



Perfil do ácido láctico no prazo de validade de iogurte natural integral

Profile of lactic acid within validity of full natural yogurt

Felipe Chaimsohn Gonçalves da Silva¹, Sofia Dalaqua², Everton Cruz de Azevedo¹, Glaucia Martins de Campos¹, Fernanda Raghianti¹ e Otávio Augusto Martins^{1*}

¹ Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP), São Paulo, Brasil.

² Departamento de Ciências Exatas, Faculdades Integradas Regionais de Avaré, Fundação Regional Educacional de Avaré, cidade de Avaré, São Paulo, Brasil.

*E-mail: oamartins@fmvz.unesp.br

Resumo: O objetivo do presente trabalho foi analisar o perfil de ácido láctico no prazo de validade de três diferentes marcas de iogurte natural, do tipo integral, comercializadas na região sudoeste paulista no período da validade. Foram realizadas análises de pH e acidez no 15º, 30º e 45º dia após a fabricação do produto. Os resultados demonstraram que não houve variações significativas quanto aos valores de pH. Entretanto, o ácido láctico teve uma variabilidade maior nos valores. Apesar disto, todos os ensaios permaneceram dentro dos parâmetros aceitáveis para iogurte.

Palavras chave: Ácido Láctico, Iogurte, pH, Validade.

Abstract: The objective of this study was to analyze the profile of lactic acid from three different brands of yogurt, integral type, marketed in the southwest region of São Paulo in the period of validity. pH and acidity analyzes were performed in the 15th, 30th and 45th day after the manufacture of the product. The results showed that there were no significant variations in the pH values. However, the lactic acid had greater variability in values. Despite this, all the tests remained within acceptable parameters for yogurt.

Additional Keywords: Lactic Acid, pH, Validity, Yogurt.

Autor para correspondência: *E-mail: oamartins@fmvz.unesp.br
Recebido em 10.07.2016. Aceito em 27.12.2016
http

Introdução

O iogurte é um produto obtido a através da coagulação e redução do pH do leite por fermentação láctica, pode ou não conter adição de frutas açúcares ou outros ingredientes, sendo um processo já realizado desde a antiguidade, quando a fermentação era utilizada como uma forma de conservação do leite. Atualmente, o consumo do iogurte está associado a seus efeitos benéficos à saúde (RODAS *et al.*, 2001; ALMEIDA, 2008; BEZERRA, 2010).

Durante o processo de fabricação do iogurte são acrescentadas ao leite integral, padronizado ou desnatado bactérias lácticas que se mantêm em crescimento associado, a partir de uma interação protossimbiótica (ALMEIDA, 2008; BEZERRA, 2010).

Normalmente são utilizadas culturas de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*. Este último, favorecido pelo pH do leite, se desenvolve a partir da fermentação da lactose, contribuindo para o aumento de ácido láctico no meio, tornando o ambiente propício para o crescimento dos *L. delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* que, por sua vez, liberam peptídeos e aminoácidos das proteínas presentes no leite, deixando o alimento rico em substratos para a multiplicação dos *Streptococcus thermophilus* (ALMEIDA, 2008; BEZERRA, 2010; DAMODARAN *et al.*, 2010).

Além do ácido láctico, a fermentação láctica produz outras substâncias como o etanol, o peróxido de hidrogênio, compostos aromáticos, ácidos orgânicos, gás carbônico e vitaminas. Cada constituinte do leite tem influência nas características do iogurte.

Por exemplos, um alto teor de lipídios produz um iogurte cremoso, a lactose influencia na acidez e as proteínas conferem firmeza e a consistência do produto. Um dos metabólitos responsáveis pelo aroma do iogurte é o acetaldeído. Alguns metabólitos produzidos durante o processo de fermentação como o ácido láctico, ácido propiônico e diacetil, são inibidores do crescimento de bactérias gram-negativas, deteriorantes do produto (RODAS *et al.*, 2001; OLIVEIRA & DAMIN, 2003; ALMEIDA, 2008; DAMODARAN *et al.*, 2010; GIESE *et al.*, 2010; ROBERT, 2013).

Segundo Trabulsi e Althertum (2005), probióticos como o iogurte são capazes de promover o equilíbrio microbiano intestinal exercendo efeitos benéficos à saúde humana. Os iogurtes contêm baixo teor de lactose, que é um carboidrato característico do leite, mas durante o processo de fermentação é convertido em ácido láctico e outros compostos, podendo ser consumido por indivíduos com pouca tolerância a lactose. Contudo, o processo de fabricação do iogurte não interfere na concentração de gordura, os minerais e vitaminas presentes inicialmente no leite e

torna alguns nutrientes mais disponíveis para o corpo por ser um produto de fácil digestão. Devido ao aumento de ácido láctico no meio ocorre a diminuição do pH, desestabilizando as micelas de caseína que formam agregados imobilizando a parte líquida do leite, atribuindo firmeza e consistência ao produto (KROLOW, 2008; ROBERT, 2008; BEZERRA, 2010).

De todos os produtos feitos através da fermentação láctica, o iogurte é o mais popular, sendo caracterizado por um gel suave e viscoso, com sabor característico, sendo um produto com preparo relativamente simples. Por ser um produto bem aceito comercialmente, nota-se nas prateleiras uma imensa variação deste derivado do leite (PENNA *et al.*, 1997; RIBEIRO *et al.*, 2010).

Para obtenção de um iogurte de qualidade, o leite empregado no processo deve ter boa procedência, ser manipulado com total higiene, ser isento de antibióticos e conservantes, não conter micro-organismos patogênicos, devendo passar por tratamento térmico (pasteurização ou ultra alta temperatura). O leite destinado à produção de iogurte deve conter alto teor de sólidos e para aumentar este índice, é aceitável a adição de leite em pó em sua composição. O conhecimento da composição química do leite é um fator importante na fabricação de produtos lácteos fermentados, interferindo nas

características do produto final. As análises físico-químicas e microbiológicas devem ser realizadas a atender padrões mínimos exigidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil (RODAS *et al.*, 2001; VENTUROSO *et al.*, 2007).

O iogurte natural é elaborado sem flavorizantes ou açúcares, mantendo seu sabor característico, tendo seu processo realizado em fermenteiras (iogurte batido). Segundo Brasil (2000), o iogurte integral deve conter um nível de gordura entre 3,0 g/100 g e 5,9 g/100 g, conter a quantidade mínima de sólidos desengordurados de 8,25 %, e acidez titulável entre 0,5 % e 1,5 %, expressada em ácido láctico. A composição do iogurte é bastante variável, dependendo da composição do leite utilizado no processo (ALMEIDA, 2008; ROBERT, 2008).

Segundo Almeida (2008), o aumento dos sólidos totais resulta no aumento da acidez titulável. Isso está relacionado ao efeito tamponante de proteínas, fosfatos, citratos e entre outras substâncias presentes no leite. Observou-se que a consistência está relacionada com a acidez que se altera no decorrer do tempo em maior ou menor grau dependendo da acidez inicial e das condições de temperatura e armazenamento do produto. O iogurte está sujeito ao decréscimo do pH e aumento da acidez devido a constante atividade

metabólica das bactérias lácticas, mesmo em baixas temperaturas. Foi constatado que iogurtes com alto teor de lactose sofrem uma maior acidificação durante estocagem em relação a iogurtes com baixo teor de lactose. Embora a acidez seja uma característica do iogurte, uma alta acidificação conduz as alterações no sabor, consistência e a deterioração do produto (RODAS *et al.*, 2001; OLIVEIRA & DAMIN, 2003; ALMEIDA, 2008; DAMODARAN *et al.*, 2010; GIESE *et al.*, 2010; ROBERT, 2013).

Com base nessas informações, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o perfil de ácido láctico de iogurte natural, do tipo integral, no período de validade.

Material e métodos

Amostras

Foram utilizadas três marcas de iogurte natural, tipo integral, comercializadas em estabelecimentos da Região Sudoeste do Estado de São Paulo, Brasil. Foi coletado um total de 324 amostras, sendo 108 amostras para cada marca. Para cada marca de iogurte, as amostras foram agrupadas em 36 grupos de 3 amostras de mesmo lote de fabricação para serem avaliadas no décimo quinto, no trigésimo e no quadragésimo quinto dias após a data da fabricação do produto. Todos os grupos de cada amostra tinham lote de fabricação distinto entre si. As amostras foram acondicionadas em caixa

térmica devidamente controlada a 4°C e encaminhadas ao Laboratório de Química e Bioquímica das Faculdade Integradas Regionais de Avaré, Fundação Regional Educacional de Avaré, São Paulo, Brasil. No laboratório, as amostras ficaram armazenadas em refrigerador devidamente controlado a 4°C antes do início das análises.

Determinação do pH

Foi pesado 10 g da amostra em um béquer e foi diluído com o auxílio de 100 mL de água proveniente de osmose reversa. O conteúdo foi homogeneizado até que as partículas ficaram uniformemente suspensas. Foi determinado o pH no aparelho Tecnotron Modelo MPA-210 previamente calibrado com soluções tampão pH 4 e pH 7, de acordo com as instruções do manual do fabricante (Brasil, 2005). Foram realizadas quatro repetições para cada amostra analisada.

Determinação de ácido láctico

Foi pesado 10 g da amostra em béquer de 50 ml. Foi adicionado com uma pipeta graduada aproximadamente 10 ml de água isenta de gás carbônico. A solução foi homogeneizada com auxílio de bastão de vidro. Em seguida, adicionou-se 5 gotas de solução de fenolftaleína a 1 %. Titulou-se com solução de hidróxido de sódio a 0,1 M utilizando uma bureta de 25 mL até o aparecimento de uma coloração rósea (Brasil, 2005). Foram

realizadas quatro repetições para cada amostra analisada. Para determinar a quantidade de ácido láctico (g/100 g) foi utilizada a seguinte equação: $\text{Ácido láctico (g/100 g)} = V \times f \times 0,9/P$. Onde, a letra **V** foi o número de mL de solução de hidróxido de sódio a 0,1 M gasto na titulação; a letra **f** foi o fator da solução de hidróxido de sódio a 0,1 M, a letra **P** foi a massa (g) da amostra utilizada no ensaio, e o número 0,9 consiste no fator de conversão para ácido láctico.

Análise estatística

O estudo estatístico do pH e do ácido láctico no prazo de validade (15^o, 30^o e 45^o dia após a fabricação do produto) de iogurte natural, do tipo integral, de três diferentes marcas foram realizados através da análise de variância Anova e complementado com o teste de comparações múltiplas de Kramer-Tukey.

Os resultados foram expressos em média \pm erro padrão da média. As conclusões estatísticas foram realizadas com 5% de significância (MONTGOMERY, 2013).

Resultados e discussão

Os valores médios de pH para a marca A variaram de 3,91 a 4,01, para a marca B variaram de 3,89 e 3,90, e para a marca C variaram de 3,99 a 4,00. Os valores de pH nas diferentes marcas (A, B e C) de iogurte natural, do tipo integral, analisados no 15^o, 30^o e 45^o

dia após a fabricação do produto, não apresentaram diferenças estatísticas significantes ($p>0,05$) como pode ser observado na Tabela 1.

Os valores médios de ácido láctico para a marca A variaram de 1,18 g/100 g a 1,20 g/100 g, para a marca B variaram de 0,93 g/100 g a 0,98 g/100 g, e para a marca C variaram de 0,98 g/100 g a 1,02 g/100 g. Os valores de ácido láctico nas diferentes marcas (A, B e C) de iogurte natural, do tipo integral, analisados no 15^o, 30^o e 45^o dia após a fabricação do produto, não apresentaram diferenças estatísticas significantes ($p>0,05$) como pode ser observado na Tabela 2.

A Tabela 3 retrata o coeficiente de variação que fornece a variação dos dados obtidos em relação à média. Os valores do coeficiente de variação dos ensaios de pH e de ácido láctico apresentaram valores menores que a 25 %. Esses valores demonstraram que os dados foram homogêneos.

Em termos numéricos, comparando o coeficiente de variação da análise de pH e da análise de ácido láctico, podemos avaliar que os dados referentes ao pH são mais consistentes (menores) que os dados do ácido láctico, porque a média geral dos coeficientes de variação do pH foi 1,35 % e a média geral dos coeficientes do ácido láctico foi 2,56 %.

Tabela 1. Média \pm erro padrão de pH de diferentes marcas de iogurtes (A, B e C), do tipo integral analisados no 15^o, 30^o e 45^o dia após a fabricação do produto. Análise estatística complementada com o teste Kramer-Tukey com 5% de significância.

| Dias | Marcas de iogurte | | |
|------|----------------------------------|--------------------|--------------------|
| | A | B | C |
| 15 | 4,01 \pm 0,01 A ^{1a2} | 3,90 \pm 0,03 Aa | 3,99 \pm 0,06 Aa |
| 30 | 3,91 \pm 0,07 Aa | 3,90 \pm 0,07 Aa | 4,00 \pm 0,07 Aa |
| 45 | 3,98 \pm 0,03 Aa | 3,89 \pm 0,08 Aa | 4,00 \pm 0,06 Aa |

¹ Comparando os dias (15^o, 30^o e 45^o dia após a fabricação do produto) e fixando a marca (p>0,05).

² Comparando as marcas de iogurte (A, B e C) e fixando os dias (p>0,05).

Tabela 2. Média \pm erro padrão de ácido láctico (g/100 g) de diferentes marcas de iogurtes (A, B e C), do tipo integral, analisados no 15^o, 30^o e 45^o dia após a fabricação do produto. Análise estatística complementada com o teste Kramer-Tukey com 5% de significância.

| Dias | Marcas de iogurte (g/100 g) | | |
|------|----------------------------------|--------------------|--------------------|
| | A | B | C |
| 15 | 1,20 \pm 0,02 A ^{1a2} | 0,98 \pm 0,02 Aa | 0,99 \pm 0,04 Aa |
| 30 | 1,18 \pm 0,04 Aa | 0,96 \pm 0,02 Aa | 0,98 \pm 0,02 Aa |
| 45 | 1,18 \pm 0,02 Aa | 0,93 \pm 0,02 Aa | 1,02 \pm 0,04 Aa |

¹ Comparando os dias (15^o, 30^o e 45^o dia após a fabricação do produto) e fixando a marca (p>0,05).

² Comparando as marcas de iogurte (A, B e C) e fixando os dias (p>0,05).

Tabela 3. Coeficiente de variação de Pearson (%) de diferentes marcas de iogurtes (A, B e C), de tipo integral, analisados no 15^o, 30^o e 45^o dia após a fabricação do produto. O coeficiente de variação é dado pela fórmula: Cv = 100 x desvio padrão/média.

| Análise | Dias | Marca | | |
|---------------|------|--------|--------|--------|
| | | A | B | C |
| pH | 15 | 0,25 % | 0,77 % | 1,50 % |
| | 30 | 1,75 % | 1,79 % | 1,75 % |
| | 45 | 0,75 % | 2,06 % | 1,50 % |
| Ácido láctico | 15 | 1,67 % | 2,04 % | 4,04 % |
| | 30 | 3,39 % | 2,08 % | 2,04 % |
| | 45 | 1,69 % | 2,15 % | 3,92 % |

Giese et al. (2010), ao realizar análises de pH e acidez em cinco marcas de iogurte, constataram diferenças significativas apenas para os parâmetros de acidez que estavam acima da faixa ideal (0,7 % a 0,72 % de ácido

láctico). Não observaram nenhuma alteração significativa em relação ao pH, porém todas as amostras se encontravam abaixo do pH 4,6 que foi considerado ideal para fabricação do iogurte. No nosso experimento, a acidez (em

ácido láctico) foi superior e o valores de pH foram semelhantes aos encontrado por GIESE et al. (2010).

No trabalho realizado por Bortuluzzi et al. (2014), também encontraram valores considerados dentro da conformidade para pH e para a acidez (em ácido láctico) de acordo com a legislação brasileira. Foram analisadas amostras de iogurte com polpa de ameixa em diferentes períodos de armazenamento (8, 16, 24 e 32 dias) onde o pH se apresentou na faixa entre 4,02 e 4,24 e a acidez (em ácido láctico) apresentou variação entre 0,79 e 0,97 g/100g. A diferença dos resultados obtidos por eles pode estar relacionada à utilização do iogurte com polpa de fruta.

Em contrapartida, Temiz et al. (2014), em desenvolvimento de um novo sabor de iogurte em diferentes concentrações da polpa de fruta, encontraram variações significantes para acidez titulável e pH, em produtos que foram armazenados durante 21 dias, a maior variação foi apresentada até o dia 14, após isso, as alterações não foram expressivas, tanto para pH quanto para acidez. Apesar desta variação, os valores estavam dentro do padrão.

Moreira et al. (1999), ao analisar três lotes de quatro diferentes marcas com seis tratamentos diferentes, constataram que o iogurte 1 (sem sabor) manteve os valores de pH constantes nos três lotes, enquanto nos demais

iogurtes o pH apresentou-se abaixo dos valores desejáveis (4,2 - 4,5). O valor do pH interfere na atividade metabólica das bactérias lácticas. No iogurte, os *Lactobacillus* crescem e toleram valores de pH mais baixos que os *Streptococcus*.

Mesmo sob refrigeração, os *Lactobacillus delbrueckii* ssp *Bulgaricus* mantêm sua atividade metabólica, esse fenômeno é conhecido como pós-acidificação, a tendência atual é utilizar culturas iniciadoras isentas de *Lactobacillus delbrueckii* ssp *Bulgaricus* (OLIVEIRA & DAMIN, 2003).

Silva et al. (2012) verificaram, ao realizar análises comparativas entre iogurtes industrializados e caseiros, que todas as amostras apresentaram pH e acidez dentro de valores permitidos por legislação. De acordo com Martins et al. (2012), a acidez do iogurte é muito variável repercutindo diretamente no consumo, valores entre 0,7 % e 1,25 % de ácido láctico ou pH de 4,6 a 3,7 são comuns, entretanto considera ideal acidez entre 0,7 % e 0,9 % e pH entre 4,0 e 4,4.

Em estudo realizado na Coréia, com iogurte suplementado com extrato de *Corni fructus* em diferentes concentrações, foram feitas análises para pH e acidez titulável entre os dias zero e quinze. Observou-se no estudo que o valor de pH diminuiu significativamente quando presente o extrato (NOH et al. 2013).

Entretanto, no presente trabalho não foi observado significativamente a diminuição dos valores de pH.

Conclusão

Conclui-se que as marcas de iogurte natural, tipo integral, analisadas no período da validade apresentaram pouca variação quanto ao pH e a acidez (em ácido láctico). Os valores de pH e de ácido láctico apresentaram dentro dos parâmetros legais aceitáveis de normalidade

Referências

1. ALMEIDA, C.P.M. Efeito no fator de concentração nas características de iogurte com baixo teor de lactose obtido por ultrafiltração. Dissertação de mestrado. Escola de Engenharia de Mauá do Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia. São Caetano do Sul. São Paulo. Brasil. 47 pp. 2008.
2. BEZERRA, M.F. Caracterização físico-química, reológica e sensorial de iogurte obtido pela mistura dos leites bubalino e caprino. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande Do Norte. Natal. Brasil. 100 pp. 2010.
3. BORTOLUZZI, M.; NUNES, C.R.Z.; SILVA, M.L.; KALSCHNE, D.L.; MENDONÇA, S.N.T.G.; BRANDÃO, W.A.P.L.N.T.M. Caracterização microbiológica, físico-química e sensorial de iogurtes comerciais com polpa de ameixa. *Revista Brasileira de Pesquisa em alimentos*, v. 5, p. 9–18, 2014.
4. BRASIL. Resolução nº 5. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento (MAPA). 2000.
5. BRASIL. Métodos físico-químicos para análises de alimentos. Ministério da saúde, agência nacional de vigilância sanitária. Ministério da saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Brasília. 1018 pp. 2005.

6. DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. Química dos Alimentos. 4ª ed. Porto alegre. Rio Grande do Sul. 899 pp. 2010.

7. GIESE, S.; COELHO, S.R.M; TÊO, C.R.P.A; NÓBREGA, L.H.P.; CHRIST, D. Caracterização físico-química e sensorial de iogurte comercializado na região oeste do Paraná. *Varia Scientia Agrárias.*, v. 1, p.121-129, 2010.

8. KROLOW, A.C.R. *Iogurte integral sabor café*. Embrapa. Pelotas. Rio Grande do Sul. Comunicado Técnico 193. p. 1-4, 2008.

9. MARTINS, Y.A.A. *Influência do tempo de armazenamento do leite cru refrigerado na qualidade do iogurte natural*. I Congresso de Pesquisa e Pós-Graduação do Campus Rio Verde do IF Goiano. Rio Verde. Goiás. 2012.

10. MONTGOMERY, D.C. *Introduction to statistical quality control*. 7th edition: John Wiley & Sons. USA. 768 pp. 2013.

11. MOREIRA, R.S.; SCHWAN, R.F.; CARVALHO, E.P.; FERREIRA, C. Análise microbiológica e química de iogurtes comercializados em Lavras – MG. *Cienc. Tecnol. Aliment.*, v. 19, n. 1, 1999.

12. NOH, H.J.; SEO, H.M.; LEE, J.H.; CHANG, Y.H. Physicochemical and sensory properties of yogurt supplemented with *corni fructus* during storage. *Preventive nutrition and food Science.*,v. 18, p. 45-49, 2013.

13. OLIVEIRA, M.N.; DAMIN, M.R. Efeito do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação, firmeza e viabilidade de bactérias do iogurte e probióticas em leite fermentado. *Cienc. Tecnol. Aliment.*, v. 23, p.172-176, 2003.

14. PENNA, A.L.B.; OLIVEIRA, M.N.; BURUFFALDI, R. Análise de consistência de iogurte: correlação entre medida sensorial instrumental. *Cienc. Tecnol. Aliment.* v. 17, p. 98-101, 1997.

15. RIBEIRO, M.M.; MINIM, V.P.R.; MINIM, L.A.; ARRUDA, A.C.; CERESINO, E.B.; CARNEIRO, H.C.F; CIPRIANO, P.A. Estudo de

mercado de iogurte da cidade de Belo Horizonte/MG. *Ceres*, v. 57, p. 151-156, 2010.

16. ROBERT, N.F. *Dossiê técnico: Fabricação de iogurte*. Rede de tecnologia do Rio de Janeiro. 32 pp. 2008.

17. RODAS, M.A.B.; RODRIGUES, R.M.M.S.; SAKUMA, H.; TAVARES, L.Z.; SGARBI, C.R., LOPES, W.C. Caracterização físico-química, histológica e viabilidade de bactérias lácticas em iogurtes com polpa de frutas. *Cienc. Tecnol. Aliment.*, v. 21, p. 304-309, 2001.

18. SILVA, L.C.; MACHADO, T.B.; SILVEIRA, M.L.R.; ROSA, C.S.; BERTAGNOLLI, S.M. M. Aspectos microbiológicos, pH e acidez de iogurtes de produção caseira comparados aos industrializados da região de Santa Maria - RS. *Disc. Scientia.*, v. 13, p. 111-120, 2012.

19. TEMIZ, H.; TARAKÇI, Z; ISLAM, A. Effect of cherry laurel marmalade on physicochemical and sensorial characteristics of the stirred yogurt during storage time. *GIDA: Journal of Food.*, v. 39, p. 1-8, 2014.

20. TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.A. *Microbiologia*. 3ª ed. São Paulo. 2005.

21. VENTUROSO, R.C.; ALMEIDA, K.E.; RODRIGUES, A.M.; DAMIN, M.R.; OLIVEIRA, M. N. 2007. Determinação da composição físico-química de produtos lácteos: estudo exploratório de comparação dos resultados obtidos por metodologia oficial e por ultra-som. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 43, p. 607-613, 2007.