CAPÍTULO 16: ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE IOGURTES TIPO GREGO: FERMENTAÇÃO COM CULTURAS CONVENCIONAIS E KEFFIR**CAPÍTULO 16: PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE YOGURES GRIEGOS: FERMENTACIÓN CON CULTIVOS CONVENCIONALES Y KEFFIR****CHAPTER 16: PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF GREEK YOGURTS: FERMENTATION WITH CONVENTIONAL CULTURES AND KEFFIR**

Edângeryly da Silva Araújo¹; Apoená Urquiza da Silva;² Eduarda Maria de Souza;³ Vinícius da Costa Mandu⁴; Fabiana Augusta Santiago Beltrão⁵

DOI: <https://doi.org/10.31692/978-65-88970-18-8.228-240>

RESUMO

A busca constante por melhorias na qualidade de vida, saúde e bem-estar dos consumidores tem levado ao desenvolvimento de novos produtos pela indústria. O *keffir* é uma cultura de variedade de *Lactobacillus* e leveduras que atuam benéficamente modulando a microbiota intestinal. Devido a esta influência, o consumo de leite e seus derivados, têm sido crescentes uma vez que apresentam elevado valor nutricional. Tendo em vista, que a qualidade das bactérias coloniais pode interferir diretamente na saúde, o presente trabalho tem como objetivo analisar as características microbiológicas e físico-químicas de dois tipos de iogurte tipo grego: um fermentado com *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* e o outro com *Keffir*. Para tanto, foi realizada a contagem de coliformes a 35 °C e 45 °C, de bolores e leveduras, e de bactérias lácticas totais enquanto nas análises físico-químicas foram determinadas o teor de PH e da acidez (g de ácido láctico/100g) e cor. Os resultados evidenciaram que o produto elaborado para as duas formulações todos atenderam aos padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação, estando, portanto, aptos para o consumo. Da mesma forma que os parâmetros físico-químicos analisados nas formulações desenvolvidas também se encontraram dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente. Dessa forma, foi possível elaborar iogurtes tipo grego com a utilização de *keffir* com padrões microbiológicos e físico-química semelhante aos iogurtes convencionais.

Palavras-Chave: Bactérias lácticas, Coliforme, Análise físico-química.

RESUMEN

La búsqueda constante de mejoras en la calidad de vida, salud y bienestar de los consumidores ha llevado al desarrollo de nuevos productos por parte de la industria. *Keffir* es una variedad de cultivo de *Lactobacillus* y levaduras que actúan benéficamente modulando la microbiota intestinal. Debido a esta influencia, el consumo de leche y sus derivados han ido en aumento ya que tienen un alto valor nutricional. En vista de que la calidad de las bacterias coloniales puede interferir directamente con la salud, el presente trabajo tiene como objetivo analizar las características microbiológicas y físico-químicas de dos tipos de yogur de tipo griego: uno fermentado con *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* y el otro con *Keffir*. Para ello, se realizaron recuentos de coliformes a 35 °C y 45 °C, de mohos y levaduras, y bacterias lácticas totales, mientras que en los análisis físicoquímicos se determinaron el contenido de PH y acidez (g ácido láctico/100g) y el color. Los resultados mostraron que el producto preparado para las dos formulaciones cumplía todos los estándares microbiológicos establecidos por la legislación, siendo, por tanto, apto para el consumo. Del mismo modo que los parámetros físico-químicos analizados en las formulaciones desarrolladas también se encontraban dentro de los estándares establecidos por la legislación vigente. De esta manera, fue posible elaborar yogures griegos con el uso de *keffir* con patrones microbiológicos y físico-químicos similares a los

¹Graduanda de Bacharelado em Agroindústria, Universidade Federal da Paraíba-Campus III, edangerlyaraujo@gmail.com

²Graduanda de Bacharelado em Agroindústria, Universidade Federal da Paraíba-Campus III, apoenaurquiza@outlook.com

³Graduanda em ABI-Engenharias, Universidade Federal de Pernambuco-campus Recife, eduarda.mariasouza@ufpe.br

⁴ Graduando de Licenciatura em Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, viniciumandu@gmail.com

⁵ Doutora, CAVN/CCHSA/UFPB, Bananeiras-PB, fabs.15@hotmail.com

yogures convencionales.

Palabras Clave: Bacterias lácticas, Coliformes, Análisis físico-químico.

ABSTRACT

The constant search for improvements in the quality of life, health and well-being of consumers has led to the development of new products by the industry. *Keffir* is a variety culture of *Lactobacillus* and yeasts that act beneficially modulating the intestinal microbiota. Due to this influence, the consumption of milk and its derivatives have been increasing since they have high nutritional value. In view, that the quality of colonial bacteria can directly interfere with health, the present work sees as objective to analyze the microbiological and physical-chemical characteristics of two types of Greek type yogurt: one fermented with *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* and the other with *Keffir*. For this, coliform counts at 35 °C and 45 °C, molds and yeasts, and total lactic bacteria were performed, while in the physicochemical analyses the PH and acidity content (lactic acid g/100g) and color were determined. The results showed that the product prepared for the two formulations all met the microbiological standards established by the legislation, being, therefore, fit for consumption. In the same way that the physical-chemical parameters analyzed in the developed formulations were also within the standards established by the current legislation. Thus, it was possible to elaborate Greek yogurts with the use of *keffir* with microbiological and physical-chemical patterns similar to conventional yogurts.

Keywords: Lactic bacteria, Coliform, Physical-chemical analysis.

INTRODUÇÃO

A busca por uma melhor qualidade de vida e a diversidade de alimentos com alegação de promover a saúde, têm tornado o consumidor progressivamente mais exigentes. De acordo com Hekmat e Reid (2006), as pessoas estão cada vez mais interessadas em incorporar alimentos saudáveis em sua dieta. Dentre os produtos que tem se aumentado é o iogurte, devido à grande diversidade de sabores, composições e viscosidades disponíveis para os consumidores (BOYLSTON, 2006). Além da qualidade da composição nutricional dos iogurtes, a utilização de diferentes culturas pode melhorar ainda mais os benefícios deste alimento no organismo.

Os grãos de *keffir* são massas gelatinosas medindo de 3 a 35 mm de diâmetro, possuem uma aparência semelhante à couve-flor, apresentando forma irregular e coloração amarelada ou esbranquiçada. Nesta estrutura, existe uma associação simbiótica de leveduras, bactérias ácido-láticas, bactérias ácido-acéticas, entre outros microrganismos, envoltas por uma matriz de polissacarídeos. Os grãos de *keffir* são capazes de fermentar diversos alimentos. A produção da bebida ocorre diretamente pela adição dos grãos no substrato de preferência. Mas, de forma geral, o sabor e o aroma do *keffir* são resultados da atividade metabólica simbiótica das bactérias e das leveduras que se encontram naturalmente nos grãos. Atualmente, são conhecidos um tipo de *keffir*: de leite.

A expansão do mercado de alimentos funcionais, como o desenvolvimento de produtos com característica probiótico, tem incidido atenção crescente em relação aos lácteos fermentados, como o iogurte (KARIMI; MORTAZAVIAN; CRUZ, 2011). Define-se iogurte

alimento, de aparência viscosa, obtido por acidificação do leite por bactérias lácticas (*Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* e *Streptococcus salivarius ssp. Thermophilus*) (HEKMAT e REID, 2006). De acordo com a legislação, é definido como um produto adicionado ou não de outras substâncias alimentícias, obtido por coagulação e diminuição do PH do leite, por fermentação láctica mediante a ação protossimbiótica de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* aos quais pode se acompanhar, de forma complementar, outras bactérias ácido-lácticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final (Brasil, 1998).

Produzido em vários países, o iogurte tipo grego pode ser considerado como um produto intermediário entre os leites fermentados tradicionais e os queijos não maturados, apresentando alto teor de umidade como queijo *quark*, *boursin* e *petitsuisse* (RAMOS et al., 2009). Sua consistência é espessa e cremosa, com uma concentração de sólidos totais de aproximadamente 24% e gorduras de 10% e seu processo de obtenção é através de diferenciado processo de dessoragem em pequena escala e a nível industrial. (VARNAM e SUTHERLAND, 1994).

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

De acordo com a Instrução Normativa nº 46 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) que trata do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, “entende-se por Leites Fermentados os produtos adicionados ou não de outras substâncias alimentícias, obtidas por coagulação e diminuição do PH do leite, ou reconstituído, adicionado ou não de outros produtos lácteos, por fermentação láctica mediante ação de cultivos de microrganismos específicos. Estes microrganismos específicos devem ser viáveis, ativos e abundantes no produto final durante seu prazo de validade”. Os alimentos com consistência de iogurte é o produto obtido pela fermentação do leite tradicionalmente pelos microrganismos *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus*, e é caracterizado por consistir em um gel suave, viscoso com delicado sabor característico. O crescimento destes microrganismos ocorre de forma simbiótica. O fato de ser considerado um alimento de alto valor nutritivo, e passível de modificações no seu processo de fabricação com diferentes teores de gordura, adição de frutas, mel e cereais. O que favorece sua expansão do mercado alimentício (LIMA, 2009). As matérias-primas habituais para elaboração do iogurte são o leite de vaca, o de cabra e o de ovelha, mas existem versões mais incomuns como o de búfala e até de égua, rena e de camela. Desde muito tempo diversas civilizações tem conhecimento dos benéficos sobre a saúde. Originário do Oriente Médio, a evolução desse produto fermentado ao longo dos anos pode ser atribuída às habilidades culinárias dos povos nômades desta parte do mundo (TAMIME; ROBINSON, 1991). Na Europa o iogurte surgiu nos meados do século XVI, proveniente do Império Otomano. Nessa época, acreditava-se que a força e coragem de Gengis Khan vinham de sua alimentação à base de carne crua e iogurte. Vale a menção que o imperador Francisco I, da França (1494-1547) chamava-o pelo sugestivo apelido de “leite da vida eterna”.

Um grande admirador do iogurte foi o líder indiano Mahatma Gandhi que incentivou o consumo de iogurte entre o seu povo. Chama atenção entre os textos deixados por ele, como a reforma alimentar, que contém um capítulo dedicado ao leite com ênfase ao iogurte, contudo sua obtenção seria a partir da utilização de leite desnatado. Entende-se por iogurte o produto cuja fermentação se realiza com cultivos protossimbióticos de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, aos quais se podem acompanhar, de forma complementar, outras bactérias ácido-láticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final (BRASIL, 2007). O iogurte é um produto simples de fabricar e um alimento de fácil consumo. Após fabricado deve ser mantido a uma temperatura fria (5 °C) para não alterar as suas características. Além de suas características sensoriais interessantes o iogurte apresenta ainda reduzidos teores de lactose, uma vez que esse carboidrato é convertido em ácido láctico durante o processo de fermentação, sendo aceito por indivíduos que possuem intolerância a lactose (CARNEIRO, 2012). Segundo Carneiro (2012), a lactose particularmente transformada em ácido láctico, durante o percurso da fermentação, facilitou a assimilação do iogurte em indivíduos com intolerância à lactose, os quais tem problemas em assimilar os nutrientes do leite. A acidez do iogurte confere uma proteção natural contra infecções, manifestandose na inibição de diferentes bactérias patogênicas no iogurte, o ácido láctico dissolve o cálcio presente no iogurte favorecendo a sua assimilação. As proteínas do leite que tem um alto valor biológico são parcialmente digeridas por uma ação das bactérias permitindo uma melhor digestão. As vitaminas do leite ajudam no desenvolvimento das bactérias lácticas que, aumentando assim a variedade de nutrientes presentes no iogurte que apresenta uma ampla variedade de minerais, destacando-se com maior importância o cálcio biodisponível (CERQUEIRA, 1999; BRASIL, 2007).

Keffir

Os grãos de Keffir são constituídos por leveduras fermentadoras de lactose (*Kluyveromyces marxianus*) e leveduras não fermentadoras de lactose (*Saccharomyces omnispurus*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces exiguus*), *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium sp* e *Streptococcus salivarius subsp thermophilus* (BRASIL, 2007). O iogurte define-se como um gel, de aparência viscosa, devido à acidificação pelas bactérias *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* e *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* (CARNEIRO et al, 2012), identificadas como bactérias lácticas (BAL), o que o torna um probiótico atrativo aos consumidores devido à sua ação benéfica no organismo do ponto de vista nutricional e de saúde (HEKMAT e REID, 2006). De acordo com a legislação, este derivado lácteo fermentado é definido como um produto adicionado ou não de outras substâncias alimentícias, obtido por coagulação e diminuição do PH do leite, por fermentação láctica mediante a ação protossimbiótica de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, aos quais pode-se complementar outras bactérias (BRASIL, 2007). O iogurte feito com Keffir é uma bebida láctea fermentada, ligeiramente efervescente e espumosa que difere do iogurte por ser mais líquida e por conter, além do ácido láctico, álcool e gás carbônico. Este produto cuja fermentação se realiza com cultivos ácido lácticos elaborados com grãos de Keffir, *Lactobacillus keffir*, espécies dos gêneros *Leuconostoc*, *Lactococcus* e *Acetobacter*. Apresenta as seguintes características sensoriais: sabor levemente ácido,

alcoólico, com formação de *flavor* típico de leveduras; ocorre produção de CO₂ (SOUZA; GARCIA e VALLE. 1984). Duggan et al. (2003) afirmam que os benefícios do consumo de *keffir* são inúmeros, mas os principais são: incrementar o valor biológico das proteínas do leite; sintetizar ácido láctico, o que diminui a intolerância a lactose e favorece a digestibilidade do leite mesmo para pessoas que sejam sensíveis ao leite de vaca; sintetizar vitaminas do complexo B; aumentar a resistência a infecções; ativar o sistema imunológico; restabelecer e equilibrar a flora intestinal; é regulador da flora intestinal, podendo ser usado em situações de mal funcionamento do trato gastro intestinal, risco de câncer, principalmente de cólon e diminuição do LDL. O *keffir* também fornece energia e diversas outras vantagens ao organismo de quem o ingere, aumenta a imunidade, ativa a regulação intestinal e combate os diversos problemas, como acidez estomacal, distúrbios nervosos, disfunção hepática, reumatismo, colesterol alto, alergias, candidíase, asma, acne, problemas renais, problemas circulatórios, osteoporose, hepatite, bronquite, tuberculose, descontrole da produção de bÍlis, alergias, enxaqueca, males do cólon, úlceras, problemas digestivos, colites, bactérias hostis, prisão de ventre, diarreia, inflamações intestinais, ansiedade, depressão, auxilia na regulação da pressão sanguínea, melhora o sistema imunológico contra inúmeras doenças, reduz o diabetes, reduz o processo de envelhecimento e possui o kefiran, tido como um anticancerígeno (OLIVEIRA et al. 2002). O *keffir* que é um probiótico de cultura milenar, com poderes curativos desde o início do décimo oitavo século. A Fermentação Láctica consiste na conversão anaeróbica parcial de carboidratos (mais especificamente a glicose), com a produção final de ácido láctico, entre outras substâncias orgânicas. É um processo microbiano de grande importância utilizado na produção de laticínios, na produção de picles e chucrute, e na conservação de forragens.

Pode ser Homoláctica ou Heteroláctica:

- Na Homoláctica, as bactérias agem sobre a lactose, transformando-a em glicose e galactose. Neste tipo de fermentação a glicose é reduzida a ácido láctico, podendo ocorrer formação de etanol e CO₂.
- Na Heteroláctica, há formação de CO₂, etanol e ácido láctico nas mesmas proporções (FERREIRA, 2001). A reação de fermentação láctica pode ser resumida por:
 $1 \text{ Glicose} \rightarrow 2 \text{ Ácido láctico}$. Durante a fermentação, as bactérias do iogurte, *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*, crescem simbioticamente, produzindo ácido láctico e compostos aromáticos, formando um coágulo. No início da fermentação, a acidez do leite (menor que 20° D).

O Keffir pode ter um gosto refrescante e levemente azedo, com um aroma suave de fermento fresco semelhante a cerveja, assim como também pode ter um sabor forte efervescente natural e picante. O sabor depende da relação entre a quantidade de leite e grãos de *Keffir* e do tempo que se deixa fermentar. Ainda segundo a IN n°46 do MAPA, considerando as características físico-químicas, os leites fermentados devem seguir, em particular, os requisitos apresentados na Tabela 01.

Tabela 01: Características físico-químicas dos leites fermentados

Produto	Acidez (g. de ác. Láctico/100g	Etanol (% v/m)
Iogurte	0,6 a 1,5	-
Leite fermentado ou cultivado	0,6 a 2,0	-
Leite acidófilo ou acidofilado	0,6 a 2,0	-
Keffir	<1,0	0,5 a 1,5
Kumys	>0,7	Min. 0,5
Coalhada	0,6 a 2,0	-

Fonte: (BRASIL, 2007)

Vale (2003), afirma que devido às suas propriedades, o *keffir* é um alimento extremamente nutritivo, podendo revelar-se benéfico, pois aumenta o valor biológico das proteínas do leite. Ajuda ainda a sintetizar o ácido láctico, reduzindo a lactose, favorecendo assim, a digestão do leite; bem como modular a microbiota e a flora intestinal.

Os alimentos probióticos podem ajudar a neutralizar os microrganismos patogênicos responsáveis pelas infecções. Os alimentos com estas características são ainda úteis em casos de colites, prisão de ventre e, segundo alguns nutricionistas, podem até ajudar a reduzir os riscos de câncer de cólon. Para além das qualidades referidas, desempenham um papel significativo no fortalecimento do sistema imunológico (CARNEIRO, et al. 2012).

O keffir é rico em ácido láctico, acético e glicônico, álcool etílico, gás carbônico, vitamina B12 e polissacarídeos. O ácido láctico é o principal metabólito formado durante o processo de fermentação do *keffir* e tal processo é capaz de converter de 20 a 50% da lactose em ácido láctico, sendo que este é um conservante natural, o que faz o *keffir* ser um produto biologicamente seguro (SOUZA; GARCIA e VALLE, 1984). Segundo o Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) de Campinas/SP, a composição do *keffir* está discriminada na tabela abaixo (Tabela 02):

Tabela 02: Composição do keffir

Componentes	Valores Aproximados
Água	87%
Acidez em graus dornic (°d)	80 (no final da incubação)
Proteínas totais	3,4 – 4,2%
Sacarose	4,4 (mínimo)
Gordura	0,5 – 3,0%
Matérias albuminóides	3,1%
pH	4,2 – 4,5%
Acidez volátil	3,9 ml de NaOH n/10x100ml
Caseína	2,8%
Albumina	0,2%
Lactose	2,6 – 3,75%
Peptonas	0,06%
Acido láctico	0,7%
Álcool	0,23 – 1%
Gás carbônico	20-25% (v/v)
Minerais	0,74 – 0,8%
Diacetil	0,49mg/l
Acetoaldeido	1,30 mg/l

Fonte: Carneiro (2012)

As principais bactérias e leveduras encontradas no kefir, descritas no quadro a seguir (Tabela 03).

Tabela 03: Principais bactérias e leveduras encontradas kefir

Lactobacilos	Estreptococos e	Leveduras	Acetobactérias
<i>Lb. Acidophilus</i>	<i>Lactococci lactis subsp.</i>	<i>Candida Kefir</i>	<i>Acetobacter aceti</i>
<i>Lb. Brevis</i>	<i>Lactis</i>	<i>C. pseudotropicalis</i>	<i>A. rasens</i>
<i>Lb. Casei</i>		<i>C. rancens</i>	
<i>Lb. Casei subsp.</i>	<i>Lc. Lactis var. diacetylactis</i>	<i>C. tenuis</i>	
<i>Rhamnosus</i>		<i>Kluyveromyces</i>	
<i>Lb. Casei subsp.</i>	<i>Lc. Lactis subsp. Cremoris</i>	<i>Lactis</i>	
<i>Pseudoplatanus</i>		<i>Kluyveromyces</i>	
<i>Lb. Paracasei subsp.</i>	<i>Streptococci salivarius</i>	<i>Marxianus var.</i>	
<i>Paracasei</i>	<i>Subsp. Thermophilus</i>	<i>Marxianus</i>	
<i>Lb. Cellobiosus</i>		<i>K. bulgaricus</i>	
<i>Lb. Delbrueckii subsp.</i>	<i>Strep. Lactis</i>	<i>K. fragilis/</i>	
<i>Bulgaricus</i>		<i>Marxianus</i>	
<i>Lb. Delbrueckii subsp.</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Saccharomyces</i>	
<i>Lactis</i>	<i>Durans</i>	<i>Subsp. Torulopsis</i>	
<i>Lb. Fructivorans</i>		<i>Holmii</i>	
<i>Lb. Helveticus subsp.</i>	<i>Leuconostoc cremoris</i>	<i>Saccharomyces</i>	
<i>Lactis</i>		<i>Lactis</i>	
<i>Lb. Hilgardii</i>	<i>Leuc. Mesenteroides</i>	<i>Sacc.</i>	
<i>Lb. Kefiri</i>		<i>Carlsbergensis</i>	
<i>Lb. Kefiranofaciens</i>		<i>Sacc. Unisporus</i>	
<i>Lb. Kefirgranum sp. No</i>		<i>Debaryomyces</i>	
<i>Lb. Parakefir sp. Nov</i>		<i>Hansenii</i>	
<i>Lb. Lactis</i>		<i>Zygosaccharomyce</i>	
<i>Lb. Plantarum</i>		<i>S rouxii</i>	

Fonte: Frengova (2002)

METODOLOGIA

O iogurte tipo grego foi desenvolvido no Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Produtos Laticínios – PDLAT, situado na Universidade Federal da Paraíba - UFPB – Campus III – Bananeiras-PB, no período de maio a junho de 2018.

Produção do iogurte tipo grego

Para obtenção dos “iogurtes” tipo grego foi utilizado o fermento lácteo constituído de culturas termofílicas de *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, fornecido pela Christian Hansen ® e outro iogurte com *Keffir*. Foram utilizados para o desenvolvimento do iogurte grego, leite integral (10 litros para cada produção) para a fermentação do iogurte foi utilizada cultura láctica comercial liofilizada de inoculação direta no leite (YO-Flex) homo fermentativa e açúcar cristal Monte Alegre®. Após a adição da cultura o leite foi mantido a temperatura de 45°C em até atingir PH = 4,4. Após a coagulação a coalhada

foi transferida para sacos nylon previamente esterilizados e colocados sob resfriamento à temperatura de 5°C por 16 horas. Após o período de 16 horas, a massa foi retirada e colocada em recipientes.

Figura 01: Fluxograma de produção do iogurte grego

Fonte: própria (2020)

O estudo foi voltado as avaliações de comparação do iogurte tipo grego (*Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*) e o iogurte grego de *keffir*. Foram analisados os microrganismos obedecendo os padrões exigidos pela RDC n° 12, de 12 de janeiro de 2001, e segundo os regulamentos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para coliformes totais e termotolerantes, contagem de *Staphylococcus coagulase*, *Salmonella spp.*, contagem de bactérias, bactérias lácticas, contagem de bifidobactérias, bolores e leveduras. Já na análise Físico-químicas, foi realizada no Laboratório de Físico-Química da UFPB/CCHSA, seguindo as normas estabelecidas pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), de acordo com o tempo de fermentação, PH (através de utilização e phgmetro digital) final e acidez titulável de amostras de iogurte tipo grego em diferentes concentrações através de titulação de por acidez dornic.

Avaliação microbiológica

As análises microbiológicas foram realizadas obedecendo aos padrões exigidos pela RDC n° 12, de 12 de janeiro de 2001, seguindo o regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos conforme as exigências da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), para coliformes totais e termotolerantes, Bactérias mesófilas, pesquisa de *Salmonella spp* (25g). Fungos filamentosos e não filamentosos. Para a enumeração de *Bifidobacterium lactis*. Foi utilizado o meio *Bifidumbacterium Agar*. A técnica utilizada para inoculação foi por profundidade. Após a inoculação, as placas de Petri foram incubadas

invertidas em jaras contendo gerador de anaerobiose Anaerobac (PROBAC) a 37°C por 72 horas. A contagem das colônias de *Bifidobacterium lactis* descrita pela legislação RDC nº 2 de janeiro de 2002.

Análise físico-química.

As determinações físico-químicas foi *Bifidobacterium* Agar. Efetuadas segundo as recomendações metodológicas descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). A qualidade física-química do iogurte foram avaliadas por meio de parâmetros como: umidade, cinzas, lipídeos, proteínas, PH, Acidez e atividade de água, a determinação da cor será realizada Cor-A avaliação foi realizada utilizando o sistema CIELab através de colorímetro (Delta color, Brasil). No nível físico, a cor é definida pela distribuição espectral da radiação emitida, refletida ou transmitida. Verifica-se a composição da luz por comprimento de onda, seu efeito na cor do objeto e de forma o objeto modifica a luz que incide sobre ele. Essas modificações são representadas por meio de curvas de transmitância ou de refletância espectral. Explica também a mistura subtrativa de cores.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Seguindo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados descrito na Instrução Normativa nº 46 de 2007 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2007), os resultados obtidos de acordo com a análise microbiológica estão expressos conforme a Tabela 04.

Tabela 04: Resultados da composição microbiológica de iogurte tipo grego (*Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*) e Keffir

Parametros	TB	K	Legislação
Coliformes à 35°C NMP/g	1,4x10 ¹	2,1x10 ¹	<3
Coliformes à 45°C NMP/g	1,2X10 ¹	0,9x10 ¹	<3
Estaf. Coag. positiva UFC	1,2X10 ²	1,0x10 ²	-
<i>Salmonella</i> spp. /25g	Ausência	Ausência	-
Bactérias lácteas UFC/g	6,3x10 ⁵	7,8x10 ⁶	-
Bifidobacterias UFC/g	0,0x10 ⁰	6,0x10 ⁸	10 ⁷
Bolores e levedura UFC/g	1,0x10 ¹	2,6x10 ¹	10 ⁴

*TB = iogurte com cultura *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, K = iogurte de keffir

O Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e fecais registrado nas amostras, encontra-se em conformidade com o padrão estabelecido pela legislação (<10NMP/g), o resultado do NMP para coliformes totais e termo tolerantes com os padrões de qualidade preconizados na legislação (BRASIL, 2001). As amostras analisadas apresentaram resultados variando de 1,2 a 10¹ a 0,9 a 10¹ UFC/ml, para *Staphylococcus aureus*. Em relação à pesquisa de *Salmonella* spp., as amostras estão de acordo com o padrão estabelecido, pois nenhuma

amostra de iogurte grego analisada neste trabalho foi não detectada a presença deste micro-organismo.

Pode-se observar que o iogurte grego conserva suas características simbióticas durante os 90 (noventa dias) de armazenamento a -15°C , já a partir de que os resultados demonstraram uma contagem de bactérias ácidos lácticas superior ao mínimo recomendado. Também se pode observar que os microrganismos simbióticos se mantiveram praticamente com a mesma quantidade de células viáveis durante o tempo de estocagem.

No plaqueamento feito com o iogurte tipo grego com *keffir* a contagem de microrganismos *bifidumbacterioum* foi de $6,0 \times 10^8$ UFC/g. De acordo com estes resultados, pode-se observar que o iogurte se encaixa como produto simbiótico, já que no momento do consumo, de acordo com Sheehan et al., (2007), é recomendado que o alimento simbiótico tenha, no mínimo, 10^6 UFC/g.

Para contagem de bolores e leveduras, o iogurte grego apresentou uma contagem de $1,0 \times 10^1$ e $2,6 \times 10^1$ UFC/g, contudo, não interferiu na qualidade do produto pois ainda atende a legislação vigente. Para a contagem total de bactérias lácticas a legislação também foi atendida, com o mínimo de 10^7 UFC/g e para a contagem total de Bifidobacterias a legislação também foi atendida, com o mínimo de 10^8 UFC/g durante um período de 45 dias, que é o tempo esperado de vida de prateleira do iogurte grego. Todos os microorganismos patogênicos analisados são sensíveis termicamente, sendo o processo de pasteurização uma etapa importante para eliminação destes patógenos.

Os resultados obtidos nas determinações físico-químicas das amostras de iogurte de leite bovino analisadas apresentaram diferenças significativas para todos os parâmetros analisados, e estão descritos na Tabela 05.

Tabela 05: Resultados da análise físico-química das amostras iogurte tipo grego (*Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*) e *Keffir*.

Parâmetros	TB	K	Legislação
Umidade (%)	75,63b+/- 0,15	78,59 ^a +/-0,15	-
Proteínas (%)	5,46b+/-0,65	6,30 ^a +/-0,75	Min 2,9
Lipídeos (%)	4,17 ^a +/-0,13	3,25b+/-0,15	-
Cinzas (%)	0,99b+/-0,76	1,37 ^a +/-0,70	-
pH	4,12 ^a +/-0,75	4,26 ^a +/-0,45	2,5 a 3,4
Acidez	1,09b+/-0,74	1,33 ^a +/-0,77	0,6 a 2,5
Sólidos Totais (%)	33,04 ^a +/-0,83	33,88 ^a +/-0,85	-

*TB = iogurte com cultura *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, K = iogurte de *keffir*; numa mesma coluna médias iguais não diferem significativamente entre si (pp<0,05)

Os resultados físico-químicos obtidos em todas as amostras de iogurte estão de acordo com os parâmetros mínimos definidos na legislação brasileira para o produto conforme sua classificação em produto integral (BRASIL, 1997). No entanto, o percentual de acidez encontra-se dentro da legislação para leites fermentados, os valores variam entre 1,09 e 1,33% de ácido láctico.

O teor de gordura do iogurte grego encontra-se dentro dos padrões preconizados pela legislação vigente, que é de no mínimo 3% (BRASIL, 2007) os valores variam entre 3,25 e 4,12%. Observa-se que a média dos valores de proteína manteve-se acima do exigido pela legislação, que determina o mínimo de 2,90% de proteína e os valores variam entre 5,46 e

6,30%. Embora não existam parâmetros na legislação para os teores de umidade, sólidos e cinzas, para umidade foi encontrado percentual de 75,63 e 78,59% e cinzas de 0,99 e 1,37%, valores estes mais baixos que os obtidos por Medeiros et al. (2011) ao analisarem iogurtes de marca comercial, encontrando 80,53% de umidade e 0,46% de cinzas. Consequentemente, os valores para sólidos foram mais altos (33,04 e 33,88%) para o iogurte grego quando comparado com os iogurtes de marcas comerciais.

A cor é uma característica muito importante dos alimentos sendo está a primeira sensação que o consumidor percebe. Os dados da cor da còdea estão apresentados na Tabela 06.

Tabela 06 : parâmetro de cores

Parâmetros	TB	K
L	13,28b+/-0,15	21,18 ^a +/-0,55
A	-1,00+/-0,12	-0,97b+/-0,17
B	8,59b+/-0,25	6,95 ^a +/-0,35
C	8,65 ^a +/-0,09	7,00b+/-0,55
H	96,68 ^a +/-0,35	96,55 ^a +/-0,45
G	5,98b+/-0,05	8,56 ^a +/-0,13

*TB = iogurte com cultura *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, K = iogurte de keffir, numa mesma coluna médias iguais não diferem significativamente entre si (p<0,05).

Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras de iogurtes analisadas para todos os parâmetros, exceto para o componente de cor b e h*. O parâmetro b* varia de amarelo (+) a azul (-). Como todos os valores de b* foram positivos, isso significa que os iogurtes apresentaram maior reflexão associada à cor amarela (+). As marcas TB e K foram consideradas semelhantes, apresentando também tendência à cor amarela. A componente a* varia de vermelho (+) a verde (-). Todos os valores aferidos foram negativos, demonstrando que os iogurtes apresentaram leve tendência à cor verde (-). O valor L* expressa a luminosidade ou claridade da amostra e varia de 100 (cem) para superfícies perfeitamente brancas até 0 (zero) para o preto. Devido à maior contribuição do parâmetro L* com a cor dos iogurtes, pode-se afirmar que os iogurtes apresentaram 26 cor próxima ao branco. Em relação à luminosidade, a amostra K apresentou-se mais clara que as demais.

CONCLUSÕES

A produção de iogurte tipo grego com o *keffir* é adequada, pois apresentou ótimos resultados em todos os parâmetros verificados da análises físico-química e análises microbiológicas os valores encontrados para os parâmetros avaliados nas análises.

Todas as amostras apresentaram resultados satisfatórios, para os iogurtes gregos, que estavam dentro dos limites estabelecidos pela legislação vigente, a Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007.

O iogurte grego com *keffir* apresenta um potencial probiótico e tem baixa quantidades de lipídeos.

REFERÊNCIAS

BOYLSTON, T.D. Dairy Products. In: HUI, Y.H.; NIP, W.; NOLLET, L.M.L.; PALIYATH, G.; SIMPSON, B.K. Food biochemistry & Food processing. 1 ed. Iowa: Black Well Publishing, 2006, p. 595-613.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 30.691 de 29/03/1952 alterado pelo Decreto nº 2244 de 04/06/1997. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). Diário Oficial da União. Brasília, DF, 05 de junho de 1997.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária ANVISA. Resolução RDC no 12 de 2 de janeiro de 2001. Ministério da Saúde, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa No 46, de 23/10/2007. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Diário Oficial da União, Brasília, 24/10/2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa no 46, de 23 de outubro de 2007. Adota o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, anexo à presente Instrução Normativa. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 18 out. 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento Industrial de Inspeção Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). Diário Oficial da União, Brasília, 07/07/1952.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC no 12, de 02/01/2001. Aprova o Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 10/01/2001.

CARNEIRO, C.S. et al. Leites fermentados: histórico, composição, características físico-químicas, tecnologia de processamento e defeitos. PUBVET, Londrina, V. 6, N. 27, Ed. 214, Art. 1424, 2012.

CERQUEIRA, M.M.O.P. et al. Leites Fermentados. Belo Horizonte; Monografia da EV-UFMG, 1999.

DUGGAN, C.; GANNON, J.; WALKER, W A. Protective nutrients and functional foods for the gastrointestinal tract. American Journal Clinical Nutrition, v. 75, p. 789-808, 2002.

FERREIRA, C. L. L. F.; MALTA, H. L.; DIAS, A. S.; GUIMARÃES, A.; JACOB, F. E.; CUNHA, R. M.; CARELI, R. T.; PEREIRA, S.; FERREIRA, S. E. R. Verificação da qualidade físico-química e microbiológica de alguns iogurtes vendidos na região de Viçosa. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, v. 56, n. 321, p. 152-158, 2001.

FRENGOVA, G.I. et al. Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria of Kefir Grains. Z. Naturforsch, v. 57, fev-mai, 2002. 30

HEKMAT, S.; REID, G. Sensory properties of probiotic yogurt is comparable to standard yogurt. Nutrition Research, v. 26, n.4, p. 163- 166, 2006. http://html.globalshop.pt/cs2646/temas_tipos_q1id_object3D230_q20_q30_q41_q5.htm > Acesso em: 02 jul. 2018.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 1. ed. digital. São Paulo, 2008. 1020 p. Disponível em: http://www.ial.sp.gov.br/index.php?potin=com_remository&Itemid=7&func=select&orderb_y=1&Itemid=7>. Acesso em: 17 jun. 2018.

KARIMI, R.; MORTAZAVIAN, A.M.; DA CRUZ, A.G. Viability of probiotic microorganisms in cheese during production and storage: a review. Dairy Science and Technology, v. 91, p. 283-308, 2011.

LIMA, S.C.G. Processamento de leite e derivados. 2009. Disponível em: <<http://www.eafcpa.gov.br/>>

MEDEIROS, E. J. L. et al. Leite fermentado de marcas comerciais: estudo da aceitação e correlação com pH e acidez. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, v. 66, n. 381, p. 46-51, 2011.

OLIVEIRA, M. N. et al. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. São Paulo, v.38, n.1, p 1-21, janeiro/março, 2002.

RAMOS, T. M., GAJO, A. A., PINTO, S. M., ABREU, L. R. & PINHEIRO, A. C. (2009). Perfil de textura de labneh (iogurte grego) Rev. Inst. Latic. “Cândido Tostes”, Jul/Ago, no 369, 64: 8-12.

SHEENAN, V.M., ROSS, P., FITZGERALD, F. Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices, Innovative Food Science & Emerging Technologies, v.8, n.2, p. 279- 284, 2007

SOUZA, G. GARCIA, S. VALLE, J.L.E. Quefir e sua tecnologia – aspectos gerais. Boletim ITAL. Campinas, vol. 21 n2, p.137-155, abril/junho 1984.

TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. Yogur. Ciência y Tecnologia. Zaragoza: Acribia, 1991. 398p.

VALE, Pedro Lobo. O Kefir. Disponível em: http://html.globalshop.pt/cs2646/temas_tipo_q1id_object_3D230_q20_q30_q41_q5.htm Acesso em 13 de julho de 2018.

VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. Leche y productos lác 1994.