

25 e 26 de setembro de 2007



em Passo Fundo, RS

CONTAGEM DE BIFIDOBACTÉRIAS E LACTOBACILOS PROBIÓTICOS EM LEITES FERMENTADOS COMERCIAIS

Camila Pez Formighieri, Elisângela Toquetto Lunelli, Luciane Maria Colla, Christian Oliveira Reinehr*

Laboratório de Fermentações, Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade de Passo Fundo

**E-mail: reinehr@upf.br*

RESUMO

Em decorrência de vários benefícios à saúde, muitos microrganismos têm sido estudados para melhorar a qualidade nutricional dos alimentos. A produção de leites fermentados com probióticos tem aumentado visando à produção de alimentos funcionais. As principais culturas de bactérias usadas na produção de leites fermentados probióticos são *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Contudo, para que o produto possa apresentar tais propriedades tem sido alegado o número mínimo de células viáveis de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* de 10^6 a 10^7 UFC/g. O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* em leites fermentados comerciais. Foram avaliados quatro leites fermentados de marcas que declaravam a presença de *Bifidobacterium* e/ou *Lactobacillus* probióticos. Para a contagem total de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* foi utilizado Ágar MRS. A incubação foi efetuada com as placas invertidas em estufa termostatizada a 37 °C por 72h. Os resultados mostraram que os leites fermentados apresentaram contagem total de células viáveis ao final do prazo de validade de $6,0 \times 10^6$ UFC/g, $1,8 \times 10^6$ UFC/g, $1,2 \times 10^8$ UFC/g e $2,4 \times 10^6$ UFC/g, respectivamente. Apesar de todos os leites fermentados analisados estarem de acordo com a legislação, alguns apresentaram grande diminuição da viabilidade de bactérias lácticas durante o prazo de validade, apontando a necessidade da realização de mais estudos relacionados ao tema.

Palavras-chave: Alimentos funcionais, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*.

1 INTRODUÇÃO

Os alimentos funcionais são aqueles que, além de nutrir, podem contribuir com o organismo através de sua composição original ou com a adição de outros componentes. Probióticos são microrganismos vivos que possuem um efeito benéfico após sua ingestão na saúde do hospedeiro pelo melhoramento da sua microbiota (CAPRILES; SILVA; FISBERG, 2005). Os compostos com ação na microbiota intestinal vêm sendo muito estudados, pois, quando em equilíbrio, impedem que organismos patogênicos nela presentes exerçam seus efeitos (CAPRILES; SILVA; FISBERG, 2005; SAAD, 2006).

A tendência do consumidor em buscar produtos mais saudáveis tem aberto novos nichos de mercado para as indústrias de alimentos e de bebidas. Dentre as bactérias que compõem a microbiota intestinal normal dos humanos e que vêm sendo chamadas de funcionais em razão de seu maior envolvimento com os mecanismos metabólicos do organismo estão as espécies do gênero *Bifidobacterium* e as espécies do gênero *Lactobacillus* (BOTELHO, 2005).

A falta de um método padronizado para a enumeração de bactérias probióticas, como *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, e a presença de outras culturas são fatores que dificultam em muito a tecnologia de fabricação de leites fermentados probióticos e o seu controle. Além disso, outro grande problema para a produção de leites fermentados probióticos é a dificuldade de manutenção do número mínimo 10^6 a 10^7 UFC/g deste microrganismo durante o período de vida útil indicado, mesmo com a estocagem refrigerada do produto (FACHIN, 2005).

Com isso, o objetivo do trabalho foi avaliar a viabilidade real dos microrganismos probióticos em leites fermentados comerciais durante sua vida de prateleira.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Material e métodos

No período de junho a julho de 2007 foram avaliadas quatro marcas de produtos no início e no fim do prazo de validade, que declaravam a presença de lactobacilos e/ou bifidobactérias, comercializados na região de Passo Fundo - RS, na forma de leite fermentado. Foram selecionados produtos que declaravam no rótulo a presença desses microrganismos e que alegavam ter propriedade funcional como probiótico. No Quadro 1 estão descritos os quatro produtos analisados e suas culturas declaradas.

Marca	Fabricante	Produto	Microrganismos declarados
Activia	Danone	Leite fermentado com polpa de frutas	<i>Bifidobacterium animalis</i>
Bio Fibras	Batavo	Iogurte com polpa de frutas e fibras	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium lactis</i>
Yakult	Yakult	Leite fermentado desnatado adoçado	<i>Lactobacillus casei</i> Shirota
Chamyto	Nestlé	Leite fermentado desnatado adoçado	<i>Lactobacillus paracasei</i>

Quadro 1 - Produtos analisados e bactérias declaradas no rótulo

Primeiramente as amostras foram codificadas para preservação das empresas envolvidas. Para a contagem das colônias dos microrganismos presentes nas amostras utilizou-se o meio de cultura ágar MRS esterilizado em autoclave a 121 °C por 15 minutos. Com pipeta estéril, retirou-se asepticamente 1 mL da amostra de bebida láctea fermentada. Fizeram-se diluições decimais em solução salina 0,85%. Transferiu-se 1 mL de alíquota para plaqueamento no meio, em duplicata, previamente preparado e esterilizado. Para a enumeração de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* a incubação foi efetuada em microaerofilia e

anaerobiose, respectivamente, com as placas invertidas em estufa termostatizada a 37 °C por 72 horas. Contaram-se colônias típicas de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*.

2.2 Resultados e discussão

Os resultados da contagem total de bactérias probióticas nas amostras encontram-se na Tabela 1. O leite fermentado 1 apresentou um decréscimo na quantidade de bactérias lácticas na ordem de 69% durante o período de análises. Os leites fermentados 2 e 4 apresentaram diminuição de 77% e 86%, respectivamente. Todos os produtos mantiveram-se dentro dos valores exigidos pela legislação (10^6 UFC/g), contudo deve-se ressaltar a grande diferença entre as contagens de bactérias lácticas de cada leite fermentado. Com o mesmo tempo de estocagem (17 dias), o leite fermentado 3 apresentou contagem 38 vezes maior que o leite fermentado 1, mostrando que diferentes fabricantes têm diferentes padrões de produção no tocante à presença de bactérias lácticas.

Tabela 1 - Contagem total de bactérias lácticas probióticas em leites fermentados

Produto	1ª análise		2ª análise		Diminuição da contagem (%/dia)
	Tempo* (dias)	Contagem (UFC/g)	Tempo* (dias)	Contagem (UFC/g)	
1	17	$1,3 \times 10^7$	34	$6,0 \times 10^6$	4,07
2	30	$1,0 \times 10^6$	43	$1,8 \times 10^6$	-
3	17	$5,0 \times 10^8$	28	$1,2 \times 10^8$	7,00
4	11	$1,7 \times 10^7$	22	$2,4 \times 10^6$	7,82

*Tempo decorrido do prazo de validade

A Figura 1 apresenta a comparação dos leites fermentados durante a primeira e a segunda análise e ainda a comparação entre todos os leites fermentados. Pode-se perceber que o leite fermentado que manteve o maior número de células viáveis durante o período de análise foi o número 3. O leite fermentado 2 teve um número maior de bactérias com 43 dias de fabricação, mostrando que o produto não mantém uma regularidade no número de células viáveis, já que as amostras provinham de lotes diferentes.

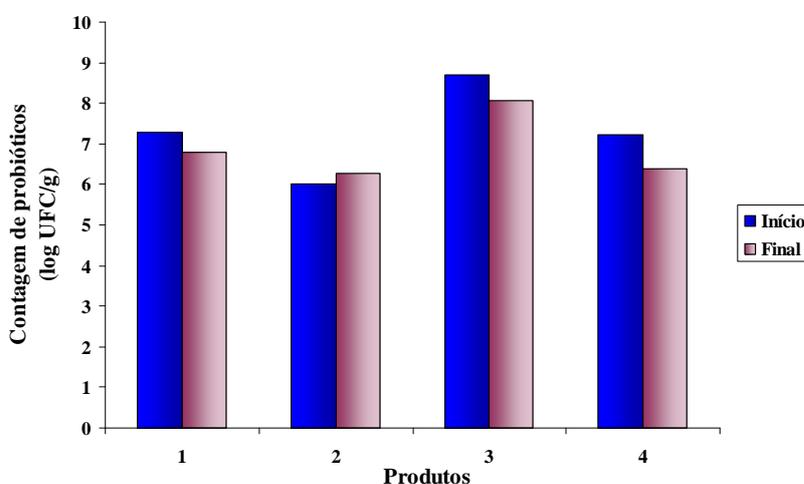


Figura 1 - Variação do número de probióticos nos leites fermentados

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), a quantidade mínima sugerida para consumo deve estar situada na faixa de 10^8 a 10^9 UFC/dia. Valores menores do que estes podem ser aceitos, desde que a empresa comprove sua eficácia (BRASIL, 2007).

Vários fatores podem afetar a viabilidade das bactérias probióticas nos produtos lácteos fermentados. Entre os fatores que podem influenciar a viabilidade destas bactérias em derivados lácteos, destacam-se as cepas empregadas, a interação entre as espécies presentes, as condições de cultivo, a produção do peróxido de hidrogênio, a acidez final do produto e a concentração de ácido acético e ácido lático (BARRETO, 2003; CAPRILES; SILVA; FISBERG, 2005; SAAD, 2006).

Vários estudos têm mostrado produtos comerciais com contagens de viáveis menores do que as recomendadas durante a estocagem de leites fermentados. Esse fato é reflexo tanto da dificuldade de incorporação dos microrganismos probióticos ao leite fermentado, devido às condições de processo que não são favoráveis ao seu desenvolvimento, bem como pela dificuldade de enumeração destes microrganismos na presença das culturas lácticas (FACHIN, 2005). Assim, são extremamente importantes os estudos que tenham como objetivo o aprimoramento desses alimentos, aumentando a viabilidade das cepas presentes.

3 CONCLUSÃO

Os leites fermentados analisados tiveram uma redução de até 80% no número de células viáveis durante o período de análise, porém todos apresentaram um mínimo de bactérias lácticas probióticas de 10^6 UFC/g, conforme estabelecido pela legislação.

4 REFERÊNCIAS

BARRETO, Gisela Pizarro de Mattos et al. Quantificação de *Lactobacilos acidophilus*, *Bifidobactérias* e bactérias totais em produtos probióticos comercializados no Brasil. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, n. 1, p. 119-126, 2003.

BOTELHO, Lidiane. **Isolamento e identificação de lactobacilos e bifidobactérias em alimentos probióticos disponíveis no mercado brasileiro**. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos da Unicamp, Campinas, 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos: recomendações da Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. Disponível em: <www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecnologia_lista_alega.htm>. Acesso em: 10 mar. 2007.

CAPRILES, Vanessa Dias; SILVA, Karla El Achkar da; FISBERG, Mauro. Prebióticos, probióticos e simbióticos: nova tendência no mercado de alimentos funcionais. **Nutrição Brasil**, n. 6, p. 327-335, 2005.

FACHIN, Luciano. **Contagem de *Bifidobacterium animalis* e efeito da adição de *Propionibacterium freudenreichii* e do tratamento térmico do leite sobre o desenvolvimento de *Bifidobacterium animalis* em iogurte**. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos da Unicamp, Campinas, 2005.

SAAD, Susana Marta Isay. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 1, p. 1-16, 2006.