posterior quebra do coágulo;

- iogurte líquido (*fluid yogurt*): o processo de fermentação é realizado em tanques; é comercializado em embalagens plásticas tipo garrafa ou do tipo cartonadas.

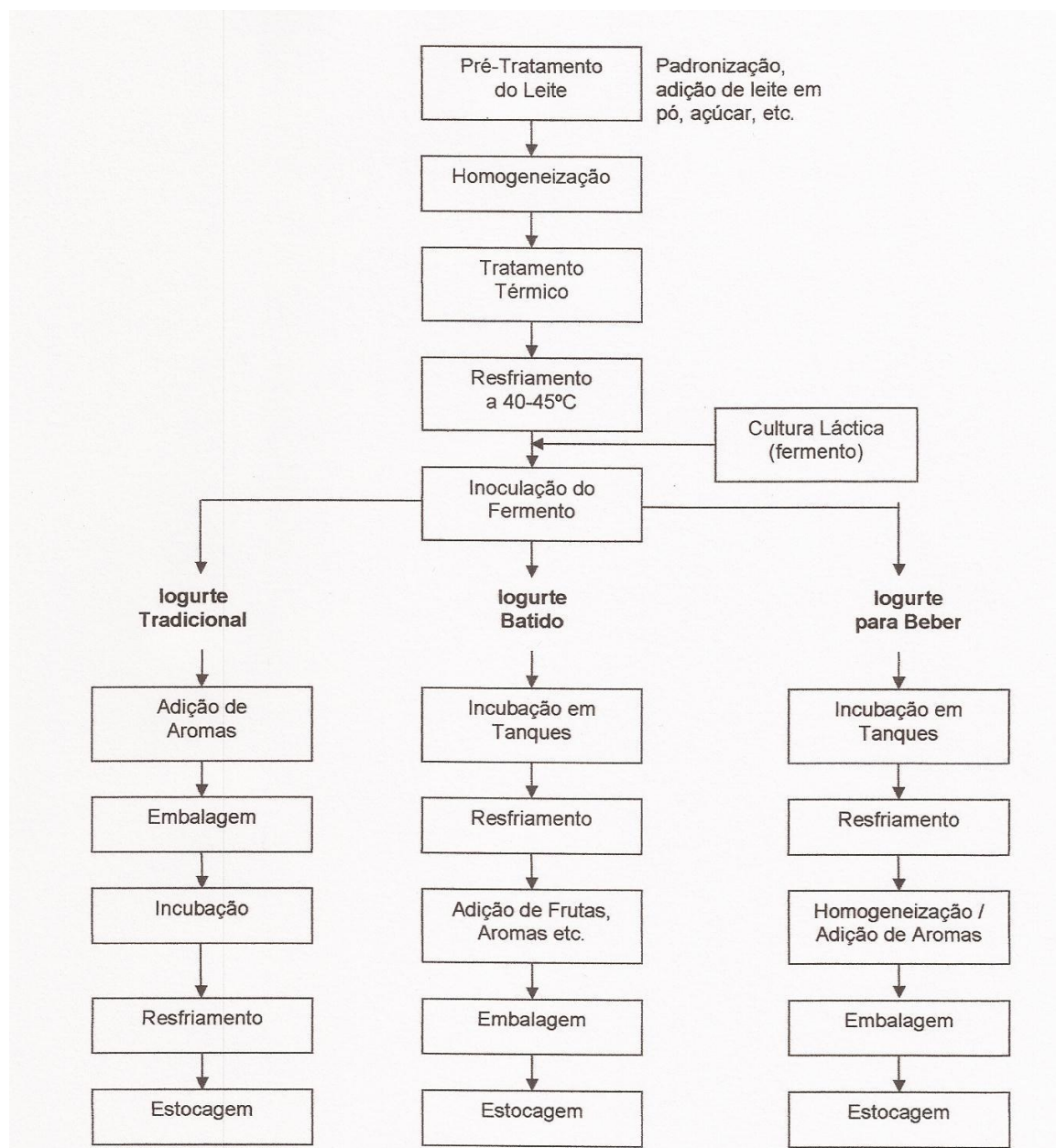


Figura 2.1.1 - Diagrama geral de produção de iogurte.
Fonte: KARDEL e ANTUNES, 1997.

A indústria de iogurte está mais centrada no iogurte batido, pois este permite aos produtores adicionar estabilizantes para prevenir a sinérese (separação da água do coágulo) durante a vida de prateleira (LUCEY E SINGH, 1998).

A consistência e viscosidade do coágulo são de grande importância, pois quanto maior o conteúdo em sólidos da mistura destinada à elaboração do iogurte,

maior a propriedade física no produto final. A prática utilizada nas indústrias é a adição de leite em pó (integral, semidesnatado ou desnatado), com o objetivo de alcançar a concentração de sólidos necessária para a melhor consistência do iogurte (TAMIME E ROBINSON, 1991).

Há culturas *starter* específicas que são utilizadas na produção do iogurte, cuja fermentação se realiza com cultivos protossimbióticos de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subespécie *bulgaricus*, em proporção de 1:1, às quais se pode multiplicar, de forma complementar, outras bactérias ácido-láticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final (BRASIL, 2007; JAY, 2005).

Streptococcus thermophilus são cocos de menos de 1µm de diâmetro, que formam cadeias, Gram positivos, microaerófilos, produzem L- lactato, acetaldeído e diacetil (a partir da lactose no leite), e algumas cepas produzem exopolissacarídeos. Para isso, requerem vitaminas do grupo B e alguns aminoácidos como estimulantes de multiplicação, além de uma temperatura ótima de 37°C, mas a maior parte das cepas se multiplica a 50°C e são termodúricos, que sobrevivem à pasteurização (DUWAT *et al.*, 2001; FORSYTHE, 2002; ORDÓÑEZ-PEREIRA *et al.*, 2005).

Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus* são bacilares, de 0,5 a 0,8 µm de espessura e 2 a 9 µm de comprimento; aparecem em cadeias curtas ou de forma individualizada; produzem D-lactato e acetaldeído a partir da lactose do leite e, diferentemente das outras subespécies, *delbrueckii* e *lactis*, só produzem lactato. Como os estreptococos, algumas cepas também produzem exopolissacarídeos. Com relação à temperatura, multiplicam muito devagar abaixo de 10°C, sendo que a maioria das cepas pode multiplicar entre 50 e 55°C (ORDÓÑEZ-PEREIRA *et al.*, 2005). Além disso, esta bactéria possui propriedades como: deter o crescimento descontrolado de leveduras (*Candida* spp.) do intestino grosso ao delgado; atuar na produção de lactase (a enzima responsável pela quebra da molécula da lactose no trato digestivo) e apresentar natureza proteolítica, podendo facilmente quebrar proteínas e ampliar a biodisponibilidade de minerais, especialmente o cálcio (SAAD, 2006).

Há uma controvérsia entre autores, uma vez que, de acordo com Haully *et al.* (2005), os micro-organismos *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* são resistentes à bile e à acidez e mantêm a viabilidade

celular necessária para caracterizar o iogurte como produtor de substâncias com efeito probiótico. Mas para Lourens-Hattingh e Viljoe (2001), Shah (2000); e Vinderola *et al.* (2000) estas duas bactérias tradicionais utilizadas na fermentação do iogurte não pertencem à microbiota intestinal, não são resistentes à bile e conseqüentemente, são inativadas na passagem através do trato gastrointestinal. Não são, portanto, consideradas como probióticas. Para serem considerados alimentos com micro-organismos probióticos, além dessas culturas tradicionais, recentemente tem-se adicionado linhagens vivas de *Lactobacillus acidophilus* e espécies de *Bifidobacterium* nos iogurtes.

Os cultivos de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, em sua relação simbiótica utilizam a lactose como substrato energético e liberam ácido láctico. Ambos os micro-organismos são termófilos e homofermentativos (TAMIME E DEETH, 1980; SABOYA *et al.*, 1997).

Essa relação de simbiose ou protocooperação, existente entre os dois micro-organismos durante o processo fermentativo de produção do iogurte, é assim denominada por não existir dependência entre eles para a sua sobrevivência. Entretanto, essas bactérias produzem mais ácido láctico na forma de cultura mista, ou seja, em simbiose, do que quando utilizadas como culturas isoladas (THAMER E PENNA, 2005), conforme Figura 2.1.2 e Figura 2.1.3.

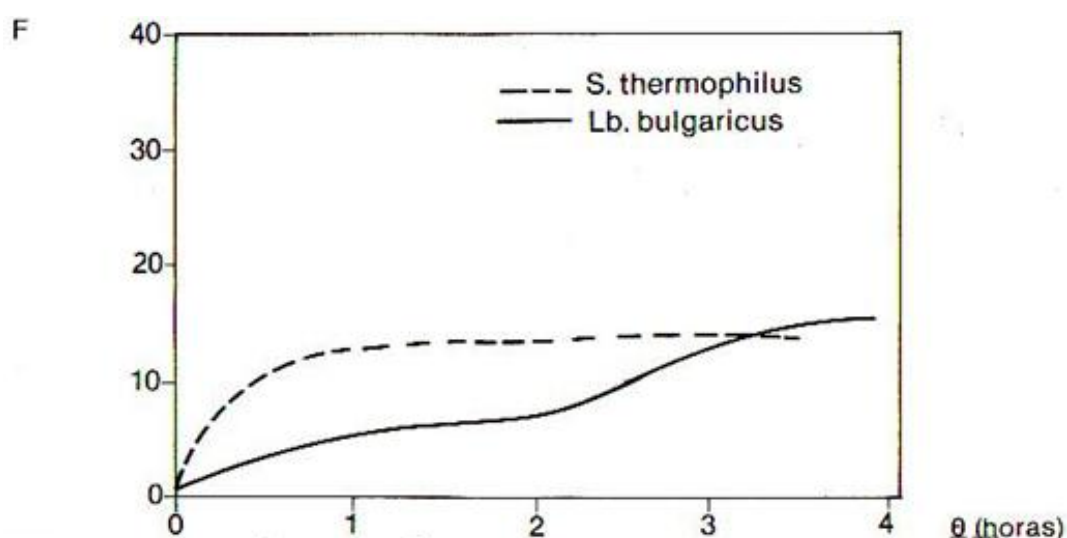


Figura 2.1.2 - Curva de desenvolvimento simbiótico da cultura láctica durante a fermentação do iogurte. F = fator de multiplicação do micro-organismo.

Fonte: PEREIRA *et al.*, 2012.

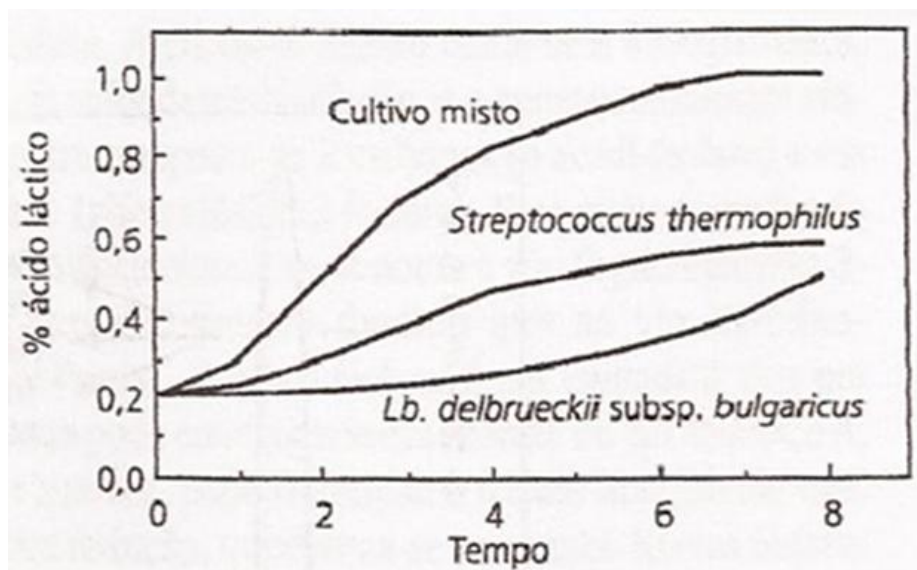


Figura 2.1.3 - Crescimento simbiótico de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*.

Fonte: ORDÓÑEZ-PEREDA *et al.*, 2005.

No início da fermentação, o pH do leite favorece o desenvolvimento de *Streptococcus thermophilus* que proporcionará, em seguida, um ambiente favorável de *Lactobacillus bulgaricus* com o aumento da acidificação (do teor de ácido láctico). Esta acidez é oriunda da lactose, onde há liberação de ácido fórmico e de gás carbônico. Esta última bactéria é proteolítica, obtém aminoácidos a partir da caseína (glicina, histidina, valina) e produz acetaldeído em maior quantidade, componente volátil que é responsável pelo aroma agradável do iogurte (FERREIRA, 2005; SÁ, 2007; VARNAM E SUTHERLAND, 1995; VEISSEYRE, 1998), seguido por acetona, 2-butanona, diacetil e acetoina (TAMIME E ROBINSON, 1991).

Com o aumento da acidez, o pH fica próximo de 4,6 (ponto isoelétrico da proteína do leite) e o ácido láctico contribui para a desestabilização da micela de caseína provocando a coagulação e resultando em uma concentração de ácido láctico de 0,9%. O gel deve ser liso, brilhante, sem desprendimento de soro ou de gases. No final da fermentação, a proporção entre os dois micro-organismos é de 1:1 (SÁ, 2007; TAMIME E ROBINSON, 1991).

Até este momento a relação é de simbiose, a partir disto começa a antibiose, quando uma grande quantidade de ácido láctico é acumulada no meio e o pH excessivamente reduzido, começa a inibir o desenvolvimento de *Streptococcus thermophilus*. *Lactobacillus delbrueckii*, por ser mais resistente à acidez, aumenta em número e sobrepuja o desenvolvimento de *Streptococcus thermophilus*. Em condições

de pH de 4,3, a multiplicação das duas bactérias passa a ser inibido (FERREIRA, 2005). No final da vida de prateleira do iogurte, que é de aproximadamente 45 dias, esta antibiose (maior multiplicação de *Lactobacillus*) pode gerar sabor desagradável (muito ácido) e deessoramento do produto pela coagulação proteica, diminuindo sua aceitabilidade (WALSTRA *et al.*, 1999). Por isso, é de extrema importância que exista um balanço adequado entre as contagens de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*. A predominância de qualquer uma das espécies pode acarretar em defeitos para o produto final.

Os principais fatores que podem afetar este balanço entre os dois microorganismos são a relação de tempo e temperatura de incubação e a porcentagem do inóculo. Por exemplo, um tempo menor de incubação resultaria em um produto com maior proporção de cocos e com um sabor fraco. Por outro lado, um tempo maior de incubação ou de resfriamento inadequado favoreceria a predominância de bacilos resultando num produto com sabor amargo (WALSTRA *et al.*, 1999). Para Forsythe (2002) a fermentação lenta por culturas starter também gera este desbalanço, pois pode possibilitar a multiplicação de *Staphylococcus coagulase positivo* até números suficientes para produzir enterotoxinas em quantidade suficiente para produzir vômito.

2.2 Leite fermentado ou cultivado

De acordo com a definição contida na legislação vigente, entende-se por leite fermentado ou cultivado o produto incluído na definição de iogurte cuja fermentação se realiza com um ou vários dos seguintes cultivos: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium ssp*, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e/ou outras bactérias ácido lácticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final (BRASIL, 2007).

2.3 Leite acidófilo

O leite acidófilo ou acidofilado é um leite fermentado produzido mediante a inoculação, exclusivamente, de cultivos de *Lactobacillus acidophilus* em leite, sendo sua principal função a produção de ácido láctico (BRASIL, 2007). O processo de fabricação do leite acidófilo (Figura 2.3.1) é semelhante ao do iogurte, ao qual o leite é pasteurizado e em seguida é inoculado uma cultura starter (no caso só com cultivos de *Lactobacillus acidophilus*) até atingir acidez máxima de 2%. Seguido de

resfriamento, quebra do coágulo e envase. Sua forma de conservação é a 4°C. (WALSTRA *et al.*, 2006)

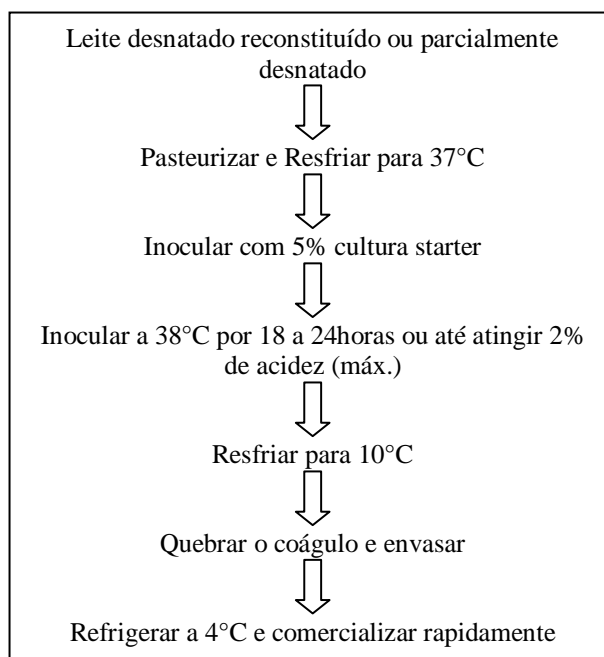


Figura 2.3.1 - Fluxograma de produção de leite acidófilo
Fonte: WALSTRA *et al.*, 2006.

Os lactobacilos usados na fabricação do leite acidófilo contribuem com o sabor e aroma em alimentos fermentados, produzindo vários compostos voláteis, como o diacetil e seus derivados. Além disso, *Lb. acidophilus* é considerado uma bactéria probiótica, e tem sido reivindicado para conferir vários benefícios para a saúde. Ainda, apresentam a capacidade de resistir a baixas tensões superficiais e ao suco gástrico (SILVA e STAMFORD, 2000; WALSTRA *et al.*, 2006).

Foi comprovada também a importância da utilização do *Lb. acidophilus* no tratamento de diarreia infantil, constipação intestinal e reposição de microbiota intestinal após 15 tratamentos prolongados com e depois do uso de antibióticos. A literatura indica dados favoráveis à implantação do *Lb. acidophilus* no intestino grosso. Suas linhagens utilizadas na elaboração do leite acidófilo e de outros produtos fermentados são selecionadas de acordo com a capacidade de se multiplicar bem no leite e no trato intestinal humano (FERREIRA, 2001).

Esta bactéria ocorre naturalmente no trato gastrintestinal de seres humanos e animais, bem como na boca humana e na vagina, e em alguns produtos lácteos fermentados tradicionais, como o kefir. Contém quase obrigatoriamente bactérias

homofermentativas sendo o ácido láctico o produto final principal, no entanto, alguns são heterofermentativos facultativos (CHANDAN *et al.*, 2008).

Lb. acidophilus são bactérias gram-positivas, catalase negativas, anaeróbias a microaerófilas e possuem formato de bastonetes (FRANCO *et al.*, 1996). Devido à sua natureza de microaerofilia, a multiplicação da superfície em meios sólidos é geralmente reforçado pela condição anaeróbica ou de reduzida pressão de oxigênio. Os organismos requerem hidratos de carbono como energia e fonte de carbono, bem como nucleótidos, aminoácidos e vitaminas. *Lb. acidophilus* utiliza sacarose de forma mais eficaz do que a lactose. E embora o crescimento ocorra também em temperaturas de 45°C, a faixa de temperatura ideal de crescimento de *Lb. acidophilus* é entre 35 e 40°C, sendo a temperatura ótima de 37°C.

A tolerância de ácido varia de 0,3 a 1,9% de acidez titulável, com um crescimento ótimo em pH 5.5 - 6.0 (SHAH, 2000). Por causa de baixo teor de peptídeos e aminoácidos disponíveis no leite, *Lb. acidophilus* tende a multiplicar lentamente neste meio (CHANDAN *et al.*, 2008).

2.4 Kefir

O kefir é uma bebida originária das montanhas caucasianas da ex-União Soviética, Mongólia e sudoeste da Ásia (FARNWORTH, 2005; WALSTRA *et al.*, 2006). É fabricado sob uma variedade de nomes, incluindo kefir, kiaphur, kefer, knapon, kepi ou kippi, sendo cremosa, cintilante e a base de leite ácido. Sua produção artesanal ocorre em países de forma generalizada como Argentina, Taiwan, Portugal, Turquia e França (FARNWORTH, 2005). Em países soviéticos, o kefir tem sido recomendado para o consumo por seus efeitos terapêuticos, a fim de reduzir o risco de doenças crônicas com a estimulação do sistema imune. Ainda, tem sido demonstrado por diversos estudos, que o kefir pode ser utilizado para tratamento clínico de doenças metabólicas e gastrointestinais, hipertensão, doença isquêmica do coração e alergias (CHEN *et al.*, 2008; FARNWORTH, 2005; HERTZLER e CLANCY, 2003; HONG *et al.*, 2005; LIU *et al.*, 2006, NINANE *et al.*, 2009).

O produto é único, pois possui o inoculante, isto é, os grãos kefir, que são recuperados após o processo de fermentação, em peneiração ou filtração do leite. Tradicionalmente, esta fermentação do leite era realizada em peles de cabra, panelas de barro, ou baldes de madeira com leite de vacas, cabras, ovelhas, camelos, búfalos

ou era utilizada como substrato de fermentação. Outros substratos para a produção de kefir incluem leite de soja, sucos de frutas, açúcar ou melaço (RATTRAY E O'CONNELL, 2011)

Os grãos têm forma irregular (às vezes, lembrando uma couve-flor), podem ser brancos ou amarelos, de consistência elástica e com diâmetro muito variado (1 a 30 mm), dependendo das condições de cultivo e manejo. Estes grãos podem conter uma microbiota variável, com diversas leveduras e bactérias agrupadas de forma organizada que coexistem em uma relação simbiótica dentro do grão de kefir (ORDÓÑEZ-PEREDA *et al.*, 2005).

Esta microbiota do grão de Kefir é composta por cerca de 65-80% de lactobacilos, 10-15% de leveduras e 5-25% de *Lactococcus* e *Leuconostoc* spp. Em contraste, o grão de kefir lança uma proporção em sua microbiota, de cerca de, 80% de *Actococcus* e *Leuconostoc* spp., 10-15% de leveduras, e 5-10% de lactobacilos que formam ácido láctico (0,7% a 1%) enquanto que as leveduras, incluindo espécies de *Candida*, *Kluyveromyces* e *Saccharomyces*, produzem álcool (0,05% a 1%). Estes valores dependem da incubação e das condições de armazenagem. Metabólitos devem ser formados em proporções determinadas para se obter um bom sabor (ORDÓÑEZ-PEREDA *et al.*, 2005; RATTRAY E O'CONNELL, 2011; WALSTRA *et al.*, 2006).

Lactobacillus kefiranofaciens, bactéria isolada e partir da qual foi dado o nome ao produto Kefir, é de particular interesse devido a produção de um polissacarídeo conhecido como kefiran. Outros lactobacilos, incluindo *Lb. kefir*, não produzem este polissacarídeo único. A produção de kefiran por *Lb. kefiranofaciens* é estimulada quando é cultivado juntamente com *Saccharomyces cerevisiae* (RATTRAY E O'CONNELL, 2011).

A legislação brasileira aprovou o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (BRASIL, 2007), que define o kefir como um produto cuja fermentação se realiza com cultivos ácido lácticos elaborados com grãos de Kefir, *Lactobacillus kefir*, espécies dos gêneros *Leuconostoc*, *Lactococcus* e *Acetobacter* com produção de ácido láctico, etanol e dióxido de carbono. Os grãos de Kefir são constituídos por leveduras fermentadoras de lactose (*Kluyveromyces marxianus*) e leveduras não fermentadoras de lactose (*Saccharomyces omnispurus* e

Saccharomyces cerevisiae e *Saccharomyces exiguus*), *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium* spp e *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*.

Há duas formas de elaboração de kefir: (1) pela fermentação do leite com grãos de kefir e sub-cultivando o fermentado resultante (Figura 2.4.1) e (2) por meio da aplicação de culturas iniciadoras comerciais que são inoculados diretamente no leite (Figura 2.4.2).

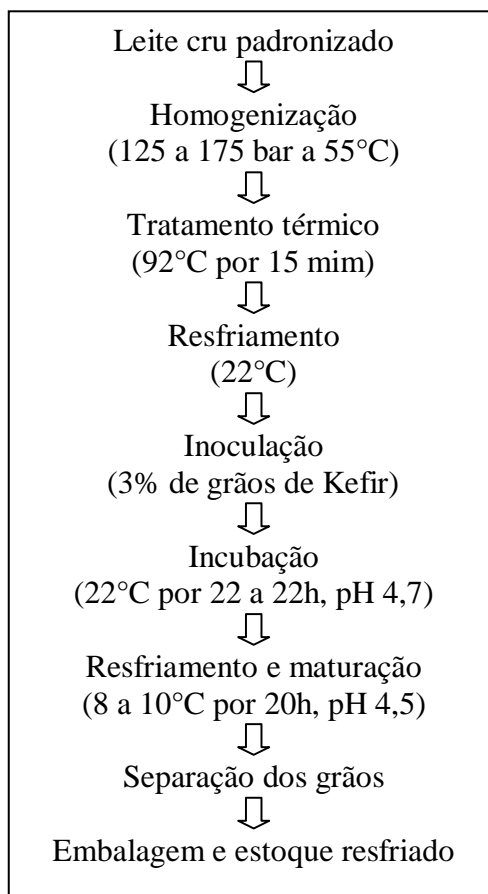


Figura 2.4.1 - Esquema representativo da produção de kefir tradicional utilizando os grãos de kefir.

Fonte: CHANDAN *et al.*, 2008.

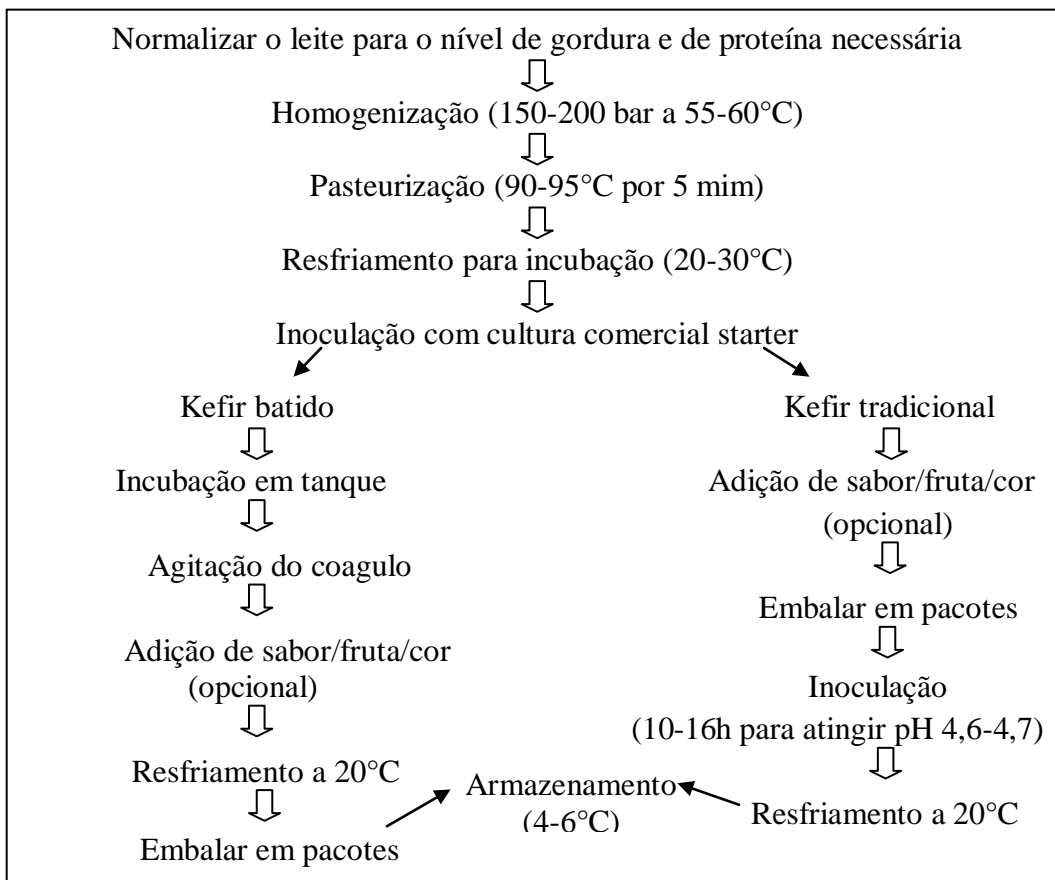


Figura 2.4.2 - Esquema de produção de kefir usando cultura comercial direto na cuba. Fonte: RATTRAY e O'CONNELL, 2011.

No kefir produzido com seus grãos pode haver variação substancial devido ao perfil microbiológico indiferenciado destes grãos. Esta variação no processo de fermentação pode resultar em mudanças significativas no sabor e textura do produto final, como a incubação sob temperaturas mais elevadas (>30°C), que favorece o crescimento de bactérias lácticas termófilas à custa de leveduras e bactérias lácticas mesófilas durante a fermentação, deixando os números de ácido acético e láctico das bactérias heterofermentativa inalterados.

Há também uma etapa incluída chamada de maturação, que ocorre na referida embalagem, em que o kefir é mantido a 8-10 ° C durante de 12 até 20h, seguido de arrefecimento a temperaturas de refrigeração estando então, pronto para consumo. O objetivo desta fase é permitir a multiplicação correta de leveduras e bactérias no interior do kefir. A omissão deste passo está relacionada ao sabor atípico desenvolvido (RATTRAY E O'CONNELL, 2011).

No segundo sistema de elaboração utilizado a nível industrial, o uso de culturas comerciais diretas simplifica a produção comercial de kefir, e com cuidado na seleção das leveduras e das espécies bacterianas é possível produzir um produto com sabor aceitável e boas qualidades de conservação. O kefir feito desta forma pode ter uma vida de prateleira de até 28 dias, em comparação com aquele produzido com grãos de kefir, que tem uma vida útil de três a 12 dias. No entanto, neste tipo de kefir falta a diversidade microbiana do obtido com os grãos e, portanto, podem não apresentar o mesmo efeito terapêutico e as mesmas características probióticas (CAMPBELL-PLATT, 2009; ORDÓÑEZ-PEREDA *et al.*, 2005; RATTRAY E O'CONNELL, 2011).

2.5 Kumys

O kumys é mais um produto de leite fermentado produzido por mistura de leveduras e fermentação láctica, obtido originalmente, de leite de égua fresco armazenado em sacos de couro e agitado com pá de madeira. Este leite fermentado tem uma longa tradição de cerca de 25 séculos atrás, a partir de relatos de tribos que já apreciavam os benefícios desta bebida refrescante. É conhecida na Rússia e na Ásia ocidental, sendo muito popular entre as pessoas de grupos étnicos minoritários na China. Nestes lugares era valorizado, anteriormente, por seu suposto controle da tuberculose e tifo (CHANDAN *et al.*, 2008; DANOVA *et al.*, 2005; WALSTRA *et al.*, 2006).

A diferença entre kumys e kefir está baseada no fato que o leite utilizado é o de égua, os micro-organismos não formam grãos e ocorre uma maior produção de álcool (JAY, 2005). O kumys contém 0,7% a 1% de ácido láctico, 0,7% a 2,5% de álcool, 1,8% de gordura e 2% de proteína. Durante séculos, o kumys tem sido considerado uma bebida saudável, acidentada, leve, efervescente, líquida (não coagula) e com acentuado sabor ácido e alcoólico (ORDÓÑEZ-PEREIRA *et al.*, 2005). A sua influência benéfica sobre os sistemas digestivo, circulatório, nervoso, sanguíneo, renal, imune e sobre glândulas endócrinas, tem sido relatada em diversos artigos (FEDECHKO *et al.*, 1995; STOIANOVA *et al.*, 1988; SUKHOV *et al.*, 1986).

Durante o sua fabricação, a proteína é substancialmente degradada. Juntamente com os compostos de fermentação formada, a proteólise é responsável por um aroma específico. O processo de fermentação deve ocorrer de forma que os

metabólitos se formem em certas proporções (WALSTRA *et al.*, 2006). A microbiota de fermentação é variável, como o kefir.

No kumys elaborado tradicionalmente foram encontrados os seguintes microorganismos: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. acidophilus*, leveduras fermentadas de lactose (*Saccharomyces lactis* e *Torula Koumiss*), leveduras não fermentadoras de lactose (*Saccharomyces cartilaginosus*) e leveduras não fermentadoras de carboidratos (*Mycoderma* sp.) (ORDÓÑEZ-PEREIRA *et al.*, 2005).

Walstra *et al.*(2006) e Chandan *et al.* (2008) relatam que, tradicionalmente, o leite de égua não é tratado termicamente e não é fabricado à escala industrial. Portanto, um nível alto de cultura starter é adicionado (30 a 40%) ou, de acordo com Mu *et al.* (2012), na proporção de 15 a 20 Kg de leite de égua fresco para 1 kg de cultura starter. Em seguida é incubado, o que aumenta sua acidez. A cultura iniciadora é propagada como uma espécie de cultura contínua em leite de éguas ou, conforme Mu *et al.* (2012), pode-se incubar por 2 a 3 dias a 15 a 20°C, agitando algumas vezes ao dia (figura 2.5.1)

Para a legislação brasileira, o kumys é considerado como um produto cuja fermentação se realiza com cultivos de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Kluyveromyces marxianus* (BRASIL, 2005).

Atualmente, um produto de imitação de leite de égua fermentado está sendo feito sobre uma escala industrial, mas é a partir de leite de vaca. Comparado com O leite de égua, o leite de vaca tem uma alta proporção de caseína a proteínas séricas e um teor de lactose baixo. O composição do leite de égua é, portanto, simulado por mistura de leite de vacas e um retentado tratado termicamente por ultrafiltração de soro de leite, sendo o tratamento térmico do soro necessário para inativar o coalho. A cultura starter contém *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* e *Candida kefir* (CHANDAN *et al.*, 2008; ORDÓÑEZ-PEREIRA *et al.*, 2005).

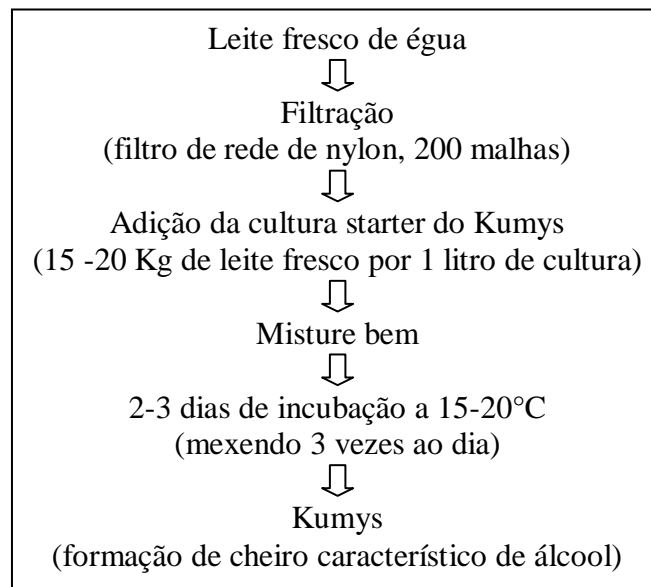


Figura 2.5.1 - Fluxograma de preparação tradicional de Kumys.
Fonte: Mu *et al.*, 2012.

2.6 Coalhada

É o produto resultante da ação de fermentos lácticos mesófilicos individuais ou mistos produtores de ácido láctico sobre o leite pasteurizado ou esterilizado (Brasil, 2007). É considerado um alimento de alto valor nutritivo pelo elevado valor biológico das proteínas existentes e que proporcionam o aumento da biodisponibilidade de vitaminas do complexo B no trato intestinal promovendo uma melhor absorção de cálcio pelo organismo. Ainda, por também ser um produto que apresenta bactérias ácido lácticas em sua composição, atua no equilíbrio das funções intestinais e na sua recuperação quando alteradas por exemplo, por diarreias.

Souza *et al.*, 2011, citam que a coalhada é a parte sólida resultante da coagulação do leite. A parte líquida, por sua vez, é chamada de soro do leite. A preparação de leites fermentados é uma forma natural de conservação do leite, já que a acidificação funciona como um conservante natural contra o desenvolvimento de muitas bactérias nocivas aos seres humanos. A coalhada é o leite fermentado e neste processo de fermentação são mantidos os minerais, as vitaminas e a gordura. Porém, o açúcar do leite é reduzido, o que evita distúrbios digestivos.

O alimento é classificado no grupo de construtores, que são aqueles que nos fornecem substâncias para a construção e reparação constantes do nosso corpo como ossos e músculos. A coalhada é obtida predominantemente por abaixamento do

pH até o ponto isoelétrico da caseína (pH 4,6 – 4,7), devido à produção de ácido láctico metabólito principal da fermentação. Esta fermentação ocorre durante a multiplicação de bactérias lácticas no leite, veiculadas pelo iogurte adicionado. A composição centesimal da coalhada em relação ao leite diferencia-se, pois na dessoragem há perda de minerais e de proteínas solúveis (soro). A textura do produto é friável e quebradiça, de pH baixo, com maior tendência a dessoragem espontânea e requer cerca de 18-24 horas para ficar pronta (MONTINGELLI, 2005).

A coalhada, elaborada a partir de leite desnatado, chega a ser seis vezes mais digerível que o leite comum. A coalhada contribui para o equilíbrio do ecossistema intestinal promovendo o seu balanceamento e modulando diarreias causadas pelo uso de antibióticos, em situações de stress e por tratamentos infecciosos, quimioterápicos e radioterápicos. Também atua na regularidade intestinal (QUEIJOS NO BRASIL, 2013).

Tradicionalmente este produto é fabricado artesanalmente, e não se encontra na literatura científica, dados sobre o processamento, composição e avaliação sensorial sobre a coalhada seca. Devido à coalhada seca não ter regulamento técnico, ela se encaixa entre os queijos de baixa umidade, até 35,9% de umidade, conforme o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos (Portaria nº 146 de 11/03/96).

Segundo a nutricionista Andrezza Botelho, a qualidade microbiológica da coalhada também auxilia na prevenção da multiplicação de micro-organismos patogênicos e agentes causadores de doenças, o que a faz ser conhecida como um alimento probiótico e imunomodulador. A presença de grandes quantidades de ácidos graxos (gorduras), provenientes do leite, faz da coalhada um alimento capaz de ajudar na redução do mau colesterol e, conseqüentemente, diminui os riscos de infarto. Apesar de proveniente do leite, a coalhada ajuda em casos de intolerância à lactose, já que, no processo de fermentação, as bactérias transformam a lactose em ácido láctico, que é facilmente digerível até pelos estômagos mais sensíveis (ARCANGELI, 2008).

O leite coalhado preserva a gordura, os minerais e o conteúdo de vitaminas do leite puro, mas apresenta bem menos lactose que o leite. Quando elaborada a partir do leite desnatado, por exemplo, a coalhada chega a ser seis vezes mais digerível que o leite comum in natura (ARCANGELI, 2008).

3. Produção e Consumo de Leites Fermentados no Brasil

Dados recentes, segundo o banco de dados da EMBRAPA Gado de Leite em 2010, indicam que praticamente todos os derivados lácteos no Brasil, registraram aumento de vendas em 2009, sendo que a maior alta foi de leite fermentado (17,9% em relação a 2008), e que a variação do volume de vendas no varejo de iogurte no ano de 2009 em relação ao ano de 2008, foi de 6,8%. Entre janeiro e abril de 2010, esta variação comparada ao mesmo período de 2009 foi de 6,3% para iogurte e de 23,3% para leite fermentado.

Houve um aumento também na aquisição alimentar domiciliar *per capita* anual brasileira de iogurte e leite fermentado comparando o período de 2002 a 2003 e de 2008 a 2009. O iogurte subiu de 1,967 Kg para 2,051Kg e o leite fermentado de 0,271 Kg para 0,718 Kg (IBGE; 2003, 2009).

Em 2007, o consumo de iogurte superou a marca de 465 milhões de quilos, quando foram movimentados, aproximadamente, dois bilhões de dólares, o que mostra a plena expansão de mercado (ALYSSON, 2008). E as bebidas lácteas fermentadas já representam 25% do mercado total de produtos fermentados no Brasil (PFLANZER *et al.*, 2007).

Com estes dados pode-se observar que os produtos lácteos conferem impacto positivo no mercado de alimentos, com boa perspectiva de crescimento, mesmo este consumo sendo menor quando comparado com países como França, Uruguai e Argentina, onde o consumo *per capita* é entre 7 Kg a 19 Kg por ano. (BOLINI E MORAES, 2004).

4. Características Nutricionais dos Produtos Lácteos Fermentados

Os leites fermentados têm sido um componente importante na nutrição e na dieta dos seres humanos. Apresentam melhor digestibilidade do que o leite *in natura* (pois seus principais constituintes são pré-digeridos devido ao processo fermentativo) e têm sido introduzidos no tratamento da inapetência, da alimentação pós-operatória e no caso de transtornos digestivos. Também representam um excelente alimento para crianças em fase de crescimento, período que exige maior ingestão de proteínas e minerais como o cálcio (Ca) e fósforo (P). Estes minerais são essenciais para boa

mineralização dos ossos e dentes (GARCIA *et al.*, 1986; MENOLI *et al.*, 2003; PORTO *et al.*, 2005; ROBINSON, 1991).

Além dos benefícios à saúde já citados, os leites fermentados em geral também contém outras qualidades como:

- Conteúdo reduzido de lactose, importante para a população intolerante à lactose;
- Aumento da absorção de ferro;
- Aumento do conteúdo de algumas vitaminas do tipo B;
- Controle da composição da microbiota intestinal;
- Inibição da multiplicação de micro-organismos patogênicos no trato intestinal;
- Diminuição no nível de colesterol no sangue (Rocha, 2008).

Panesar (2011) relata que indivíduos com intolerância à lactose ao consumirem quantidades razoáveis de produtos lácteos fermentados, apresentam diminuição dos sintomas dessa intolerância quando comparado aos que consomem a mesma quantidade de leite não fermentado. Isto se deve à ação das bactérias ácido lácticas utilizadas na produção do iogurte, que produzem lactase que atua na hidrólise da lactose.

As bactérias ácido lácticas viáveis também atuam de forma a interferir na colonização e subsequente proliferação de agentes patogênicos de origem alimentar, evitando manifestações da infecção (GANGHI, 2000). *Lactobacillus bulgaricus* foi implicado neste efeito por Panesar em 2009. Este autor relatou também que a reposição da microbiota bacteriana com a ingestão de iogurte durante e após a terapia antibiótica parece minimizar efeitos negativos do uso de antibióticos.

Estudos em animais e seres humanos demonstraram o efeito do iogurte, devido a presença das bactérias ácido lácticas, sobre os níveis de reforço de certas células. Componentes do leite, como proteína do soro, cálcio, certas vitaminas e oligoelementos são também capaz de influenciar o sistema imunológico. Estudos têm mostrado que na produção de citocina, a atividade fagocítica, a produção de anticorpos e a produção de células-T são aumentadas com o consumo de iogurte (PANESAR, 2011).

Além das propriedades nutricionais dos leites fermentados em geral, estudos indicam o seu uso terapêutico na prevenção e tratamento de diarréias, problemas

gastrointestinais com estímulo de secreções intestinais, redução de reações alérgicas à proteína facilitadora da absorção de fósforo e cálcio, auxílio na síntese de vitamina K e vitaminas do complexo B e na redução do colesterol (caso seja usado leite desnatado). Outras propriedades associadas aos iogurtes são efeitos anticarcinogênicos e inibitórios de agentes patogênicos (ADOLFSSON *et al.*, 2004; CANZI *et al.*, 2002; GODEL, 2003; LIMA *et al.*, 2001; RODAS *et al.*, 2001).

5. Bebida Láctea

No Brasil, de acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas, do MAPA, entende-se por bebida Láctea o produto lácteo resultante da mistura do leite (in natura, pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado ou parcialmente desnatado e desnatado) e soro de leite (líquido, concentrado e em pó) adicionado ou não de produto(s) alimentício(s) ou substância alimentícia, gordura vegetal, leite(s) fermentado(s), fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos (BRASIL, 2005).

Este instrumento normativo definiu que bebida láctea a base de soro pode apresentar variações quanto ao tratamento térmico, fermentação e adição de produtos, o que originará uma gama de diferentes produtos. Entre eles, existem quatro principais tipos de bebidas lácteas: a bebida láctea pasteurizada, a bebida láctea esterilizada, a bebida láctea UAT ou UHT e a bebida láctea fermentada.

5.1 Bebida Láctea Fermentada

O desenvolvimento de alternativas para o aproveitamento apropriado do soro de leite como na elaboração de derivados lácteos é de extrema importância em função de sua qualidade nutricional, volume produzido e poder poluente (GARCIA, 2009). Sendo assim, entre as diversas formas de utilização do soro, a elaboração de bebidas lácteas constitui uma das alternativas mais simples e atrativas para o seu aproveitamento, uma vez que existe a possibilidade de uso dos equipamentos previamente disponíveis nas indústrias de laticínios (CASTRO *et al.*, 2004).

Além disso, a procura do consumidor brasileiro por produtos mais saudáveis, inovadores, seguros e de prática utilização, aliada à consolidação dos produtos no mercado, contribuíram para o crescimento da indústria de bebidas lácteas, fazendo

com que estas ganhassem popularidade (LIMA *et al.*, 2002). A produção de bebida láctea com soro vem ganhando um mercado muito grande, principalmente com o maior nível de informação sobre a importância do cálcio, das vitaminas hidrossolúveis, da qualidade das proteínas, do papel dos componentes bioativos e das bactérias probióticas para a saúde, do custo do produto para o fabricante e do preço final para o consumidor (FERREIRA, 2002; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2002; SANTOS E FERREIRA, 2001; USDEC, 2002;).

As bebidas lácteas fermentadas contêm proteínas, gorduras, lactose, minerais e vitaminas. Estas bebidas são. (BRASIL, 2005).

O soro do leite apresenta alta digestibilidade e todos os aminoácidos essenciais, sendo que suas proteínas são rapidamente absorvidas pelo organismo, estimulando a síntese de proteínas sanguíneas e teciduais a tal ponto que alguns pesquisadores classificaram essas proteínas como proteínas de metabolização rápida, adequadas para situações de estresses metabólicos em que a reposição de proteínas no organismo se torna emergencial (BOIRIE *et al.*, 1997; DANGIN *et al.*, 2001; FONTES, 2007; THAMER E PENNA, 2006). A bebida láctea além de representar 85 a 95% do volume inicial de leite empregado na fabricação de um queijo contém aproximadamente 55% do total de nutrientes do leite (SISO, 1996).

A bebida láctea fermentada é composta por uma mistura de soro e leite, adicionados ou não de produto(s) alimentício(s) ou substância alimentícia, sendo um produto é fermentado mediante a ação de cultivo de micro-organismos específicos e/ou adicionado de leite(s) fermentado(s) e que não poderá ser submetido ao tratamento térmico após a fermentação. A contagem de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de 10^6 UFC/g, no produto final, para o(s) cultivo(s) láctico(s) específico(s) empregado(s), durante todo o prazo de validade. E a base láctea deve representar pelo menos 51% (cinquenta e um por cento) massa/massa (m/m) do total de ingredientes do produto (BRASIL, 2005).

A tecnologia de fabricação de bebidas lácteas fermentadas baseia-se na mistura de leite e soro de queijo, seguida de pasteurização da mistura (adicionada de estabilizante, açúcar e leite em pó), adição de fermento para iogurte, incubação, adição de ingredientes sensoriais (como aromatizantes, corantes, adulcorantes, polpa de frutas) e envase, tudo de acordo com a fórmula estipulada pelo produtor e pelo MAPA (figura 5.1.1) (BRASIL, 2005; CARVALHO, 2007).

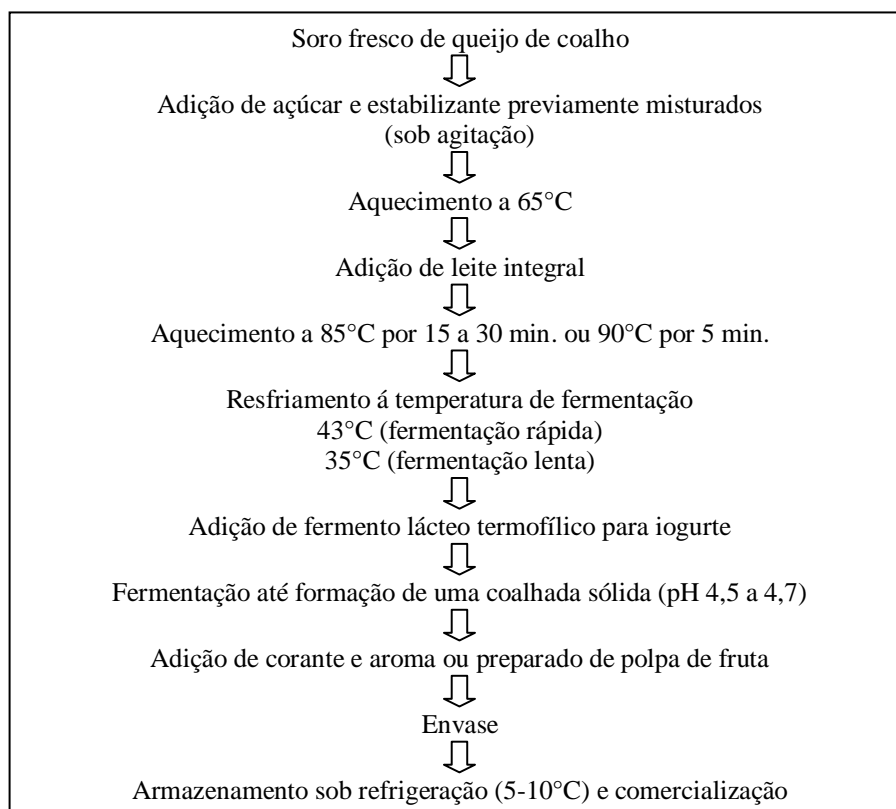


Figura 5.1.1 - Esquema simplificado da tecnologia de fabricação de bebida láctea fermentada.

Fonte: JACINTO DE PAULA e ALMEIDA, 2010.

Assim, na elaboração de bebidas lácteas fermentadas, a utilização de soro de leite apresenta diversos benefícios, visto que apresenta um excelente valor nutritivo, fornece elevada qualidade proteica (com alto teor de aminoácidos sulfurados presentes nas proteínas do soro) associado com um baixo teor de gordura e lactose. Seu processo de aproveitamento é simples para a indústria, pois, esta, tem disponibilidade de equipamentos já utilizados no beneficiamento do leite, reduz os inconvenientes relativos ao seu descarte, além de diminuir custos. Portanto, seu uso constitui uma forma racional de aproveitamento, com relação aos seus benefícios para a indústria, para o meio ambiente e para a saúde dos consumidores (ALMEIDA *et al.*, 2000; ALMEIDA *et al.*, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2006c; PINTADO *et al.*, 2001; SINHA *et al.*, 2007; THAMER E PENNA, 2005).

6. Qualidade dos Derivados Lácteos no Brasil e no Mundo

Considerando a crescente importância que os leites fermentados e as bebidas lácteas vêm assumindo no mercado nacional e internacional, diversos estudos têm sido executados para a melhoria da sua qualidade. A presença de contaminantes constitui, atualmente, um dos grandes problemas para a indústria, causando perda de produtos em função das alterações de sabor, cor e também estufamento de embalagens nas prateleiras refrigeradas. Para o consumidor, que se torna cada vez mais consciente e informado quanto os produtos oferecidos nos mercados, estes visam uma melhor nutrição e qualidade de vida. Mas, estudos têm relatado condições microbiológicas insatisfatórias para os derivados de leite como alguns relatados de autores a seguir.

Com relação aos fermentados, de acordo com Akabanda *et al.* (2010) de 15 amostras de “Nunu”, leite fermentado tradicional produzido em Gana, foram observadas contagens de bactérias ácido lácticas variando de 4,69 a 8,82 log UFC/g, sendo identificados os gêneros *Lactobacillus* e *Streptococcus*. Ainda, os autores relatam contagens de leveduras variando de 1,22 a 6,63 log UFC/g e presença de *E. coli*.

Abdalla e Ahmed (2010) analisaram 90 amostras de leite fermentado Sudanês (“Mish”) de três fábricas de laticínios e observaram contagem de coliformes variando de 5,62 a 7,42 log UFC/g, sendo observado aumento até o 14^o dia, pequeno decréscimo no 21^o dia e novo aumento no 28^o dia. Bolores e leveduras variaram entre 4,14 a 5,59 log UFC/g e as contagens aumentaram, continuamente, até o 28^o dia.

Abdel All e Dardir (2009) analisaram 60 amostras de leite fermentado desnatado tradicional do tipo “laban rayb” vendido no Egito e observaram que as contagens de bolores e leveduras variaram de $1,6 \times 10^3$ a 10^7 UFC/g e, presença de coliformes em 68,33% das amostras analisadas com médias variando entre de 0,3 a $1,1 \times 10^6$ UFC/g.

Gran *et al.* (2002) analisaram produtos a base de leite fermentado de pequenos produtores de Zimbábue e observaram que a presença de *E.coli* e coliformes foi muito grande na cultura látea adicionada durante sua produção e foi encontrado *E.coli* em todas as amostras do produto final já pasteurizado, ou seja, o produto foi contaminado após o processo final de elaboração.

No Brasil, alguns estudos realizados indicaram a qualidade insatisfatória desses produtos em muitas regiões, se apresentando em desacordo com a legislação vigente, ou seja, o RTIQ dos Leites Fermentados e o RTIQ das Bebidas Lácteas (BRASIL, 2005, 2007).

De acordo com Rodrigues e Santos (2006) das 14 amostras de bebidas lácteas analisadas em Uberlândia-MG, 28,57% estavam contaminadas por bolores e leveduras e, de um total de 39 amostras de iogurte estavam em desacordo com a legislação vigente, 17,94% não continham bactérias ácido lácticas suficientes, 53,84% com presença de bolores e leveduras e 5,13% com presença de coliformes termotolerantes acima do permitido.

Apesar da inexistência de padrão microbiológico para a enumeração de bolores e leveduras para bebidas lácteas, Reis *et al.* (2006) relatam que amostras coletadas em São Jose do Rio Preto - SP, apresentaram contagens variando de 1 a $3,7 \times 10^9$ UFC/mL. Tebaldi *et al.* (2007), ao analisarem bebidas lácteas fermentadas de cinco marcas distintas coletadas no comércio da microrregião de Lavras, MG, verificaram que apenas uma marca atendeu ao padrão estabelecido pela legislação para contagem total de bactérias ácido lácticas de $3,3 \times 10^8$ UFC/g.

Em estudo conduzido por Oliveira *et al.* (2006a) em Salvador – BA, a contagem máxima de fungos filamentosos e leveduras observada em 30 amostras de iogurte semidesnatado, foi de $16,57 \times 10^3$ UFC/g e duas amostras não atenderam ao padrão estabelecido para coliformes totais (30°C).

Pesquisa realizada por Quevedo *et al.* (2005) avaliou três amostras de diferentes lotes de três marcas de iogurte no Rio Grande do Sul e os autores observaram que uma amostra de cada marca apresentou contagens de bolores e leveduras maior que 2×10^2 UFC/g.

Rodas *et al.* (2001) avaliaram 136 amostras de iogurtes com frutas, em São Paulo, de oito marcas diferentes adquiridas em supermercados, e observou que 44,1% das amostras indicaram a utilização de matéria prima em condições higiênicas inadequadas, e também que nenhuma das amostras apresentou a quantidade mínima de bactérias lácticas indicadas na recomendação do Mercosul nº31/97, legislação esta que o RTIQ de leites fermentados se baseou para ser elaborado.

Coelho *et al.* (2009) analisaram 12 amostras de iogurte com polpa de frutas (três marcas diferentes) coletadas no comércio em Pelotas (Rio Grande do Sul)

avaliando seu prazo de validade e verificaram que, mesmo antes de acabar este prazo, duas marcas alcançaram contagens de bolores e leveduras superiores aos valores determinados pela legislação brasileira.

Pereira *et al.* (2007) analisaram três marcas de iogurte com polpa de frutas consumidas em Ponta Grossa (Paraná) quanto a concentração de bactérias ácido lácticas viáveis até o fim do prazo de validade e observaram que uma das marcas apresentou contagem de $1,2 \times 10^5$ UFC/mL, ou seja, abaixo do padrão permitido pela legislação vigente que é de no mínimo 10^7 UFC/mL.

Rodrigues *et al.* (2010) analisaram 36 amostras de iogurte fabricadas em Viçosa (MG) e observaram que algumas amostras mostraram baixa contagem de BAL, sugerindo a inoculação de culturas starter em pequenas quantidades uma vez que foram observadas diferenças significativas em pH e valores médios de BAL's em momentos diferentes do prazo de validade do produto.

OBJETIVOS

Este estudo teve por objetivos principais:

- Verificar a qualidade e adequação dos derivados lácteos dos tipos iogurte, coalhada e bebida láctea fermentada, produzidos em estabelecimentos do Distrito Federal, aos parâmetros oficiais estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).
- Avaliar a presença de micro-organismos indicadores de qualidade higiênico-sanitária em leites fermentados e em bebidas lácteas fermentadas, produzidos no Distrito Federal.
- Avaliar a presença de micro-organismos patogênicos como *Escherichia coli* e *Staphylococcus coagulase positivo*, em leites fermentados e em bebidas lácteas fermentadas, produzidos no Distrito Federal.
- Quantificar a presença de bolores e leveduras em leites fermentados e em bebidas lácteas fermentadas, produzidos no Distrito Federal.
- Enumerar as bactérias ácido lácticas presentes nesses produtos.

REFERÊNCIAS

- ABDALLA, M.O.M.; AHMED, S.Z.A.N. Evaluation of microbiological quality of Sudanese fermented dairy product 'mish' during storage. **Advanced Journal of Food Science and Technology**. v. 2, n. 3, p. 155-158, abril 2010.
- ABDEL ALL,A.A.A.; DARDIR,H.A. Hygienic quality of local traditional fermented skimmed milk (Laban Rayb) sold in Egypt. **World Journal of Dairy & Food Science**, v. 4, n. 2, p. 205-209, 2009.
- ADOLFSSON, O.; MEYDANI, S.N.; RUSSELL, R.M. Yogurt and gut function. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 80, p.245-56, 2004.
- AKABANDA, F. *et al.* Microbiological characteristics of Ghanaian traditional fermented milk product, Nunu. **Nature and Science Journal**, v. 8, n. 9, setembro 2010.
- ALMEIDA, K. E. de; BONASSI, I. A.; ROÇA, R. de O. Avaliação sensorial de bebida láctea preparada com diferentes teores de soro, utilizando-se dois tipos de cultura láctica. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 55, n. 315, p. 7-13, 2000.
- ALMEIDA, M. M.; PASTORE, G. M. Galactooligossacarídeos – Produção e efeitos benéficos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 35, n. 1/2, p. 12-19, 2001.
- ALYSSON, E. Na rota dos lácteos. **Indústria Láctica**, n.75, p.38-41, 2008.
- ARCANGELI, C. **Coalhada é o alimento do bem para a saúde**. Portal da educação. Disponível em: < <http://www.portaleducacao.com.br/educacao/noticias/28091/coalhada-e-alimento-do-bem-para-a-saude>>. Acesso em: 15/12/2011.
- EMBRAPA gado de leite**, Banco de dados, Juiz de Fora, 2010. in: PINHA, C.L; CARVALHO, G.R.; TRAVASSOS, G.F. Poder de compra e consumo de lácteos no Brasil Fórum das Américas: Leites e Derivados. 8º Congresso Internacional de Leite. Juiz de Fora. MG, junho, 2010.
- BOIRIE, Y. *et al.* B. Slow and fast dietary proteins differently modulate post-prandial protein secretion. **Proceeding of the National Academy of Science (USA)** 1997; 94: 14930-5.
- BOLINI, H.M.A.; MORAES, P. Tese mostra que análise sensorial incrementaria produção de iogurte. **Jornal da Unicamp**, 253:11. 2004.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lacteos. Portaria Nº 146, 07 de março de 1996. **Diário oficial da União**, Seção 1, Página 3977, Brasília, 11 março 1996.

- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico Mercosul de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Recomendação n. 31 de 12 de junho de 1997. **Diário Oficial da União**, n. 125, 3 de julho de 1997, Brasília, 1997.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas. Instrução Normativa nº 16, de 23/08/2005. **Diário Oficial da União**, Seção 1, p. 7-10. Brasília, 23 agosto 2005.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Instrução Normativa nº 46, de 23/10/2007. **Diário Oficial da União**, Seção 1, p. 4-7. Brasília, 24 out.2007.
- CANZI, E. *et al.* Yogurt in the diet of the elderly: a preliminary investigation into its effect on the gut ecosystem and lipid metabolism. **Le Lait**, v. 82, n. 6, p.713-723, 2002.
- CHANDAN, R. KILARA, A., SHAH, N. **Dairy Processing and Quality Assurance**.1st ed., New Deli, India. 2008.
- CHEN, H. C.; WANG, S. Y.; CHEN, M. J. Microbiological study of lactic acid bacteria in kefir grains by cultured-dependent and culture-independent methods. **Food Microbiology**, v. 25, p. 492-501, 2008.
- CAMPBELL-PLATT, G. **Food Science and Technology**. Blackwell Publishing Ltd, 1st ed. New Deli, India,. 2009.
- CASTRO, I.A. *et al.* Sensory evaluation of a milk formulation supplemented with n3 polyunsaturated fatty acids and soluble fibres. **Food Chemistry**, v.85, n.4, p.503-512, May 2004.
- COELHO, F.J.O.; QUEVEDO,P.S.; MENIN, A.; TIMM, C.D. Avaliação do prazo de validade do iogurte. **Ciência animal**, v. 10, n.4, Goiás, 2009.
- CARVALHO,R.F. Dossiê Técnico: ricota e bebiba láctea. **Rede de Tecnologia da Bahia – RETEC/BA**. Bahia, Julho, 2007.
- DANGIN M, *et al.* The digestion rate is an independent regulating factor of post prandial protein retention. **American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism**. v.280:p. E340-E8.Baltimore, 2001.
- DANOVA, S., PETROV, K., PAVLOV, P., PETROVA, P. Isolation and characterization of *Lactobacillus* strains involved in koumiss fermentation. **Society of Dairy Technology**, v. 2, p. 100-105, 2005.
- DEETH, C. L. I. F.; TAMIME, A. Y. Yogurt: Nutritive and therapeutic aspect. **Journal of Food Protection**, v. 44, n. 1, p. 78, 1981.

- DUWAT, P. *et al.* Respiration capacity of the fermenting bacterium *Lactobacillus lactis* and its positive effects on growth and survival. **J.Bacteriol.** 183:4509-4516. 2001. In: CHANCAN, R., KILARA, A., SHAH, N. Dairy processing and Quality assurance, 1st ed., New Deli, India, 2008.
- FARNWORTH, E.R. Kefir—A complex probiotic. **Food Sci. Technol. Bull.: Functional Foods** 2:1–17. 2005. In: CHANDAN, R.; KILARA, A.; SHAH, N. Dairy processing and quality assurance. 1st ed., New Delhi, India. 2008.
- FEDECHKO, I.M., FEDECHKO, I.M., HRYTSKO, R., HERASUN, B.A., 1995. The antiimmunodepressive action of koumiss made from cow's milk. *Likars'ka Sprava* v. 9, p.104e106. In: MU, Z., YANG, X., YUAN, H. Detection and identification of wud yast in Koumiss. **Food Microbiology**, v.31,p. 301-308, 2012.
- FERREIRA, C. L. L. F. **Produtos Lácteos Fermentados: Aspectos Bioquímicos e Tecnológicos. Caderno Didáticos** 3.ed. 112p. Viçosa: Editora UFV, 2005.
- FONTES, A. C. L. **Desenvolvimento e avaliação de bebida láctea tratada termicamente após fermentação.** 2007. 50f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.
- FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da Segurança Alimentar.** Porto Alegre. Ed. Artmed, 2002.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF M.; DESTRO, M. T. **Microbiologia dos alimentos.** São Paulo: Atheneu, 1996.
- GANDHI, D. N. Fermented Dairy Products and Their Role in Controlling Food Borne Diseases. In: S. S. MARWAHA AND J. K. ARORA, Eds., **Food Processing: Biotechnological Applications**, Asiatech Publishers Inc., New Deli, India, p. 209-220, 2000.
- GARCIA, F.R.C. **Avaliação do desempenho de um reator anaeróbio compartimentado no tratamento de soro de queijo.** 2009. 108f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 2009.
- GARCIA, T.B; RUIZ, L.R.A.; DÍAZ, M.E. Microbiologia sanitária de los yogurtes naturales y com sabores de consumo em la província de Alicante. **Alimentaria**, v. 23, n.177, p. 39-42, 1986.
- GODEL, J. Treatment of diarrheal disease. **Pediatrics & Child Health**, v. 8, n. 7, p. 455-458, 2003.
- GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. *et al.* Influence of substituting milk powder for whey powder on yogurt quality. **Trends Food Science and Technology**, Cambridge, v. 13, n. 9;10, p. 334-340, 2002.

- GRAN, H.M.; MUTUKUMIRA, A.N.; WETLESEN, A.; NARVHUS, J.A. Smallholder dairy processing in Zimbabwe: the production of fermented milk products with particular emphasis on sanitation and microbiological quality. **Food Control**, v.13, p.161-168, 2002.
- HAULY, M.C. de; FUCHS, R.H.B.; PRUDENCIO-FERREIRA, S.H. Suplementação de iogurte de soja com frutooligossacarídeos: características probióticas e aceitabilidade. **Revista de Nutrição**, Campinas, São Paulo, v.18, n.5, p.613-622, 2005.
- HERTZLER, S. R.; CLANCY, S. M. Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion. **Journal American Dietetic Association**, v. 103, p. 582- 587, 2003.
- HONG, W. S.; CHEN, H. C.; CHEN, Y. P.; CHEN, M. J. Effects of kefir supernatant and lactic acid bacteria isolated of kefir grain on cytokine production by macrophage. **International Dairy Journal**. v. 19, p. 244-251, 2009.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003**. Primeiros resultados - Brasil e Regiões, 2ª edição. Disponível em: < <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2002aquisicao/defaulttab.shtm> >. Acesso em: 15 nov.2010.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008 - 2009** – Aquisição Alimentar Domiciliar *per capita* Brasil e Regiões. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_aquisicao/pof20082009_aquisicao.pdf>. Acesso em: 17/12/2012.
- JACINTO DE PAULA, J.C.; ALMEIDA, F.A.; Tecnologia de Fabricação de Bebida Láctea Fermentada e não Fermentada. Projeto: Aproveitamento do Soro de Queijo de Coalho na elaboração de Bebidas Lácteas Fermentadas e não fermentadas: adaptação de tecnologia, treinamento e capacitação de pequenos produtores da região de Leme do Prado no Vale do Jequitinhonha – MG. **Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais** / Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (EPAMIG), 2010.
- JAY, J.M. **Microbiologia de Alimentos**, 6ª Ed., Porto Alegre, Ed. Artmed, 2005.
- KARDEL, G.; ANTUNES, L. A. F. Culturas lácticas e probióticas empregadas na fabricação de leites fermentados: leites fermentados. In: LERAYER, A. L. S.; SALVA, T. J. G. Leites fermentados e bebidas lácteas: tecnologia e mercado. Campinas: **ITAL**, Cap. 2, p. 26-33. 1997
- KROLOW, A.C.R. Iogurte Integral sabor café. Comunicado técnico nº193. **Embrapa Clima Temperado**, Pelotas, RS. dez, 2008.

- LIMA FILHO, D.O. **Valor percebido e o comportamento do consumidor de supermercado: um estudo exploratório em uma média cidade brasileira.** 1999. 196f. Dissertação (Doutorado em Mercadologia) EAESP/FGV, São Paulo, 1999.
- LIMA, S. M. C. G., MADUREIRA, F. C. P., PENNA, A. L. B. Bebidas lácteas: nutritivas e refrescantes. **Milkbizz Tecnologia**, São Paulo, v. 1, n. 3, p. 4-11, 2002.
- LIMA, U.A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia Industrial – Engenharia Bioquímica.** Vol 2. Editora Edgard Blücher Ltda. São Paulo. p. 241, 2001.
- LIU, J. R.; WANG, S. Y.; CHEN, M. J.; CHEN, H. L.; YUEH, P. Y.; LIN, C. W. Hypocholesterolaemic effects of milk-kefir and soyamilk-kefir in cholesterol-fed hamsters. **British Journal of Nutrition**, v. 95, p. 939-946, 2006.
- LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B. Yogurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**, v. 11, n. 1-2, p. 1-17, 2001.
- LUCEY, J. A.; SINGH, H. Formation and physical properties of acid milk gels: a review. **Food Research International**, v. 30, n. 7, p. 529-539, 1998.
- McKINLEY, M.C. The nutrition and health benefits of yoghurt. Int. **Jornal of Dairy Technology**. V. 58, p.01-12, 2005.
- MENOLI, A.P.V. *et al.* Nutrição e desenvolvimento dentário. **Revista de Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 9, n. 2, p. 33-40, 2003.
- MONTINGELLI, N. M. M, **Pré-disposição do leite de cabra para a fabricação de queijos.**2005. 47f. Dissertação (Pós-Graduação Latu sensu em Controle de Qualidade dos Alimentos) Universidade Federal de Lavras. Minas Gerais, 2005.
- MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia** V. 3, p. 99-112, 2006.
- MORAES, P.C.B.T. **Avaliação de iogurtes líquidos comerciais sabor morango: estudo de consumidor e perfil sensorial.** 2004.1 128f. Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2004.
- MU, Z., YANG, X., YUAN, H. Detection and identification of wild yeast in Koumiss. **Food Microbiology**. v.31. p. 301-308, 2012.
- NINANE, V.; MUKANDAYAMBAGE, R.; BERBEN, G. Probiotiques, aliments fonctionnels et kefir: le point sur la situation reglementaire en Belgique et sur les avances scientifiques en matiere d'évaluation des effets sante du kefir. **Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement**, v. 13, p. 459-466, 2009.

- OLIVEIRA, A. F. A. Qualidade e organização na produção de leites fermentados. In: LERAYER, A. L. S.; SALVA, T. J. G. Leites fermentados e bebidas lácteas: tecnologia e mercado. Campinas: **ITAL**, Cap. 16, p. 1-14. 1997.
- OLIVEIRA, J. P.; SANTOS, L.C.S.; SOUZA, M.M.; SILVA, M.H.; JESUS, N.M.; CAETANO, A. Avaliação físico-química e microbiológica do iogurte semidesnatado comercializado na cidade de Salvador. **Revista Higiene Alimentar**, v.21, n. 150, p. 138-139, abril, 2006a.
- OLIVEIRA, J. S. Produção e conservação de iogurte. **Revista Leites e Derivados**, São Paulo, ano II, n.10, p.35-38. maio/junho, 1993.
- OLIVEIRA, K.A.M. *et al.* Desenvolvimento de formulação de iogurte de araticum e estudo da aceitação sensorial. **Revista Alimentos e Nutrição Araraquara**, v.19, n.3, p. 277-281, julho/setembro. 2008.
- OLIVEIRA, V. M; CORTEZ, M. A. S; FREITAS, M. Q.; FRANCO, R. M. Avaliação sensorial de bebida láctea fermentada com diferentes concentrações de soro de queijo, enriquecida com ferro. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 13, n. 2, p. 67-70, maio/ago. 2006b.
- ORDÓÑEZ-PEREDA, J.A. *et al.* **Tecnologia de alimentos**. v.2 – Alimentos de origem animal. Trad. Fátima Murad. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- PANESAR, P.S. Fermented Dairy products: Starter Cultures and Potential Nutritional Benefits. **Food and Nutrition Science**, v. 2, pg 47-52, 2011
- PANESAR, P. S.; KAUR G.; PANESAR, R.; BERA, M. B. “Synbiotics: Potential Dietary Supplements in Functional Foods,” *FST Bulletin*, **Food Science Central**, IFIS Publishing, UK, April, 2009.
- PEREIRA, C.M.; BRAGA, C.M.P.; TORRONE,C.C.; FERNANDES,L.G.V.; WILWERTH, M.W. **Fermentação láctea e a fermentação de iogurte**. Disponível em: <<http://www.cca.ufscar.br/espacobiotec/temas2.htm>> . Acesso em: 15/08/2012.
- PEREIRA, M.A.; ALMEIDA, D.M.; SAUER, E. **Avaliação da concentração de bactérias ácido láticas viáveis em iogurtes com polpa de frutas**. Serie em Ciência e Tecnologia de Alimentos: Desenvolvimento em Tecnologia de Alimentos, Campus Ponta Grossa, v. 01, p. 07-13, Paraná, 2007.
- PFLANZER, S. B.; CRUZ, A. G. da; HATANAKA, C. L. et al. Desenvolvimento do perfil sensorial e aceitação de bebida láctea achocolatada. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS. 24., 2007, Juiz de Fora, MG. **Anais...** Juiz de Fora: CT/ILCT – EPAMIG, p. 91-98, 2007.
- PIMENTEL, C.V. de M.; FRANCKI, V.M.; GOLLÜCKE, A.P.B. **Alimentos funcionais: Introdução às principais substâncias bioativas em alimentos**. p.78-80. São Paulo: Varela, 2005.

- PINTADO, M. E.; MACEDO, A.C.; MALEATA, F. X. Review: technology, chemistry and microbiology of whey cheeses. **Food Science Technology International**. London, v.7, n.2, p.105-116, 2001.
- PORTO, J.A.; PICCOLI, C.; SALERNO, M.; HENRIQUE, I.T. Raquitismo carencial – relato de caso. **Scientia Medica**, v. 15, v. 2, p.112-115 , 2005.
- QUEIJOS NO BRASIL, **Receita de Coalhada**, 2013. Disponível em: < <http://www.queijosnobrasil.com.br/receita-coalhada.html>> Acesso em: 13/01/13.
- QUEVEDO, P. S; COELHO, F. J. O.; MENIN, A.; TIMM, C. D.; MORENO, C. B.; ROOS, T. B.. Avaliação da qualidade do iogurte comercializado no sul do Rio Grande do Sul ao final do prazo de validade. In: **Anais...** XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia, Santos, 2005.
- RATTRAY, F.P.; O'CONNELL,M.J. **Fermented milk/ kefir**. Encyclopedia of Dairy Sciences ,Second Edition, pg.518-524, 2011. Disponível em: <<http://biologiageral.com.sapo.pt/Ficheiros/Rattray.pdf>>. Acesso em: 18/08/2012.
- REIS, A.A.; SEIXAS, F.R.F.; SANTOS, V.A.Q.; SEIXAS, J.R.F.; HOFFMANN, F.L. Avaliação das condições higiênico-sanitárias de bebidas lácteas fermentadas, com adição de polpa de frutas produzidas na região de São José do Rio Preto, SP. **Revista Higiene Alimentar**, v.21, n. 150, abril, 2006.
- RIBEIRO, M.M. *et al.* Estudo do mercado de iogurte da cidade de Belo Horizonte/MG. **Revista Ceres**, Viçosa, v.57, n.2, p. 151-156, março/abril, 2010.
- RITTER. **Manual para fabricação de leites fermentados: logurtes e bebidas lácteas**, 2012. Disponível em: <www.ritter.com.br/foodservice/dir_arquivos/manual.pdf>. Acesso em 01/08/2012.
- ROBINSON,R.K.; THAMINE,A.Y. Microbiology or Fermented Milks. In: ROBINSON,R.K Dairy Microbiology, vol.2: The Microbiology of Milk Products (2nd ed.). **Elsevier Applied Science** London and New York, p. 291-340, 1990.
- ROBERT, N.F. **Dossiê Técnico: Fabricação de logurtes**. Rede de Tecnologia da Bahia – RETEC/BA. Bahia, Julho, 2008.
- ROBINSON, R.K. Fermented Milks/Yoghurt, Role of Starter Cultures. pg 1059-1063. **Encyclopedia of Dairy Sciences**, UK, 2002.
- ROBINSON, R.K. Therapeutic properties of fermented milks . New York: **Elsevier Applied Food Science Series**, p.185, 1991.
- ROCHA, C.R.; COBUCCI, M.A.; MAITAN, V.R.; SILVA, O.C. Elaboração e avaliação de iogurte sabor frutas do cerrado. **Boletim do Ceppa**, 26, 2: 255-266 (2008).
- 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**, v.21,n. 3, p. 304-309 ,2001.
- RODRIGUES, L.A.; ORTOLANI, M.B.T.; NERO, L.A. Microbiological quality of yoghurt commercialized in Viçosa, Minas Gerais, Brazil. **African Journal of Microbiology Research** v. 4, n.3, p. 210-213, fevereiro, 2010.
- RODRIGUES, L.R.; TEIXEIRA, J.A.; OLIVEIRA, R. Lowcost fermentative medium for biosurfactant production by probiotic bacteria. **Biochemical Engineering Journal**, Amsterdam, n. 32, n. 3, p. 135-142, 2006.
- RODRIGUES, M.A.M.; SANTOS,K.A. Qualidade microbiológica de iogurtes e bebidas lácteas fermentadas, comercializadas em Uberlândia/MG. **Revista Higiene Alimentar**, v. 21, n° 150, p. 39-40, abril 2006.
- SÁ, P.; OLIVEIRA, A.; BELAS, L.; CARINHA, E.; SANTOS, P. **Processamento do Iogurte Gordo Sólido**. Escola Superior Agrária De Coimbra. Processamento Geral dos Alimentos, Outubro 2007.
- SAAD, S. M. I.; **Probióticos e prebióticos: o estado da arte**. 2006. 16f. – Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, Tese Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2006.
- SABOYA, L.V. ; OETTERER, M. ; OLIVEIRA, A.J. Propriedades profiláticas e terapêuticas de leites fermentados- uma revisão. Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, SP, v. 31, n. 2, p. 176-185, 1997.
- SALINAS, R. J. Higiene quality of commercial yoghurts. **Alimentaria**, v.178, p.27-30, Madri, 1986
- SANTOS, J. P. V., FERREIRA, C. L. L. F. Alternativas para o aproveitamento de soro de queijo nos pequenos e médios laticínios. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 56, n. 3, p. 44-50, Juiz de Fora, 2001.
- SHAH, N. P. Probiotic bacteria: Enumeration and survival in dairy foods. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 894-907, 2000.
- SILVA, L. L.; STAMFORD, T. L. M. Alimentos probióticos: uma revisão. **Higiene Alimentar**, v. 14, n. 68-69, p. 41-50, 2000
- SINHA, R.; RADHA, C.; PRAKASH, J.; KAUL, P. Whey protein hydrolysate: Functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation. **Food Chemistry**, v. 101, n. 4, p. 1484-1491, London, 2007.
- SISO, M. I. G. The biotechnological utilization of cheese whey: a review. **Bioresource Technology**, Essex, v. 57, n. 1, p. 1-11, 1996.

- SOUZA, G.C. et al. Desenvolvimento de coalhada seca em diferentes tempos de processamento. **Revista Tecnológica**, Edição especial, p.75-82,Paraná 2011.
- SOUZA, P. H. M.; SOUZA NETO, M. H.; MAIA, G. A. Componentes funcionais nos alimentos. **Boletim da SBCTA**. v. 37, n. 2, p. 127-135, 2003.
- STOIANOVA, L.G., ABRAMOVA, L.A., LADODO, K.S., Sublimation-dried mare's milk and the possibility of its use in creating infant and dietary food products. **Voprosii Pitania**,v.3, p.64-67. 1988.
- SUKHOV, S.V., KALAMKAROVA, L.I., IL'CHENKO, L.A., ZHANGABYLOV, A.K.,. Microfloral changes in the small and large intestines of chronic enteritis patients on diet therapy including sour milk products. **Voprosii Pitania**,v. 7, p.14-17. 1986.
- TAMIME, A. Y.; DEETH, H. C. Yogurt: technology and biochemistry. **Journal of Food Protection**, v. 43, n. 12, p. 939-977, 1980.
- TAMINE, A.Y.; ROBINSON, R.K. Yoghurt: Science and Technology. 3.ed. Cambridge, **Woodhead Publishing Limited** p. 808, 2007.
- TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R.K. **Yogurt: Ciencia y tecnologia**. Zaragoza: Acribia, 368 p., 1991.
- TEBALDI, V. M. R.; RESENDE, J. G. O. S.; RAMALHO, G. C. A.; OLIVEIRA, T. L. C.; ABREU, L. R.; PICCOLI, R. H. Avaliação microbiológica de bebidas lácteas fermentadas adquiridas no comércio varejista do sul de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.4, p. 1085-1088, jul./ago. 2007.
- TEIXEIRA, L.J.Q. *et al.* Hábitos de consumo de frutas entre estudantes da Universidade Federal de Viçosa. **Revista Ceres**, Viçosa, v.53, n.307, p. 366-373, 2006.
- TEIXEIRA, L. V. **Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do soro de queijos minas padrão e mussarela produzidos em quatro regiões de Minas Gerais**. 42f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.
- THAMMER, K.G; PENNA,A.L.B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos acrescidas de prebióticos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p.589-595, 2006.
- THAMER, K.G; PENNA, A.L.B. Efeito do teor de soro, açúcar e de frutooligossacarídeos sobre a população de bactérias lácticas probióticas em bebidas fermentadas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 41, n.3, p.393-400, São Paulo, 2005.
- USDEC – UNITED STATES DAIRY EXPORT COUNCIL. Características, funções e novas aplicações das proteínas de soro e suas novas frações. **Food Ingredients**, São Paulo, n. 17, p. 50-56, 2002.

- VARNAM, A.H; SUTHERLAND, J.P. **Leche y productos lácteos: tecnología, química y microbiología**. Zaragoza (España): Editorial Acribia, 476 p., 1995.
- VEISSEYRE, R. **Lactologia Técnica – Composición, recogida, tratamiento y transformación de la leche**. Ed. Acribia, Zaragoza (España), p. 288-291, 1988.
- VIEIRA, A.C.P. **A percepção do consumidor diante dos riscos alimentares: A importância da segurança dos alimentos**. In: Âmbito Jurídico, Rio Grande, XII,n.68, set 2009. Disponível em:<http://www.ambitojuridico.com.br/site/index.php?n_link=revista_artigos_leitura&artigo_id=6587>. Acesso em: dez., 2012.
- VINDEROLA, C. G.; REINHEIMER, J. A. Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermented dairy products. **International Dairy Journal**, v. 10, n. 4, p. 271-275, 2000.
- WALSTRA, P.; GEURTS, T. J.; NOOMEN, A.; JELLEMA, A.; VAN BOEKEL, M. A. J. **Dairy Technology – principles of milk properties and processes**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1999.
- WALSTRA, P.; WOUSTERS, J.T.M.; GEURTS, T.J. **Dairy Science and Technology**. 2.ed. Boca Raton, London, New York, 2006.

CAPÍTULO II

QUALIDADE E INOCUIDADE MICROBIOLÓGICA DE DERIVADOS LÁCTEOS FERMENTADOS PRODUZIDOS NO DISTRITO FEDERAL, BRASIL

INTRODUÇÃO

Os avanços da ciência, o fácil acesso à informação e uma maior expectativa de vida da população, fazem com que os consumidores busquem alimentos mais saudáveis e com características organolépticas agradáveis, o que gera modificação de seus hábitos alimentares como a redução da quantidade de gorduras, açúcar, sal, colesterol e certos aditivos (SOUZA *et al.*, 2003; VIEIRA, 2009; MORAES e COLLA, 2006).

Com isso, os produtos lácteos fermentados são uma das opções para os consumidores, pois, além de poderem carrear probióticos, apresentam varias características nutricionais. Entre esses, há os leites fermentados e as bebidas lácteas fermentadas, que são fontes de cálcio e proteínas, apresentam melhor digestibilidade que o leite *in natura*, são fonte de minerais e vitaminas, além de controlar a microbiota intestinal, inibir a multiplicação de micro-organismos patogênicos no trato intestinal e diminuir o nível de colesterol no sangue. E ainda

apresentam baixo custo de produção e conseqüentemente, baixo preço final ao consumidor (PORTO *et al.*, 2005; ROBINSON, 1991; THAMER E PENNA, 2006; ROCHA, 2008).

Os leites fermentados são produtos alimentícios a base de leite, pasteurizado ou esterilizado, de diferentes espécies (vaca, ovelha, cabra e, em alguns casos, búfala e égua) que sofre um processo fermentativo modificando suas propriedades sensoriais, resultante da ação de bactérias específicas, obtendo-se uma coagulação e diminuição do pH do leite (ORDÓÑEZ-PEREIRA *et al.*, 2005). Podem ser adicionados ou não, de outros produtos lácteos para a fermentação láctica e de outras substâncias alimentícias, mas que não interfiram no processo de fermentação do leite pelos fermentos lácteos empregados (BRASIL, 2007).

Já a bebida láctea fermentada é um produto resultante da mistura de leite e soro de leite, sendo fermentada mediante ação de cultivo de micro-organismos específicos e/ou adicionada de leite(s) fermentado(s), não podendo ser submetido a tratamento térmico após a fermentação. Sua base láctica deve apresentar pelo menos 51% massa/massa do total de ingredientes do produto (BRASIL, 2005).

Diversas pesquisas realizadas no Brasil demonstram que os derivados lácteos fermentados, quando em desacordo com os padrões estabelecidos podem representar um grave risco à saúde dos consumidores (RODRIGUES e SANTOS, 2006; REIS *et al.*, 2006, TEBALDI *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2006; QUEVEDO *et al.*, 2005; RODAS *et al.*, 2001; COELHO *et al.*, 2009; PEREIRA *et al.*, 2007; RODRIGUES *et al.*, 2010; IGRAN *et al.*, 2002; ABDALLA E AHMED, 2010; ABDEL ALL E DARDIR, 2009 ; AKABANDA *et al.*, 2010). No caso do Distrito Federal e região do entorno, essas pesquisas são inexistentes, sendo que esta localidade conta com cinco estabelecimentos beneficiadores de derivados lácteos fermentados, que atendem parcialmente à demanda da população.

Tendo em vista a importância desses produtos para a alimentação humana, a escassez de pesquisas sobre o tema e a ausência de pesquisas na região, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade e a segurança microbiológica de leites fermentados (iogurte e coalhada) e de bebidas lácteas fermentadas, produzidos e comercializados por laticínios do Distrito Federal e região do entorno, por meio da determinação da microbiota presente, em busca da melhoria contínua da qualidade desses produtos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Colheita das amostras

Essa pesquisa abrangeu cinco laticínios produtores de derivados lácteos fermentados localizados no Distrito Federal e entorno, totalizando oito visitas, realizadas no período de abril a novembro de 2012, sendo os seus produtos - leite e derivados – destinados aos programas do Governo e ao comércio. Todos os laticínios visitados eram fiscalizados pelo Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal e Vegetal (DIPOVA) da Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento do DF.

As colheitas das amostras dos produtos foram realizadas conforme o plano de amostragem estabelecido pelos Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (Brasil, 2007) e de Bebidas Lácteas (Brasil, 2005), representando 21 lotes, sendo 13 de iogurte, 4 de coalhada e 4 de bebida láctea fermentada, totalizando 105 amostras (n=105).

Entre os produtos coletados, 69% das amostras de iogurtes e 100% das de bebidas lácteas fermentadas eram adicionados de polpa de fruta no final da sua produção, conforme Tabela 01.

Tabela 01. Classificação das amostras (n=105) de produtos coletados no período de abril a novembro de 2012, quanto a adição ou não de polpa de fruta, Brasília, 2013.

| Produtos coletados | Laticínios | | | | | | | | | | Total | |
|---------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | A | | B | | C | | D | | E | | | |
| | Com frutas | Sem frutas | Com frutas | Sem frutas | Com frutas | Sem frutas | Com frutas | Sem frutas | Com frutas | Sem frutas | Com frutas | Sem frutas |
| Iogurte (n=65) | 10 | 0 | 20 | 0 | 10 | 0 | 5 | 10 | 0 | 10 | 45 | 20 |
| Coalhada (n=20) | -- | -- | 0 | 10 | -- | -- | 0 | 10 | -- | -- | 0 | 20 |
| Bebida láctea fermentada (n=20) | 10 | 0 | 10 | 0 | -- | -- | -- | -- | -- | -- | 20 | 0 |

As amostras de iogurte, coalhada e bebida láctea fermentada foram colhidas das câmaras refrigeradas dos respectivos laticínios correspondendo ao lote produzido naquele período de colheita e em suas embalagens originais. Todas as amostras foram mantidas em condições adequadas de refrigeração (em recipiente isotérmico) até o momento das análises que foram realizadas no Laboratório de Análises de Leite

e Derivados, da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, da Universidade de Brasília (FAV/UnB).

Processamento das amostras

Diluições

As amostras foram homogeneizadas e alíquotas de 10 mL foram colhidas assepticamente e submetidas a diluições decimais seriadas (até 1:10⁻⁶) em solução salina (NaCl) a 0,85% (v/v) para a realização das análises microbiológicas (SILVA *et al.*, 2007).

Análises microbiológicas

A partir das diluições feitas no preparo das amostras foram selecionadas três diluições de cada. Para contagem de coliformes totais (CT) e *Escherichia coli* (EC) utilizou-se o Sistema Petrifilm^{TM1} EC e, para bolores e leveduras, o Sistema Petrifilm^{TM1} YM, conforme indicação do fabricante. Os resultados das contagens foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias/mL (UFC/mL/g).

Para a pesquisa de micro-organismos psicrotróficos (PSI) as diluições selecionadas foram semeadas em superfície e em duplicata em Ágar Padrão para Contagem² sendo incubadas a 7°C por 10 dias. Os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias/mL (UFC/mL/g) (SILVA *et al.*, 2007).

Na contagem de aeróbios mesófilos (AM), utilizou-se a metodologia preconizada pela Instrução Normativa nº 62/2003, que consistiu em semear 1,0 mL de duas diluições selecionadas (10⁻¹ e 10⁻³), em profundidade e em duplicata, em Ágar Padrão para Contagem² com incubação de 35°C por 48 horas. Os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias/mL (UFC/mL/g).

Para a contagem de *Staphylococcus coagulase positivo* (SA) foi semeada 0,1 mL das diluições selecionadas em superfície e em duplicata em Ágar Baird-Parker², espalhando-se o inóculo com o auxílio da alça de Drigalski até a completa absorção.

¹3M Microbiology, St. Paul, Minnesota, EUA.

²Neogen/Acumédia, Leasing, Michigan, EUA.

As placas foram incubadas a 35°C por 48 horas. Os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias/mL (UFC/mL/g) (BRASIL, 2003).

Já, a enumeração de bactérias ácido lácticas, foi baseada no protocolo descrito por Nero *et al.* (2006) e Ortolani *et al.* (2007). Foram realizadas diluições decimais em caldo MRS² (Man-Rugosa-Sharpe) até 1: 10⁻⁷. A partir de três diluições selecionadas (10⁻⁵ a 10⁻⁷), foram inoculados 1,0 mL em ágar MRS (Wehr e Frank 2004). As placas foram acondicionadas em frascos de anaerobiose com geradores de microaerofilia (Anaerobe Container System, GaspakTM EZ, BD) e incubadas a 35°C por 48 horas. Após, as placas com ágar MRS contendo 25-250 colônias foram selecionadas e as colônias foram enumeradas. Os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias/mL/g (UFC/mL/g). As bactérias ácido lácticas foram classificadas de acordo com a coloração de Gram e produção de catalase, a fim de se identificar características típicas de BAL (cocos ou bacilos Gram positivos, catalase negativos).

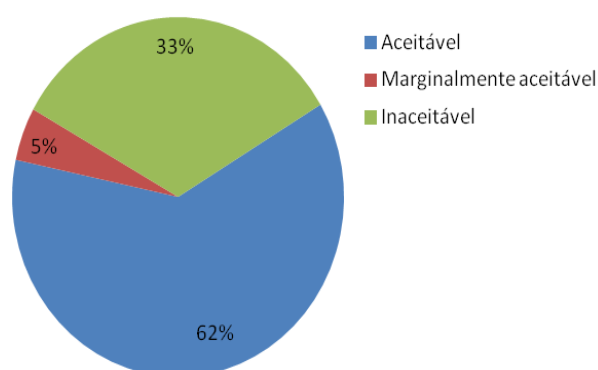
²Neogen/Acumédia, Leasing, Michigan, EUA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 21 lotes, totalizando 105 amostras, de derivados lácteos fermentados produzidos no Distrito Federal, 62% dos lotes foram considerados aceitáveis para o consumo humano, sendo que 33% dos lotes apresentaram pelo menos, um parâmetro em desacordo com a legislação, ou seja, impróprios para consumo (Figura1), e o laticínio B, foi o que apresentou maior porcentagem fora destes parâmetros.

Esta classificação foi baseada nos parâmetros microbiológicos e de contagem mínima de bactérias lácteas viáveis nas legislações vigentes, IN 16/2005 (RTIQ de bebidas lácteas) e IN 46/2007 (RTIQ de leites fermentados).

Figura 1. Ocorrência dos lotes (n=21) de leites fermentados e bebidas lácteas fermentadas de laticínios do Distrito Federal no período de abril a novembro de 2012, classificados como aceitável, marginalmente aceitável e inaceitável, Brasília, 2013.



Pela classificação dos lotes por produto analisado (Tabela 02), observou-se que a bebida láctea fermentada foi a que mais apresentou lotes aceitáveis para o consumo (75%), seguido do iogurte (61,5%) e, por último, da coalhada (50%).

Tabela 02. Classificação de lotes (n=21) de leites fermentados e de bebida láctea fermentada, quanto ao atendimento aos padrões vigentes, colhidos em laticínios do Distrito Federal, no período de abril a novembro de 2012, Brasília, 2013.

| Classificação do lote | Iogurte (n=13) | Coalhada (n=4) | Bebida láctea fermentada (n=4) |
|-------------------------|----------------|----------------|--------------------------------|
| Aceitável | 8 (61,5%) | 2 (50,0%) | 3 (75,0%) |
| Marginalmente aceitável | 1 (7,7%) | 0 (0,0%) | 0 (0,0%) |
| Inaceitável | 4 (4,0%) | 2 (50,0%) | 1 (25,0%) |

Contagens de Micro-organismos Aeróbios Mesófilos

Os resultados obtidos nas contagens de AM nas amostras de iogurte e coalhada estão contidos nas Tabelas 03 e 04 respectivamente, sendo observadas contagens médias de $5,3 \times 10^4$ UFC/mL para iogurte e de $7,2 \times 10^5$ UFC/g para coalhada.

Para o iogurte, estes valores foram considerados baixos, se comparados com os relatados por Silva *et al.* (2012) que, ao analisarem cinco marcas de iogurtes de produção caseira e industrializados na região de Santa Maria - RS, apresentam média de $1,0 \times 10^7$ UFC/mL por marca. Também, Rigueira (2005) em pesquisa que analisou iogurte contendo isolado protéico de soja obteve contagem média de AM de $4,8 \times 10^7$ UFC/mL e ainda, Beukes *et al.* (2001) que encontraram média de $7,7 \times 10^8$ UFC/mL em leites fermentados fabricados em potes de barro ou cabaças na África do Sul.

Com relação aos resultados obtidos nas contagens de AM nas amostras de bebida láctea fermentada, a contagem média foi de $6,8 \times 10^3$ UFC/mL, sendo que o maior valor encontrado foi de $7,6 \times 10^4$ UFC/mL. Estes valores são considerados baixos quando comparados com Barros *et al.* (2011) que encontraram valores em torno de 10^8 UFC/mL, em três coletas (n=15) de bebidas lácteas fermentadas, na cidade de Dourados-MT.

Segundo Franco (2008), as bactérias mesófilas são micro-organismos que quando presentes em grandes quantidades nos alimentos podem levar a deterioração e/ou diminuir sua vida de prateleira. A contagem de AM pode então, fornecer informações gerais das condições durante o processamento do alimento, ou seja, indica a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos. Além disso, a maioria dos alimentos apresenta alterações (deterioração levando a alterações organolépticas) quando se observam contagens de micro-organismos superiores a 10^6 UFC/mL.

Contagens de Coliformes Totais e *Escherichia coli*

De acordo com a legislação vigente, a tolerância para a presença de CT em iogurte, coalhada e bebida láctea fermentada é de $1,0 \times 10^2$ (BRASIL, 2005; 2007). Mas com relação a *E.coli* não há critérios microbiológico. Sendo esta, um patógeno de origem alimentar, pertencente ao grupo dos coliformes termotolerante (ao qual há parâmetros na legislação) e indicador de contaminação de origem fecal, nesta pesquisa optou-se por avaliar a presença desta bactéria, adotando os critérios

estabelecidos para CTt. Assim, de acordo com a legislação vigente, a tolerância adotada para presença de EC em iogurte, coalhada e bebida láctea foi de $1,0 \times 10^1$ UFC/mL/g (BRASIL, 2005; 2007; FORSYTHE, 2005).

Do total de amostras analisadas, cerca de 82% das amostras se apresentavam com valores abaixo de 10^2 UFC/mL/g de CT (Tabela 10), ou seja, abaixo do valor permitido pela legislação. Nas análises de iogurte, 54 (83%) foram consideradas aceitáveis apresentando média de $1,4 \times 10^2$ UFC/mL. Resultado semelhante aos valores encontrados para coalhada que apresentou 17 (85%) das 20 amostras também aceitáveis, indicando tratamento adequado na maioria dos casos, aquecimento de leite e altos padrões de higiene no processamento e embalagem o que poderia impedir sua recontaminação.

Em pesquisas realizadas em outros países como Líbano (Al-Kadamany *et al.*, 2003), Turquia (Con *et al.*, 1996), Portugal (Nogueira *et al.*, 1998), África do Sul (Beukes *et al.* 2001) e Egito (Abdel All e Dardir, 2009), os autores relatam altas contagens de coliformes e justificam baseados nas tradições locais já que, em alguns destes lugares os leites fermentados são fabricados em recipientes inapropriados, e de forma artesanal.

Na pesquisa de EC os resultados obtidos demonstraram que todas as amostras de iogurte e de coalhada apresentaram valores baixos (<10 NMP/mL/g) desta bactéria (Tabelas 06 e 07). Esse resultado está de acordo com os relatados em diversas pesquisas realizadas no Brasil (Silva *et al.*, 2012; Araujo *et al.*, 2011; Alves, 2010; Rodrigues *et al.*, 2010; Coelho *et al.*, 2009; Oliveira *et al.*, 2008; Rocha *et al.*, 2008; Quevedo *et al.*, 2005; Rigueira, 2005 e Moraes *et al.*, 2002), devendo-se salientar que, nestes estudos, como as amostras foram colhidas nos pontos comerciais, os autores utilizaram os critérios microbiológicos contidos na Resolução da Diretoria Colegiada nº 12/2001.

Em quase todas as indústrias de laticínios, o aquecimento do leite é a operação unitária mais amplamente utilizada na fabricação de iogurte. Esse tratamento térmico (temperaturas que podem variar de 85 - 95°C durante 1'30" até 8'30"), é geralmente aplicado em produção de iogurte, sendo suficiente para inativar a maioria, se não a totalidade, dos micro-organismos autóctones de leite cru (Con *et al.*, 1996;. Tamine, 2002; Olson e Aryana, 2008), incluindo os coliformes.

Com relação às amostras de bebidas lácteas fermentadas, os resultados da enumeração de CT demonstraram que 4/20 (20%) apresentaram contagens acima do limite máximo permitido, sendo que a contagem média foi de $6,9 \times 10^1$ UFC/mL e a contagem mais alta foi de $6,2 \times 10^2$ UFC/mL. Todas as amostras foram negativas para EC (Tabelas 05 e 08).

Estudos realizados relatam baixas contagens de CT em bebidas lácteas fermentadas no Brasil, que são atribuídas ao baixo pH do produto, que inibiria o desenvolvimento da maioria dos micro-organismos deteriorantes e patogênicos (ANDRADE *et al.*, 2011; BARROSO E RUBERT, 2007; LIMA *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2010; LIMA *et al.*, 2009; KRÜGER *et al.*, 2008; TEBALDI *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2001). Esses resultados ainda poderiam indicar que esses micro-organismos podem sofrer estresse e não serem detectados nas análises ou indicam boas condições higiênicas e sanitárias durante o processo de elaboração das bebidas lácteas (FORSYTHE, 2002).

Contagem de *Staphylococcus coagulase positivo*

Nas análises de SA, conforme as tabelas 03, 04 e 05 todas as amostras apresentaram valores médios abaixo de 10 UFC/mL/g, assim como encontrado por Rocha *et al.* (2008) ao analisarem amostras de iogurte com sabores de fruta do Cerrado (seis sabores distintos). Este fato se deve à multiplicação das bactérias ácido lácticas durante a fermentação, que resulta na produção de metabólitos, como o ácido láctico, que teria efeito inibitório sobre essas bactérias.

Beukes *et al.* (2001) e Abdel All e Dardir (2009), relataram ter encontrado este micro-organismo nos leites fermentados analisados, sendo que os últimos, relataram contagens médias de $5,1 \times 10^5$ UFC/mL/g, provavelmente devido às diferenças de fabricação do leite fermentado no Sudão utilizando leite cru.

Nesta pesquisa, as análises das bebidas lácteas fermentadas também apresentaram baixas contagens de SA com resultados entre <10 UCF/mL (Tabela 05). Resultado similar foi relatado por Andrade *et al.* (2011) em 40 amostras de bebidas lácteas fermentadas.

A legislação vigente não estabelece critérios para a presença de micro-organismos deste gênero em bebidas lácteas fermentadas e leites fermentados, embora seja um parâmetro importante, não só para a qualidade do produto, mas

também para os consumidores, uma vez que está relacionado com a intoxicação alimentar estafilocócica. Essa intoxicação é causada pela ingestão de enterotoxinas pré-formadas no alimento, previamente contaminado pela bactéria, por contaminação pós processo ou por contaminação direta dos manipuladores (a partir da boca, pele e fossas nasais), bem como devido à limpeza e sanitização inadequadas dos materiais e equipamentos (LAMAITA *et al.*, 2005; TRABULSI e ALTERTHUM, 2004).

Contagem de bolores e leveduras

Nesta pesquisa foram observadas contagens acima dos valores aceitáveis pela legislação vigente ($2,0 \times 10^2$) em 40/65 (61%) amostras de iogurtes, e em 6/20 (30%) amostras de coalhada, com contagens médias de $3,7 \times 10^3$ UFC/mL e $1,8 \times 10^6$ UFC/g, respectivamente (Tabelas 03 e 04). Mas 70% de todas as amostras apresentaram valores abaixo de 10^2 UFC/ml/g (Tabela 12). Em pesquisas realizadas, Quevedo *et al.* (2005), Oliveira *et al.* (2008), Coelho *et al.* (2009), Araujo *et al.* (2011) também relatam a presença de bolores e leveduras em iogurtes em baixas contagens.

A contagem elevada destes micro-organismos na coalhada provavelmente se deve ao acúmulo de ácido láctico que inibe a multiplicação das bactérias ácido lácticas e de bolores e leveduras (pela diminuição do pH). A adição de açúcar ou frutas nos iogurtes são especialmente susceptíveis a multiplicação de leveduras, uma vez que fatores como a qualidade inadequada das matérias-primas, meio ambiente, existência de falhas na higienização dos equipamentos que entram em contato direto com o produto podem acarretar produtos fora dos padrões microbiológicos recomendados ainda na própria indústria (COELHO *et al.*, 2009). Nesta pesquisa, 69% das amostras de iogurtes e 100% das bebidas lácteas fermentadas eram adicionados de polpa de fruta no final da sua produção.

Com relação às análises de bolores e leveduras nas bebidas lácteas fermentadas colhidas, o RTIQ (BRASIL, 2007) não apresenta parâmetros na legislação, mas nesta pesquisa foi detectada a presença em três (15%) amostras, e a contagem média das amostras foi de 5,1 UFC/mL (Tabela 05). Resultado semelhante foi encontrado por Andrade *et al.* (2011) e Krüger *et al.* (2008).

Estes resultados fornecem informações sobre as condições higiênicas mantidas durante o processamento e estocagem de um alimento, provavelmente inadequadas.

Contagem de micro-organismos psicrotróficos

As contagens de micro-organismos psicrotróficos em iogurte, coalhada e bebida láctea fermentadas foram significativamente baixas, com 87% das amostras com valores até 10^1 UFC/ml/g (Tabela 13). Não há parâmetros nas legislações vigentes sobre os valores permitidos para esses micro-organismos, entretanto os psicrotróficos podem ser considerados importantes indicadores da qualidade dos alimentos, pois são produtores de enzimas proteolíticas e lipídicas termoestáveis e responsáveis por processos de deterioração. Essas enzimas não são desnaturadas durante a pasteurização e geram sabor indesejável e por permanecerem ativas após o tratamento térmico, podem determinar alterações nos prazos de validade destes produtos. A presença desses micro-organismos pode ser devida a deficiências nos processos de limpeza e sanitização dos equipamentos utilizados na fabricação destes alimentos (FORSYTHE, 2002; JAY, 2005).

Contagem total de bactérias ácido lácticas viáveis

Nesta pesquisa, 58 (89%) amostras de iogurte e 20 (100%) de coalhada apresentaram contagens de BAL de acordo com o preconizado pela legislação, sendo que a média encontrada para iogurte foi de $2,5 \times 10^9$ UFC/mL e, para coalhada foi $1,4 \times 10^9$ UFC/g (Tabelas 03 e 04). Sendo, de acordo com a tabela 14, que o intervalo com maior frequência (41 das 105 amostras), dentre todas as coletadas, foi entre 10^8 e 10^9 UFC/mL/g. Resultados semelhantes às contagens médias de bactérias ácido lácticas em iogurtes relatadas por Beukes *et al.* (2001), Rodrigues *et al.* (2010) e Pereira *et al.* (2009) que também foram altas, acima de 10^7 UFC/mL.

No caso das bebidas lácteas fermentadas, comparando-se os resultados das amostras analisadas com os parâmetros preconizados pelo RTIQ quanto à contagem total de bactérias lácticas viáveis, verificou-se que 30% (4/20) das amostras estavam com resultados abaixo do especificado na legislação vigente, ou seja, de no mínimo 10^6 UFC/mL, sendo que a média foi de $1,4 \times 10^9$ UFC/mL (Tabela 05). De acordo com Forsythe (2002), a principal função das bactérias lácticas nos alimentos é a acidificação destes produtos em pH próximo de quatro, o que impede o desenvolvimento de bactérias indesejáveis pela produção de ácidos orgânicos, majoritariamente ácido láctico. A acidificação permite que o tempo de conservação dos

produtos fermentados seja maior que a dos produtos no qual a matéria prima não foi fermentada. Outra opção é desenvolver propriedades organolépticas dos produtos fermentados.

Alguns autores como Krüger *et al.* (2008), Brandão (2007), Silva *et al.* (2010), Andrade *et al.* (2011) e Cunha *et al.* (2008) indicam que a maioria dos produtos lácteos fermentados apresentam valores maiores que 1×10^6 UFC/mL e que o valor 1×10^7 UFC/mL poderia ser aceito como possível limite mínimo para a contagem celular. Uma vez que, de acordo com Forsythe, (2002), as bactérias lácticas são basicamente mesófilas, com capacidade de se multiplicarem num intervalo de temperatura de 5 a 45°C e pH em torno de 3,8.

Tabela 03. Resultados das médias das contagens obtidas nas análises microbiológicas de amostras de iogurte (n=65) colhidas em laticínios do Distrito Federal, no período de abril a novembro de 2012, Brasília, 2013.

| Laticínio | Análises Microbiológicas (UFC/mL/g) | | | | | | |
|---------------------|-------------------------------------|---------------------|----|-----|---------------------|---------------------|-----------------------|
| | AM | CT | EC | SA | B/L | BAL | PSI |
| A (n= 10) | 22x10 ⁴ | 0 | 0 | <10 | 1,8x10 ⁴ | 5,6x10 ⁸ | <10 |
| B (n= 20) | 9,8x10 ³ | 3,0x10 ² | 0 | <10 | 1,7x10 ³ | 4,4x10 ⁸ | <10 |
| C (n= 10) | 2,6 | 0 | 0 | <10 | 0 | 5,7x10 ⁸ | <10 |
| D (n= 15) | 1,8x10 ⁵ | 0 | 0 | <10 | 1,1x10 ² | 7,5x10 ⁸ | 1,9 X 10 ¹ |
| E (n= 10) | 2,4x10 ⁴ | 3,1x10 ² | 0 | <10 | 2,4x10 ³ | 7,4x10 ⁸ | <10 |
| Média (n=65) | 5,3x10 ⁴ | 1,4x10 ² | 0 | <10 | 3,7x10 ³ | 2,5x10 ⁹ | <10 |

AM: aeróbios mesófilos; CT: coliformes totais; EC: *E. coli*; SA: *S. coagulase positivo*; B/L: bolores e leveduras; BAL: bactérias ácido lácticas; PSI: psicrotróficos.

Tabela 04. Resultados das médias das contagens obtidas nas análises microbiológicas de amostras de coalhada (n=20) colhidas em laticínios do Distrito Federal, no período de abril a novembro de 2012, Brasília, 2013.

| Laticínios | Análises Microbiológicas (UFC/g) | | | | | | |
|----------------------|----------------------------------|---------------------|----|-----|---------------------|----------------------|------------------------|
| | AM | CT | EC | SA | B/L | BAL | PSI |
| A (n= 10) | 1,0x10 ⁶ | 3,0x10 ² | 0 | <10 | 3,0x10 ⁶ | 2,8x10 ¹⁰ | <4,0 x 10 ¹ |
| B (n= 10) | 4,0x10 ⁵ | 0 | 0 | <10 | 1,0 | 1,0x10 ¹⁰ | <10 |
| Média (n= 20) | 7,2x10 ⁵ | 1,5x10 ² | 0 | <10 | 1,8x10 ⁶ | 1,9x10 ¹⁰ | <2,9 x 10 ¹ |

AM: aeróbios mesófilos; CT: coliformes totais; EC: *E. coli*; SA: *S. coagulase positivo*; B/L: bolores e leveduras; BAL: bactérias ácido lácticas; PSI: psicrotróficos.

Tabela 05. Resultados das médias das contagens obtidas nas análises microbiológicas de amostras de bebida láctea fermentada (n=20) colhidas em laticínios do Distrito Federal, no período de abril a novembro de 2012, Brasília, 2013.

| Laticínios | Análises Microbiológicas (UFC/g) | | | | | | |
|----------------------|----------------------------------|---------------------|----|-----|-----|---------------------|------------------------|
| | AM | CT | EC | SA | B/L | BAL | PSI |
| A (n= 10) | 3,3x10 ² | 1,3x10 ² | 0 | <10 | 10 | 5,5x10 ⁸ | <8,6 x 10 ¹ |
| B (n= 10) | 1,3x10 ⁴ | 0,7 | 0 | <10 | 0,2 | 2,3x10 ⁹ | <4,8 x 10 ¹ |
| Média (n= 20) | 6,8x10 ³ | 6,9x10 | 0 | <10 | 5,1 | 1,4x10 ⁹ | <6,7 x 10 ¹ |

AM: aeróbios mesófilos; CT: coliformes totais; EC: *E. coli*; SA: *S. coagulase positivo*; B/L: bolores e leveduras; BAL: bactérias ácido lácticas; PSI: psicrotróficos.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos nesta pesquisa pode-se concluir que os produtos lácteos fermentados produzidos no Distrito Federal não atendem aos critérios de qualidade estabelecidos pelas Instruções Normativas nº 46 de 2007 e nº16 de 2005, quanto a contagem de coliformes totais (35°C), entretanto apresentaram contagens de bactérias ácido lácticas viáveis compatíveis com o exigido e não representam riscos microbiológicos relacionados a presença de *Escherichia coli* e *Staphylococcus coagulase positivo*.

Ainda, altas contagens de bolores e leveduras e de aeróbios mesófilos em amostras de iogurte e coalhada podem indicar deficiências no processamento e na higienização de equipamentos, sendo necessário maior rigor, desde a seleção de matérias-primas de boa qualidade, até o cumprimento das medidas higiênico-sanitárias, bem como na estocagem.

Assim, torna-se importante a atenção dos órgãos fiscalizadores das atividades industriais, para que seja ao consumidor um produto compatível com os padrões brasileiros e internacionais.

REFERÊNCIAS

- ABDEL ALL,A.A.A; DARDIR,H.A. Higienic quality of local traditional fermented skimmed milk (laban rayab) sold in Egypt. **World Journal of Dairy & Food Science** v. 4, n.2,p. 205-209,2009.
- AL-KADAMANY, E.; KHATTAR, M.; HADDAD, T.; TOUFEILI, I. Estimation of shelf-life of concentrated yogurt by monitoring selected microbiological and physicochemical changes during storage. **Food Science and Technology** v. 36, p. 407-414, 2003.
- ALVES, R. **Monitoramento das associações de Simbiose e Antibiose Microbiana em iogurtes comercializados na região oeste do Paraná**. Programa de iniciação científica, Campos Medianeira, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), agosto, 2010.
- ANDRADE, E.H.P.; *et al.*; Características microbiológicas de bebidas lácteas fermentadas. Resumo do pôster resumo 310-1 do **26º Congresso de microbiologia**, Foz do Iguaçu – PR, outubro, 2011.
- ARAÚJO,G.A. *et al.*, **Análise Microbiológica do logurte comercializado na cidade de Campina Grande – PB**. **Portal Ciência do Leite**, 01/08/2011. Disponível em: <<http://www.cienciadoleite.com.br/?action=1&a=275&type=0>>. Acesso em: 09/12/2012.
- EMBRAPA gado de leite**, Banco de dados, Juiz de Fora, 2010. In: PINHA, C.L; CARVALHO, G.R.; TRAVASSOS, G.F. Poder de compra e consumo de lácteos no Brasil Fórum das Américas: Leites e Derivados. 8º Congresso Internacional de Leite. Juiz de Fora. MG, junho, 2010.
- BARROS, L.A. *et al.* Qualidade microbiológica de bebidas lácteas fermentadas comercializadas na cidade de Dourados – MS.**Interbio**, v.5,n.2.,p. 44-49, 2011.
- BARROSO, R.R.; RUBERT,S. **Elaboração e caracterização de uma bebida láctea acrescida de farinha de quinoa e inulina**. Pato Branco- PR, 2007,75 f. Dissertação (graduação) – Bacharelado em química - Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Pato Branco- PR, 2007.
- BEUKES,E.M. BESTER,B.H. MOSTERT,J.F. The microbiology of South African traditional fermented milks. **International Journal of Food Microbiology**, 63, p. 189-197, South Africa, 2001.
- BRANDÃO, W. A. P. L. N. T. M. **Elaboração de bebida fermentada simbiótica de soro lácteo**. 2007. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis-SC, 2007.
- BRASIL, Resolução da Diretoria Colegiada nº. 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF. 10 jan. 2001. Seção 1, p.45-53.

- BRASIL. Instrução Normativa nº62 de 26 de agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da União**. Poder Executivo., 18 set. 2003, Seção 1, p.14.
- BRASIL, Instrução Normativa nº 16, de 23 de agosto de 2005. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF. 23 ago 2005. Seção 1, p. 7-10.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Instrução Normativa nº 46, de 23/10/2007. **Diário Oficial da União**, Seção 1, p. 4-7. Brasília, 24 out.2007.
- COELHO, F.J.O.; QUEVEDO,P.S.; MENIN, A.; TIMM, C.D. Avaliação do prazo de validade do iogurte. **Ciência Animal**, vol. 10, nº4, Goiás, 2009.
- CON, A.H.; CAKMAKCI, S.; CAGLAR A.; GÖKALP, H.Y. Effects of different fruits and storage periods on microbiological qualities of fruit-flavored yogurt produced in Turkey. **Jornal of Food Protection**.v. 59,p. 402-406, Des Moines,1996.
- CUNHA, T.M.; CASTRO,F.P.; BARRETO,L.M.; BENEDET,H.D.; PRUDENCIO, E.S. Avaliação físico-química, microbiológica e reológica de bebida láctea e leite fermentado adicionados de probióticos. **Semina: Ciências Agrárias**, v.29, n.1, p. 103-116, Londrina, jan/mar. 2008.
- FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre. Ed. Artmed, 2002.
- FRANCO, B. D. G. M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.
- JAY, J.M. **Microbiologia de Alimentos**, 6ª Ed., Porto Alegre, Ed. Artmed, 2005.
- KARDEL, G.; ANTUNES, L. A. F. Culturas lácticas e probióticas empregadas na fabricação de leites fermentados: leites fermentados. In: LERAYER, A. L. S.; SALVA, T. J. G. Leites fermentados e bebidas lácteas: tecnologia e mercado. **ITAL**, Cap. 2, p. 26-33, Campinas, 1997.
- KRÜGER, R.L; KEMPKA, A.P.; OLIVEIRA, D.; VALDUGA, E.; CANSIAN, R.L.; TREICHEL, H.; DI LUCCIO, M. Desenvolvimento de uma bebida láctea probiótica utilizando como substratos soro de leite e extrato hidrossolúvel de soja. **Alimentação e Nutrição**, v.19, n.1, p. 43-53, Araraquara, 2008.
- LAMAITA, H.C.*et al.* Contagem de *Staphylococcus* sp. e detecção de enterotoxinas estafilocólicas e toxinas de síndrome do choque tóxico em amostras de leite cru refrigerado. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57,n.5,p.702-709, 2005.
- LIMA, F.R.B.; PEREIRA,R.M.; MENEZES,A.C.S.; SILVA,C.G.M. **Avaliação microbiológica de bebidas lácteas fermentadas à base de soro de leite e**

- polpa de cajá.** X Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão – JEPEX 2010 – URFPE; Recife, outubro, 2010.
- LIMA, R. M. T. *et al.* Análise microbiológica e físico-química de bebidas lácteas comercializadas no Recife – PE. In: **Semana Nacional de Ciência e Tecnologia**, Recife/ PE, 2009.
- MORAES, C. M.; COELHO, F. J. O.; BÜCHLE, J.; GONZALEZ, H. L.; PORTO, C. R.; ARRIADA, E. O.; ROOS, T. B.; OLIVEIRA, D. S.; TIMM, C. D. Qualidade microbiológica do iogurte comercializado na cidade de Pelotas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 28., 2002, Gramado. **Anais...** Gramado. 2002. p. 161.
- MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v. 3, n. 2, p. 99-112, 2006.
- MONTINGELLI, N. M. M, **Pré-disposição do leite de cabra para a fabricação de queijos.** Monografia apresentada ao departamento de ciência dos alimentos da Universidade Federal de Lavra. Minas Gerais, 2005.
- NERO, L.A.; BELOTI, V.; BARROS, M.A.F.; ORTOLANI, M.B.T.; TAMANINI, R.; FRANCO, B.D.G.M. Comparison of Petrifilm Aerobic Count plates and the Man-Rugosa-Sharpe agar for enumeration of lactic acid bacteria. **Journal of Rapid Methods & Automation in Microbiology**, v. 14, p 249-257, jul 2006.
- NOGUEIRA C.; ALBANO, H.; GIBBS, P.; TEIXEIRA, P. Microbiological quality of Portuguese yogurts. **Journal of Industrial Microbiology Biotechnology**. v. 2, p. 19-21, 1998.
- OLIVEIRA, J. P. *et al.* Avaliação físico-química e microbiológica do iogurte semidesnatado comercializado na cidade de Salvador. **Higiene Alimentar**, v.21, n° 150, p. 138-139, abril, 2006.
- OLIVEIRA, K.A.M. *et al.* Formulation development of araticum yogurt and study of sensory acceptance. **Alimentos e Nutrição**. v.19, n.3, p. 277-281, Araraquara jul./set. 2008.
- OLSON, D.W., ARYANA, K.J. An excessively high *Lactobacillus acidophilus* inoculation level in yogurt lowers product quality during storage. **Food of Science Technology**. v. 41, p.911-918. 2008.
- ORTOLANI, M.B.T.; VIÇOSA, G.N.; BELOTI, V.; NERO, L.A. Screening and enumeration of lactic acid bacteria in milk using three different culture média in Petrifilm™ Aerobic Count plates and conventional pour plate methodology, **Journal of Dairy Research**, v. 74, p. 387-391, jul. 2007.
- PEREIRA, M.A.; ALMEIDA, D.M.; SAUER, E. Avaliação da concentração de bactérias ácido láticas viáveis em iogurtes com polpa de frutas. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 23, n. 170/171, p. 83-86, 2009.

- PFLANZER, S. B.; CRUZ, A. G.; HATANAKA, C. L. *et al.* Desenvolvimento do perfil sensorial e aceitação de bebida láctea achocolatada. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS. 24., 2007, Juiz de Fora, MG. **Anais...** Juiz de Fora: CT/ILCT – EPAMIG, 2007 p. 91-98.
- PORTO, J.A.; PICCOLI, C.; SALERNO, M.; HENRIQUE, I.T. Raquitismo carencial. **Scientia Medica**, v. 15, v. 2, p.112-115 , 2005.
- QUEVEDO, P. S; COELHO, F. J. O.; MENIN, A.; TIMM, C. D.; MORENO, C. B.; ROOS, T. B.. Avaliação da qualidade do iogurte comercializado no sul do Rio Grande do Sul ao final do prazo de validade. In: **Anais...** XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia, Santos, 2005.
- REIS, A.A.; SEIXAS, F.R.F.; SANTOS, V.A.Q.; SEIXAS, J.R.F.; HOFFMANN, F.L. Avaliação das condições higiênico-sanitárias de bebidas lácteas fermentadas, com adição de polpa de frutas produzidas na região de São José do Rio Preto, SP. **Revista Higiene Alimentar**, v. 21, n. 150, abril, 2006.
- RIGUEIRA, J.C.S. **Elaboração de iogurte contendo isolado proteico de soja**. 2005. Disponível em: <http://www.laticinio.net/inf_tecnicas.asp?cod=54>. Acesso em: 17/01/2013.
- ROBERT, N.F. Dossiê Técnico: Fabricação de Iogurtes. **Rede de Tecnologia da Bahia – RETEC/BA**. Bahia, Julho, 2008.
- ROBINSON, R.K. Therapeutic properties of fermented milks. New York: **Elsevier**, 185p., 1991.
- ROBINSON, R.K. Fermented Milks/Yoghurt, Role of Starter Cultures. pg 1059-1063. **Encyclopedia of Dairy Sciences**, United States, 2002.
- ROCHA, C.R.; COBUCCI, M.A.; MAITAN, V.R.; SILVA, O.C. Elaboração e avaliação de iogurte sabor frutas do cerrado. **Boletim do Ceppa**, 26, 2: 255-266, 2008.
- 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**, v.21, n.3, p. 304-309, 2001.
- RODRIGUES, L.A.; ORTOLANI, M.B.T.; NERO, L.A. Microbiological quality of yoghurt commercialized in Viçosa, Minas Gerais, Brazil. **African Journal of Microbiology Research** v. 4 ,n. 3, p. 210-213, fev. 2010.
- RODRIGUES, M.A.M.; SANTOS,K.A. Qualidade microbiológica de iogurtes e bebidas lácteas fermentadas, comercializadas em Uberlândia/MG. **Higiene Alimentar**, v. 21, n.150, p. 39-40, abr. 2006.
- SILVA,E.G.; SILVA JUNIOR, E.J.; LIMA,R,C,T.; SANTOS,A.S.; LIRA,L.B.; MENDES,E.S.; PAIVA,J.E. Avaliação Físico-Química e Microbiológica de Bebida

- Láctea Fermentada com diferentes proporções de soro de leite. X Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão – JEPEX 2010 – URFPE; Recife, outubro, 2010.
- SILVA, L.C. *et al.* Aspectos microbiológicos, pH e acidez de iogurtes de produção caseira comparados aos industrializados na região de Santa Maria – RS. **Disc. Scientia**. Séri: Ciências da Saúde, v.13, p. 111-120, Santa Maria, 2012.
- SILVA, M.R.; FERREIRA, C.L.L.F.; COSTA, N.M.B.; MAGALHÃES, J. Elaboração e avaliação de uma bebida láctea fermentada à base de soro de leite fortificada com ferro. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.56, n.3, p.7-14, 2001.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. *et al.* **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 3 ed. São Paulo: Varela, 2007. 552p.
- SOUZA, G.C. *et al.* Desenvolvimento de coalhada seca em diferentes tempos de processamento. **Revista Tecnológica**, Edição especial, V Simpósio de Engenharia, Ciência e Tecnologia de Alimentos, p.75-82, 2011.
- SOUZA, P. H. M.; SOUZA NETO, M. H.; MAIA, G. A. Componentes funcionais nos alimentos. **Boletim da SBCTA**. v. 37, n. 2, p. 127-135, 2003.
- TAMINE, A.Y. Fermented milks: a historical food with modern applications - a review. **Eur. J. Clin. Nutr.** 56: 01-15. 2002.
- TAMINE, A.Y.; ROBINSON, R.K. Yoghurt: Science and Technology. 3rd ed. Cambridge, **Woodhead Publishing Limited** p. 808, 2007.
- TRABULSI, L.R.; ALTHERTUM, F. **Microbiologia**. São Paulo: Atheneu, 2004.
- TEBALDI, V. M. R.; RESENDE, J. G. O. S.; RAMALHO, G. C. A.; OLIVEIRA, T. L. C.; ABREU, L. R.; PICCOLI, R. H. Avaliação microbiológica de bebidas lácteas fermentadas adquiridas no comércio varejista do sul de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.4, pg. 1085-1088, jul./ago. 2007.
- VIEIRA, A.C.P. **A percepção do consumidor diante dos riscos alimentares: A importância da segurança dos alimentos**. In: Âmbito Jurídico, Rio Grande, XII, n.68, set 2009. Disponível em: <http://www.ambitojuridico.com.br/site/index.php?n_link=revista_artigos_leitura&artigo_id=6587>. Acesso em: dez., 2012.
- WEHR, H.M.; FRANK, J.F. Standard methods for the examination of dairy products. **American Public Health Association**, 17th edn., 570 p., Washington, 2004. In: ORTOLANI, M.B.T. *et al.* Screening and enumeration of lactic acid bacteria in milk using three different culture media in PetrifilmTM Aerobic Count plates and conventional pour plate methodology, *Journal of Dairy Research*, vol. 74, pg 387-391, 9 jul. 2007.

CAPITULO III

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os derivados lácteos fermentados têm importância na dieta dos brasileiros por seu alto valor nutricional e grande consumo pela população. A qualidade microbiológica deles deve ser muito rigorosa por ser ingerida não só por adultos, mas por grupos de risco (idosos, gestantes, crianças e imunodeprimidos). Pretende-se com essa pesquisa, contribuir com dados e informações que possam auxiliar na melhora das condições de produção de derivados lácteos no Distrito Federal, com adoção de Boas Práticas de Fabricação nos laticínios e com o cumprimento das normas. Os RTIQ devem ser seguidos por todos os envolvidos na cadeia de produção destes e dos demais derivados lácteos. Como resultado, o consumidor terá um alimento seguro e sem risco para a saúde.

Esta pesquisa demonstrou a presença de micro-organismos com valores acima dos permitidos pelos seus respectivos RTIQ, que comprometem a sua qualidade e vida de prateleira, demonstrando que são necessárias medidas efetivas para a obtenção de produtos inócuos e saudáveis.

Assim, considera-se que mais pesquisas devem ser realizadas no sentido de monitorar a qualidade e eficiência na produção e, estabelecer uma estreita ligação entre o produtor de alimentos com os órgãos fiscalizadores a fim de beneficiar todos

aqueles diretamente envolvidos, garantindo um alimento de qualidade e com segurança para a sociedade.

ANEXOS

Tabela 06. Resultados das análises microbiológicas de amostras de iogurte (n=65) colhidas em laticínios do Distrito Federal, no período de abril a novembro de 2012, Brasília, 2013.

| Laticínios | Amostra | AM (UFC/mL) | CT (UFC/mL) | EC (UFC/mL) | SA (UFC/mL) | B/L (UFC/mL) | BAL (UFC/mL) | PSI (UFC/mL) |
|---------------|---------|-----------------------|-----------------------|-------------|-------------|-----------------------|------------------------|--------------|
| A (n = 10) | 1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | 2,0 x 10 ⁹ | <10 |
| | 2 | 5,3 x 10 ² | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | 1,1 x 10 ⁸ | <10 |
| | 3 | 7,5 x 10 ⁴ | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | 1,4 x 10 ⁹ | <10 |
| | 4 | 8,7 x 10 ⁴ | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | 2,7 x 10 ⁹ | <10 |
| | 5 | 6,7 x 10 ² | 0.0 | 0.0 | <10 | 1,8 x 10 ⁵ | 6,4 x 10 ⁹ | <10 |
| | 6 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | 3,8 x 10 ⁹ | NR |
| | 7 | 1,2 x 10 ² | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | 2,2 x 10 ⁹ | NR |
| | 8 | 2,3 x 10 ⁴ | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | 3,2 x 10 ⁹ | NR |
| | 9 | 2,4 x 10 ⁴ | 0.0 | 0.0 | <10 | 2,0 | 9,3 x 10 ⁹ | NR |
| | 10 | 1,0 x 10 ⁴ | 0.0 | 0.0 | <10 | 6,0 | 2,5 x 10 ¹⁰ | NR |
| MÉDIA | | 2,2 x 10 ⁴ | 0 | 0 | <10 | 1,8 x 10 ⁴ | 5,6 x 10 ⁸ | <10 |
| B (n = 20) | 1 | 2,0 | 0.0 | 0.0 | <10 | 1,0 | > 10 ⁷ | NR |
| | 2 | 5,0 x 10 ³ | 1,0 x 10 ² | 0.0 | <10 | 0.0 | 1,9 x 10 ¹⁰ | NR |
| | 3 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | 2,3 x 10 ¹⁰ | NR |
| | 4 | 2,3 x 10 ³ | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | 2,3 x 10 ¹⁰ | NR |
| | 5 | 4,0 x 10 ⁴ | 8,0 | 0.0 | <10 | 0.0 | 1,9 x 10 ¹⁰ | NR |
| | 6 | 2,0 | 0.0 | 0.0 | <10 | 1,0 | 0.0 | NR |
| | 7 | 3,7 x 10 ³ | 2,0 x 10 ³ | 0.0 | <10 | 1,6 x 10 ³ | 2,6 x 10 ⁸ | NR |
| | 8 | 3,5 x 10 ³ | 2,4 x 10 ² | 0.0 | <10 | 6,0 | 7,8 x 10 ⁷ | NR |
| | 9 | 4,2 x 10 ² | 2,0 x 10 ² | 0.0 | <10 | 6,0 | 0.0 | NR |
| | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | <10 | 1,0 | 2,0 x 10 ⁹ | NR |
| | 11 | 4,3 x 10 ² | 0.0 | 0.0 | <10 | 1,4 x 10 ² | 0.0 | NR |
| | 12 | 2,2 x 10 ² | 0.0 | 0.0 | <10 | 1,0 | 0.0 | NR |
| | 13 | 8,5 x 10 ³ | 7,9 x 10 ² | 0.0 | <10 | 9,2 x 10 ² | 1,6 x 10 ⁸ | NR |

| | | | | | | | | |
|---------------|----|-------------------|-------------------|-----|-----|-------------------|-------------------|-----|
| B (n=20) | 14 | $7,9 \times 10^4$ | $1,8 \times 10^3$ | 0.0 | <10 | $3,6 \times 10^3$ | 0.0 | NR |
| | 15 | $2,8 \times 10^2$ | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | $1,1 \times 10^8$ | NR |
| | 16 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | <10 | 1,0 | 0.0 | NR |
| | 17 | $2,5 \times 10^4$ | 0.0 | 0.0 | <10 | $2,5 \times 10^3$ | $1,1 \times 10^8$ | NR |
| | 18 | $2,5 \times 10^4$ | 4,0 | 0.0 | <10 | 4,0 | $7,0 \times 10^8$ | NR |
| | 19 | $6,3 \times 10^2$ | $4,7 \times 10^2$ | 0.0 | <10 | $2,1 \times 10^2$ | $1,0 \times 10^8$ | NR |
| | 20 | $2,3 \times 10^3$ | $3,9 \times 10^2$ | 0.0 | <10 | $2,6 \times 10^4$ | $1,0 \times 10^8$ | NR |
| MÉDIA | | $9,8 \times 10^3$ | $3,0 \times 10^2$ | 0 | <10 | $1,7 \times 10^3$ | $4,4 \times 10^9$ | NR |
| C (N = 10) | 1 | 0.0 | 0.0 | <10 | <10 | 0.0 | $6,2 \times 10^8$ | 10 |
| | 2 | 2,5 | 0.0 | <10 | <10 | 0.0 | $1,7 \times 10^8$ | 10 |
| | 3 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | $1,0 \times 10^9$ | <10 |
| | 4 | 5,5 | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | $4,0 \times 10^8$ | <10 |
| | 5 | 2,5 | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | $9,2 \times 10^8$ | <10 |
| | 6 | 4,0 | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | $1,8 \times 10^8$ | <10 |
| | 7 | 9,5 | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | $8,6 \times 10^7$ | <10 |
| | 8 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | $6,0 \times 10^8$ | <10 |
| | 9 | 2,5 | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | $1,0 \times 10^9$ | <10 |
| | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | $8,0 \times 10^8$ | <10 |
| MÉDIA | | 2,6 | 0 | 0 | <10 | 0 | $5,7 \times 10^8$ | <10 |
| D (n = 15) | 1 | $6,8 \times 10^4$ | 0.0 | <10 | <10 | 0.0 | $1,9 \times 10^9$ | <10 |
| | 2 | $4,8 \times 10^2$ | 0.0 | <10 | <10 | 0.0 | $9,6 \times 10^8$ | <10 |
| | 3 | $1,2 \times 10^3$ | 0.0 | <10 | <10 | 0.0 | $9,0 \times 10^7$ | <10 |
| | 4 | $9,9 \times 10^5$ | 0.0 | <10 | <10 | 0.0 | $7,8 \times 10^8$ | <10 |
| | 5 | $3,5 \times 10^5$ | 0.0 | <10 | <10 | 0.0 | $1,4 \times 10^8$ | <10 |
| | 6 | $5,0 \times 10^5$ | 0.0 | 0.0 | <10 | $2,3 \times 10^2$ | $3,1 \times 10^7$ | <10 |
| | 7 | $4,0 \times 10^5$ | 0.0 | 0.0 | <10 | $1,5 \times 10^2$ | $1,2 \times 10^9$ | <10 |
| | 8 | $1,4 \times 10^3$ | 0.0 | 0.0 | <10 | 8,0 | $5,5 \times 10^8$ | <10 |
| | 9 | $1,7 \times 10^3$ | 0.0 | 0.0 | <10 | $1,5 \times 10^2$ | $6,9 \times 10^8$ | <10 |

| | | | | | | | | |
|---------------------|----|-------------------|-------------------|-----|-----|-------------------|-------------------|---------------------|
| D (n = 15) | 10 | $1,1 \times 10^5$ | 0.0 | 0.0 | <10 | $1,1 \times 10^2$ | $2,0 \times 10^9$ | <10 |
| | 11 | $3,9 \times 10^5$ | 0.0 | 0.0 | <10 | $1,9 \times 10^2$ | $3,1 \times 10^8$ | <10 |
| | 12 | $3,7 \times 10^2$ | 0.0 | 0.0 | <10 | $2,4 \times 10^2$ | $5,8 \times 10^8$ | <10 |
| | 13 | $3,7 \times 10^2$ | 0.0 | 0.0 | <10 | $2,0 \times 10^2$ | $3,5 \times 10^8$ | <10 |
| | 14 | $4,6 \times 10^2$ | 0.0 | 0.0 | <10 | $2,7 \times 10^2$ | $1,2 \times 10^9$ | <10 |
| | 15 | $4,7 \times 10^2$ | 0.0 | 0.0 | <10 | $1,8 \times 10^2$ | $4,8 \times 10^8$ | $1,5 \times 10^2$ |
| MÉDIA | | $1,8 \times 10^5$ | 0 | 0 | <10 | $1,1 \times 10^2$ | $7,5 \times 10^8$ | $< 1,9 \times 10^1$ |
| E (N = 10) | 1 | $4,3 \times 10^4$ | $1,0 \times 10^3$ | 0.0 | <10 | 6,0 | $1,8 \times 10^9$ | <10 |
| | 2 | $3,0 \times 10^4$ | $1,3 \times 10^3$ | 0.0 | <10 | $1,4 \times 10^2$ | $2,0 \times 10^8$ | <10 |
| | 3 | $3,4 \times 10^2$ | 0.0 | 0.0 | <10 | $5,0 \times 10^2$ | $5,2 \times 10^8$ | <10 |
| | 4 | $3,4 \times 10^4$ | $8,4 \times 10^2$ | 0.0 | <10 | 0.0 | $1,1 \times 10^9$ | <10 |
| | 5 | $4,8 \times 10^4$ | 0.0 | 0.0 | <10 | $2,0 \times 10^2$ | $1,2 \times 10^9$ | <10 |
| | 6 | $4,4 \times 10^4$ | 0.0 | 0.0 | <10 | $3,3 \times 10^3$ | $5,7 \times 10^8$ | NR |
| | 7 | $2,1 \times 10^4$ | 0.0 | 0.0 | <10 | $2,6 \times 10^3$ | $2,1 \times 10^8$ | NR |
| | 8 | $1,2 \times 10^2$ | 2,0 | 0.0 | <10 | $9,9 \times 10^2$ | $2,0 \times 10^5$ | NR |
| | 9 | $1,3 \times 10^4$ | 0.0 | 0.0 | <10 | $2,9 \times 10^3$ | $1,3 \times 10^9$ | NR |
| | 10 | $0,9 \times 10^4$ | 5,0 | 0.0 | <10 | $1,4 \times 10^4$ | $5,5 \times 10^8$ | NR |
| MÉDIA (LATICINIO E) | | $2,4 \times 10^4$ | $3,1 \times 10^2$ | 0 | <10 | $2,4 \times 10^3$ | $7,4 \times 10^8$ | <10 |
| MÉDIA DOS IOGURTES | | $5,3 \times 10^4$ | $1,4 \times 10^2$ | 0,0 | <10 | $3,7 \times 10^3$ | $2,5 \times 10^9$ | <10 |

Análises: AM (aeróbios mesófilos); CT (coliformes a 35°C); EC (*E.coli*); SA (*S. coagulase positivo*); B/L (bolores e leveduras); BAL (bactérias ácido lácticas); PSI (psicrotróficos); NR (não realizado)

Tabela 07. Resultados das análises microbiológicas de amostras de coalhada (n=20) colhidas em laticínios do Distrito Federal, no período de abril a novembro de 2012, Brasília, 2013.

| Laticínios | Amostras | AM (UFC/g) | CT (UFC/g) | EC (UFC/g) | AS (UFC/g) | B/L (UFC/g) | BAL(UFC/g) | PSI (UFC/g) |
|---------------------|----------|-----------------------|-----------------------|------------|------------|-----------------------|------------------------|------------------------|
| B (n = 10) | 1 | 4,1 x 10 ⁵ | 0.0 | 0.0 | <10 | 3,7 x 10 ⁷ | 4,6 x 10 ¹⁰ | <10 |
| | 2 | 4,5 x 10 ⁵ | 0.0 | 0.0 | <10 | > 10 ⁴ | 5,5 x 10 ¹⁰ | <10 |
| | 3 | 9,0 x 10 ⁴ | 0.0 | 0.0 | <10 | > 10 ⁴ | 3,1 x 10 ¹⁰ | 2,0 x 10 ² |
| | 4 | 8,4 x 10 ⁶ | 3,0 | 0.0 | <10 | > 10 ⁴ | 3,3 x 10 ¹⁰ | <10 |
| | 5 | 7,1 x 10 ⁵ | 2,0 | 0.0 | <10 | > 10 ⁴ | 7,4 x 10 ¹⁰ | <10 |
| | 6 | 8,0 x 10 ¹ | 0.0 | 0.0 | <10 | 1,0 | 2,6 x 10 ¹⁰ | NR |
| | 7 | 1,1 x 10 ⁵ | 2,0 x 10 ³ | 0.0 | <10 | 0.0 | 9,4 x 10 ⁹ | NR |
| | 8 | 2,7 x 10 ⁵ | 1,0 x 10 ³ | 0.0 | <10 | 0.0 | 6,1 x 10 ⁹ | NR |
| | 9 | 2,5 x 10 ² | 0.0 | 0.0 | <10 | 1,0 | > 10 ⁷ | NR |
| | 10 | 2,2 x 10 ² | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | > 10 ⁷ | NR |
| MÉDIA (LATICÍNIO B) | | 1,0 X 10 ⁶ | 3,0 X 10 ² | 0 | <10 | 3,7 X 10 ⁶ | 2,8 X 10 ¹⁰ | <4,8 X 10 ¹ |
| D (n = 10) | 1 | 3,1 x 10 ⁴ | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | 5,0 x 10 ⁸ | <10 |
| | 2 | 2,8 x 10 ⁵ | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | 8,8 x 10 ⁸ | <10 |
| | 3 | 2,6 x 10 ⁵ | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | 6,4 x 10 ⁸ | <10 |
| | 4 | 7,3 x 10 ⁵ | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | 9,6 x 10 ⁸ | <10 |
| | 5 | 6,4 x 10 ⁴ | 0.0 | 0.0 | <10 | 3,0 | 2,3 x 10 ¹⁰ | <10 |
| | 6 | 5,5 x 10 ⁴ | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | 1,4 x 10 ¹⁰ | NR |
| | 7 | 5,5 x 10 ⁴ | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | 2,4 x 10 ¹⁰ | NR |
| | 8 | 8,4 x 10 ⁵ | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | 1,7 x 10 ¹⁰ | NR |
| | 9 | 1,0 x 10 ⁶ | 0.0 | 0.0 | <10 | 6,0 | > 10 ⁷ | NR |
| | 10 | 7,4 x 10 ⁵ | 0.0 | 0.0 | <10 | 1,0 | 2,9 x 10 ¹⁰ | NR |
| MÉDIA (LATICÍNIO D) | | 4,0 X 10 ⁵ | 0 | 0 | <10 | 1,0 | 1,0 X 10 ¹⁰ | <10 |
| MÉDIA DAS COALHADAS | | 7,2 X 10 ⁵ | 1,5 x 10 ² | 0 | <10 | 1,8 x 10 ⁶ | 1,9 x 10 ¹⁰ | <2,9 X 10 ¹ |

Análises: AM (aeróbios mesófilos); CT (coliformes a 35°C); EC (*E.coli*); SA (*S. coagulase positivo*); B/L (bolores e leveduras); BAL (bactérias ácido lácticas); PSI (psicrotróficos); NR (não realizado).

Tabela 08. Resultados das análises microbiológicas de amostras de bebida láctea (n=20) colhidas em laticínios do Distrito Federal, no período de abril a novembro de 2012, Brasília, 2013.

| Laticínio | Amostra | AM (UFC/mL) | CT (UFC/mL) | EC (UFC/mL) | AS (UFC/mL) | B/L (UFC/m) | BAL (UFC/mL) | PSI (UFC/mL) |
|---------------------|---------|-------------------|-------------------|-------------|-------------|-------------------|----------------------|---------------------|
| A (n = 10) | 1 | $6,2 \times 10^2$ | $6,2 \times 10^2$ | 0.0 | <10 | 0.0 | $1,5 \times 10^7$ | <10 |
| | 2 | $2,8 \times 10^2$ | $2,8 \times 10^2$ | 0.0 | <10 | 0.0 | $6,9 \times 10^8$ | $1,0 \times 10^2$ |
| | 3 | $2,3 \times 10^2$ | $2,3 \times 10^2$ | 0.0 | <10 | 0.0 | $3,7 \times 10^8$ | <10 |
| | 4 | $1,0 \times 10^2$ | $1,0 \times 10^2$ | 0.0 | <10 | 0.0 | $4,2 \times 10^8$ | <10 |
| | 5 | $1,5 \times 10^2$ | $1,5 \times 10^2$ | 0.0 | <10 | 0.0 | $1,1 \times 10^8$ | $1,0 \times 10^2$ |
| | 6 | $1,0 \times 10^3$ | 0.0 | 0.0 | <10 | $1,0 \times 10^2$ | $3,8 \times 10^8$ | NR |
| | 7 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | $2,0 \times 10^8$ | NR |
| | 8 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | $6,8 \times 10^8$ | NR |
| | 9 | $1,0 \times 10^3$ | 0.0 | 0.0 | <10 | 1,0 | $2,0 \times 10^9$ | NR |
| | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | $6,4 \times 10^8$ | NR |
| MÉDIA (LATICINIO A) | | $3,3 \times 10^2$ | $1,3 \times 10^2$ | 0 | <10 | 10 | $5,5 \times 10^8$ | $< 8,6 \times 10^1$ |
| B (n = 10) | 1 | $6,0 \times 10^3$ | 0.0 | 0.0 | <10 | 1,0 | $2,0 \times 10^5$ | <10 |
| | 2 | $1,0 \times 10^3$ | 1,0 | 0.0 | <10 | 0.0 | $< 10^5$ | <10 |
| | 3 | $3,0 \times 10^4$ | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | $< 10^5$ | $2,0 \times 10^2$ |
| | 4 | $1,0 \times 10^3$ | 0.0 | 0.0 | <10 | 1,0 | $4,0 \times 10^5$ | <10 |
| | 5 | $1,0 \times 10^3$ | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | $1,0 \times 10^5$ | <10 |
| | 6 | $1,6 \times 10^4$ | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | $2,0 \times 10^5$ | NR |
| | 7 | $1,0 \times 10^3$ | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | $9,2 \times 10^9$ | NR |
| | 8 | $1,4 \times 10^3$ | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | $> 10^7$ | NR |
| | 9 | $7,6 \times 10^4$ | 6,0 | 0.0 | <10 | 0.0 | $> 10^7$ | NR |
| | 10 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | <10 | 0.0 | $1,4 \times 10^{10}$ | NR |
| MÉDIA (LATICINIO B) | | $1,3 \times 10^4$ | 0,7 | 0 | <10 | <10 | $2,3 \times 10^9$ | $<4,8 \times 10^1$ |
| MÉDIA TOTAL | | $6,8 \times 10^3$ | $6,9 \times 10^1$ | 0 | 0 | 5,1 | $1,4 \times 10^9$ | $<6,7 \times 10^1$ |

Análises: AM (aeróbios mesófilos); CT (coliformes a 35°C); EC (*E.coli*); AS (*S. coagulase positivo*); B/L (bolores e leveduras); BAL (bactérias ácido lácticas); PSI (psicrotróficos) ; NR (não realizado)

Tabela 09. Frequência de distribuição da contagem de aeróbios mesófilos nas amostras coletadas (n=105).

| Intervalo de contagem de aeróbios mesófilos (UFC/ml/g) | Laticínios | | | | | Total de amostras |
|--|------------|----|----|----|----|-------------------|
| | A | B | C | D | E | |
| $<10^2$ | 5 | 7 | 10 | 0 | 0 | 22 |
| 10^2-10^3 | 8 | 7 | 0 | 5 | 2 | 22 |
| 10^3-10^4 | 2 | 12 | 0 | 3 | 0 | 17 |
| 10^4-10^5 | 5 | 8 | 0 | 5 | 8 | 26 |
| $>10^5$ | 0 | 6 | 0 | 12 | 0 | 20 |
| Total de amostras | 20 | 40 | 10 | 25 | 10 | 105 |

Tabela 10. Frequência de distribuição da contagem de coliformes (35°C) nas amostras coletadas (n=105).

| Intervalo de contagem de coliformes (35°C) (UFC/ml/g) | Laticínios | | | | | Total de amostras |
|---|------------|----|----|----|----|-------------------|
| | A | B | C | D | E | |
| $<10^2$ | 15 | 30 | 10 | 25 | 7 | 87 |
| 10^2-10^3 | 5 | 6 | 0 | 0 | 1 | 12 |
| 10^3-10^4 | 0 | 4 | 0 | 0 | 2 | 6 |
| 10^4-10^5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| $>10^5$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Total de amostras | 20 | 40 | 10 | 25 | 10 | 105 |

Tabela 11. Frequência de distribuição da contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva nas amostras coletadas (n=105).

| Intervalo de contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (UFC/ml/g) | Laticínios | | | | | Total de amostras |
|--|------------|----|----|----|----|-------------------|
| | A | B | C | D | E | |
| $<10^1$ | 20 | 40 | 10 | 25 | 10 | 105 |
| 10^1-10^2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Total de amostras | 20 | 40 | 10 | 25 | 10 | 105 |

Tabela 12. Frequência de distribuição da contagem de bolores e leveduras nas amostras coletadas (n=105).

| Intervalo de contagem de bolores e leveduras (UFC/ml/g) | Laticínios | | | | | Total de amostras |
|---|------------|----|----|----|----|-------------------|
| | A | B | C | D | E | |
| $<10^2$ | 18 | 28 | 10 | 16 | 2 | 74 |
| 10^2-10^3 | 1 | 3 | 0 | 9 | 4 | 17 |
| 10^3-10^4 | 0 | 3 | 0 | 0 | 3 | 6 |
| $>10^4$ | 1 | 6 | 0 | 0 | 1 | 8 |
| Total de amostras | 20 | 40 | 10 | 25 | 10 | 105 |

Tabela 13. Frequência de distribuição da contagem de psicrotróficos nas amostras coletadas (n=105).

| Intervalo de contagem de psicrotróficos (UFC/ml/g) | Laticínios | | | | | Total de amostras |
|--|------------|----|----|----|----|-------------------|
| | A | B | C | D | E | |
| $<10^1$ | 8 | 8 | 8 | 19 | 5 | 48 |
| 10^1-10^2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 | 7 |
| NR | 10 | 30 | 0 | 5 | 5 | 50 |
| Total de amostras | 20 | 40 | 10 | 25 | 10 | 105 |

Tabela 14. Frequência de distribuição da contagem de bactérias ácido lácticas nas amostras coletadas (n=105).

| Intervalo de contagem de bactérias ácido lácticas (UFC/ml/g) | Laticínios | | | | | Total de amostras |
|--|------------|----|----|----|----|-------------------|
| | A | B | C | D | E | |
| $<10^2$ | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 6 |
| 10^3-10^6 | 0 | 6 | 0 | 0 | 1 | 7 |
| 10^7-10^8 | 1 | 6 | 1 | 3 | 0 | 11 |
| 10^8-10^9 | 9 | 7 | 7 | 13 | 5 | 41 |
| 10^9-10^{10} | 9 | 4 | 2 | 4 | 4 | 23 |
| $>10^{10}$ | 1 | 11 | 0 | 5 | 0 | 17 |
| Total de amostras | 20 | 40 | 10 | 25 | 10 | 105 |