

AValiação DA VIABILIDADE DE MICRORGANISMOS EM DERIVADOS LÁCTEOS PROBIÓTICOS COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE CURRAIS NOVOS/RN

Ingrid Maria de Oliveira Leite (1); Débora Alanna Araújo de Aquino (1); Jonas Luiz Almada da Silva (1)

(1) *Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande Norte Campus Currais Novos.*
E-mail: ingrid.maria.deta@hotmail.com

INTRODUÇÃO

Atualmente, há uma procura considerada alta no mercado consumidor por alimentos que agreguem sabor e aroma agradáveis, boa aparência e que, ao mesmo tempo, apresentem benefícios à saúde dos consumidores. Dentre estes produtos encontram-se os alimentos funcionais, os quais são caracterizados como benéficos nutricionais por possuírem a capacidade de promover bem-estar à saúde do consumidor, através de mecanismos não previstos na nutrição convencional. Vale ressaltar que o efeito restringe-se à promoção da saúde e não à cura de doenças (ROBERFOID, 2007).

Dentre os alimentos funcionais encontram-se os alimentos probióticos, que são considerados como funcionais de acordo com os componentes bioativos presentes neles, no caso, aqueles que interagem com os microrganismos probióticos pré-existent no trato intestinal humano. Assim, favorecendo a saúde e promovendo, principalmente, um bom funcionamento no intestino, além de outros benefícios.

Aliado a esta preocupação, tem surgido cada vez mais no mercado diferentes alimentos com apelo nutricional enquadrado como probiótico, dentre eles podemos citar os leites fermentados, iogurtes, bebidas lácteas, além de produtos fora do eixo lácteo, como sucos adicionados de microrganismos probióticos.

Tendo em vista a procura e tamanha variedade de produtos com essas características, o presente trabalho teve como objetivo realizar o monitoramento dos alimentos probióticos comercializados na cidade de Currais Novos/RN. Sendo especificamente iogurtes e leites fermentados (mas não descartando outras qualidades de alimentos) de diferentes marcas e lotes. Foram realizadas análises microbiológicas que permitiram o fornecimento de dados sobre a

qualidade probiótica dos produtos, bem como a conformidade com a legislação brasileira vigente, contribuindo para a melhoria da segurança no consumo de alimentos.

1 METODOLOGIA

MATERIAL

Os alimentos com apelo probiótico foram adquiridos do mercado local (supermercados, mercearias, mercadinhos) de Currais Novos/RN, sendo esses coletados e imediatamente transportados sob refrigeração para o Laboratório de Microbiologia do IFRN Campus Currais Novos, onde realizaram-se as análises.

MÉTODOS

Para a quantificação das bactérias lácticas em produtos lácteos, fermentados ou não, foi utilizada a técnica de plaqueamento em profundidade (Pour plate), com a utilização do Ágar Man Rogosa & Sharpe (MRS) como meio de cultura.

Como a base das análises foram leites fermentados e iogurtes probióticos, a preparação das amostras consistiram na homogeneização das mesmas. Para isso, elas foram invertidas 25 vezes em um arco de 30 cm durante sete segundos.

Feito o processo de homogeneização da amostra, a unidade analítica foi retirada, com o auxílio de uma pipeta estéril, antes de três minutos após o processo anterior. A unidade de 25ml da amostra foi inserida em 225ml de salina fisiológica, obtendo-se a diluição 10^{-1} . As diluições 10^{-3} e 10^{-5} foram obtidas através da inoculação de 1 mL da dissolução anterior em um erlenmeyer contendo 99 mL de salina fisiológica. Seguindo o mesmo processo de inoculação de 1 mL da diluição anterior, as diluições 10^{-6} , 10^{-7} e 10^{-8} resultaram desse em tubos de ensaio contendo 9 mL de salina fisiológica.

De cada uma das diluições destinadas ao plaqueamento, 10^{-6} , 10^{-7} e 10^{-8} , foi retirado 1 mL e transferido para placas de Petri vazias estéreis, duas para cada uma das diluições. Em seguida adicionou-se o meio MRS ágar e realizou-se a homogeneização por meio de movimentos em oito por pelo menos 10 vezes. Após a solidificação do meio, as placas foram incubadas em condição de vácuo na estufa bacteriológica a 35 °C por 48 horas (SILVA et al., 2010).

Foram contadas as placas que apresentaram entre 25 e 250 colônias, conforme preconiza Silva et al. (2010) e calculada a quantidade de Unidades Formadoras de Colônias por mL (UFC/mL).

2 RESULTADOS ALCANÇADOS E DISCUSSÕES

Os resultados das análises estão representados na tabela 1, onde se pode verificar os valores mínimos e máximos encontrados para os microrganismos probióticos presentes nos produtos analisados.

Tabela 1 – Contagens em profundidade de microrganismos probióticos

Amostras	Contagens (UFC/mL)	Amostras	Contagens (UFC/mL)
1	$4,5 \times 10^6$	21	$3,5 \times 10^6$
2	$7,0 \times 10^6$	22	0
3	$1,6 \times 10^6$	23	$2,0 \times 10^8$
4	$4,5 \times 10^6$	24	$1,0 \times 10^6$
5	$1,6 \times 10^9$	25	$3,7 \times 10^9$
6	$6,4 \times 10^7$	26	0
7	$1,5 \times 10^8$	27	0
8	$1,0 \times 10^9$	28	0
9	$9,8 \times 10^9$	29	$7,3 \times 10^7$
10	$2,0 \times 10^9$	30	0
11	$2,8 \times 10^9$	31	$2,0 \times 10^6$
12	$1,6 \times 10^9$	32	$3,5 \times 10^6$
13	$1,0 \times 10^8$	33	0
14	$2,0 \times 10^7$	34	$1,0 \times 10^7$
15	$2,4 \times 10^7$	35	0
16	$1,0 \times 10^6$	36	$1,8 \times 10^9$
17	0	37	0
18	0	38	0
19	$4,5 \times 10^6$	39	$2,0 \times 10^7$
20	$2,0 \times 10^7$	40	$2,5 \times 10^6$

Fonte: Elaborada pelos autores (2016).

De acordo com a tabela 45% das amostras apresentaram um número de células viáveis variando entre $1,0 \times 10^6$ UFC/mL e $7,3 \times 10^7$ UFC/mL, ao passo que 27,5% das amostras tiveram resultados variando entre $1,0 \times 10^8$ UFC/mL e $9,8 \times 10^9$ UFC/mL e 27,5% apresentaram resultado igual a zero.

Segundo Talwalkar e Kailasapathy (2004), para os microrganismos probióticos realizarem eficientemente suas funções, eles devem estar presentes em quantidades mínimas de 10^6 a 10^7 UFC/g ou UFC/mL, corroborando com alguns dos resultados encontrados.

Segundo a legislação brasileira podem ser considerados alimentos probióticos ou com alegação de probiótico os que apresentarem *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei shirota*, *Lactobacillus casei variedade rhammosus*, *Lactobacillus casei defensis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis* (incluindo a subespécie *B. lactis*), *Bifidobacterium longum*, *Enterococcus faecium* em concentrações mínimas de 10^8 a 10^9 UFC de microrganismos probióticos por porção do produto (BRASIL, 2008), sendo que o número dessas bactérias deve estar viável, ativo e abundante até o final do prazo de validade para ter eficácia de ação.

De todas as amostras avaliadas, 72,5% apresentaram-se em conformidade com o que estabelece a legislação brasileira, chegando a apresentar valores maiores aos estabelecidos, quando se leva em conta que as análises tiveram seus resultados expressos em células viáveis por mL de produto. Dessa forma, os leites fermentados que tiveram contagens na ordem de 10^6 a 10^7 UFC/mL deveriam apresentar a concentração de 10^8 a 10^9 UFC/ 100 mL de produto.

Os altos valores encontrados (10^8 a 10^9) ainda estão dentro do limite de segurança para o consumo de microrganismos probióticos, uma vez que, de acordo com a Organização Mundial de Gastroenterologia (2011), bactéria ácido-láticas como *Lactobacillus casei*, *L. acidophilus*, *L. ramosus* e *Bifidobacterium lactis* podem ser ingeridas em concentrações de até 10^{10} UFC de 2 a 3 vezes ao dia, garantindo os benefícios trazidos pelos alimentos contendo essas bactérias.

Das 40 amostras analisadas, onze (27,5%) apresentaram resultado negativo, não correspondendo ao estabelecido pela legislação brasileira. Sabe-se que a falta de controle na temperatura durante o armazenamento do produto pode gerar uma acidez excessiva (MOREIRA et al., 1999), assim como é sabido que os microrganismos probióticos, em sua maioria, apresentam um pH ótimo entre 5,5 a 7, ou seja, em torno da neutralidade (BADARÓ et al., 2008; FOOD INGREDIENTS, 2016). Assim, há a possibilidade de o resultado negativo ser oriundo de um armazenamento inadequado, o qual pode ter promovido uma redução do pH dos alimentos e acarretado a inativação dos microrganismos, visto que em pH muito baixo eles não conseguem sobreviver.

Como os alimentos analisados deveriam possuir caráter probiótico, o resultado negativo indica que as onze amostras que os apresentaram não atuam como benéficas para a saúde do consumidor. Além disso, se a possibilidade apresentada for verdadeira, a acidez excessiva pode promover modificações indesejáveis nas características organolépticas e até mesmo favorecer o desenvolvimento de outros microrganismos mais resistentes à acidez (MOREIRA et al., 1999).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As amostras avaliadas estão, em sua maioria, de acordo com o que estabelece a legislação brasileira para alimentos com apelo probiótico. Sugere-se uma orientação aos donos de estabelecimentos comercializadores desses produtos, para que se atentem às operações de armazenamento e refrigeração dos produtos a fim de lhes garantir a qualidade durante toda a sua vida de prateleira.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Alimentos. Comissões e Grupos de Trabalho. Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/ Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. Atualizado em: julho de 2008. **IX - Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas** Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm>. Acesso em: 04 abr. 2016.

BADARÓ, A.C.L. et al. **Alimentos probióticos: aplicações como promotores da saúde humana – parte 1**, 2008. Disponível em: <http://www.unilestemg.br/nutrirgerais/downloads/artigos/volume3/artigo_5_rng_alimentos_probio_ticos.pdf>. Acesso em: 13 fev. 2016.

FOOD INGREDIENTS. **Probióticos & Prebióticos**. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/47.pdf>>. Acesso em: 05 set. 2016.

EMILIANO, J.V.S. et al. **Avaliação físico-química e microbiológica de iogurtes comercializados em Rio Pombal/MG e comparação com os parâmetros da legislação**. Disponível em: <<http://www.essentiaeditora.iff.edu.br/index.php/vertices/article/download/6940/7197>>. Acesso em: 16 jan. 2017.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE GASTROENTEROLOGIA (OMGE). **Guias práticos: Probióticos e Prebióticos**, 2011. Disponível em: <http://www.worldgastroenterology.org/assets/export/userfiles/Probiotics_FINAL_pt_2012.pdf>. Acesso em: 16 jan. 2017.

ROBERFROID, M. B. Inulin-type fructans: functional food ingredients. **Journal of Nutrition**. v.137, n.11, p. 2493-2502, 2007.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. São Paulo: Livraria Varela, 2010. 624 p.

TALWALKAR, A. L.; KAILASAPATHY, K. A. A review of oxygen toxicity in probiotic yogurts: influence on the survival of probiotic bacteria and protective techniques. **Comprehensive Reviews in Food Science and Safety**. v.3, p.117-124, 2004.

