

ANÁLISE DE LEITES FERMENTADOS COMERCIALIZADOS COMO ALIMENTOS FUNCIONAIS PROBIÓTICOS

Jéssica Costa Alves Barboza*
Renata França Cassimiro Belo**

RESUMO

Atualmente existe um interesse por parte das pessoas em buscar alternativas que visam promover saúde e por esse motivo surge cada dia mais uma preocupação em consumir alimentos mais saudáveis e que tragam benefícios ao organismo. Em virtude disto, vem se destacando nestes nos últimos anos, o leite fermentado probiótico, que promove efeitos benéficos em detrimento das bactérias probióticas que o compõe, além do seu valor nutricional. Esses alimentos são denominados funcionais e, assim sendo, devem realmente acarretar benefícios à saúde. Desta forma, esse trabalho objetivou realizar uma pesquisa quantitativa com cinco marcas de leite fermentado encontradas nos comércios de Sete Lagoas, a fim de verificar as condições físico-químicas desses produtos durante sua vida de prateleira e a viabilidade dos microrganismos probióticos por 1, 15 e 28 dias sob refrigeração constante a aproximadamente 4 °C, comprovando assim se estão em conformidade com a legislação brasileira de leites fermentados. Foram realizadas diluições seriadas das amostras e as mesmas foram plaqueadas em meio MRS (MAN, ROGOSA e SHARPE, 1960) à 37°/48 horas para determinar quantidade de microrganismos probióticos (UFC/g) presentes. Adicionalmente foram realizadas análises físico-químicas de acidez titulável e pH. Todas as amostras apresentaram ótimos resultados para os parâmetros de pH e acidez titulável, assim como a viabilidade dos microrganismos probióticos se manteve dentro da legislação brasileira para alimentos probióticos. Desta forma, depreende-se que os leites fermentados mais adquiridos nos comércios de Sete Lagoas, atendem aos critérios de qualidade preconizados pela legislação de leites fermentados.

Palavras-chaves: alimentos funcionais, probióticos, leite fermentado.

ABSTRACT

Currently, there is an interest on the part of the people to seek for alternatives that aim at promoting health, and for that reason, there is an increasing concern about consuming healthier foods that bring the body benefits. Due to this, the fermented milk probiotic, which promotes beneficial effects to the detriment of the probiotic bacteria that compose it, besides its nutritional value, has been highlighted in these last years. These foods are called functional and should therefore have health benefits. The purpose of this work is to perform a quantitative research with five brands of fermented milk found in the Sete Lagoas trade, in order to verify the physical and chemical conditions of these products during their shelf life and the viability of the probiotic microorganisms for 1, 15 and 28 days under constant refrigeration at approximately 4 ° C, thus confirming that they are in compliance with the Brazilian legislation on fermented milks. Serial dilutions of the samples were performed and plated in MRS (MAN, ROGOSA e SHARPE, 1960) medium at 37 °/48 hours to determine the amount of probiotic microorganisms (CFU/g) present. In addition, physicochemical analyzes of titratable acidity and pH were performed. All the samples presented excellent results for the pH and titratable acidity parameters, as well as the viability of the probiotic microorganisms remained within the Brazilian legislation for probiotic foods. Thereby, it can be seen that fermented milks more purchased at the Sete Lagoas trade were in accordance with the quality criteria recommended by the legislation of fermented milks.

Keywords: functional aliments, probiotic, fermented milk.

* Bacharelando em Biotecnologia pela Faculdade Ciências da Vida.

E-mail: jessicacosta.alves@hotmail.com

** Professora orientadora, bacharel em Farmácia, mestre em Ciência de Alimentos, doutoranda em Ciência de Alimentos pela Universidade Federal de Minas Gerais.

E-mail: renatafcb1@gmail.com

INTRODUÇÃO

Segundo a Instrução Normativa nº 46 de 23 de outubro de 2007 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), entende-se por leite fermentado um produto obtido através da coagulação do leite, apresentando diminuição do pH por fermentação láctica a partir de microrganismos específicos, viáveis, abundantes e principalmente ativos no produto final. (BRASIL, 2016). A quantidade (UFC/g) de microrganismos viáveis e ativos é fundamental para que o mesmo acarrete efeitos fisiológicos favoráveis ao melhor funcionamento do organismo, sendo que, deve-se consumir aproximadamente uma quantidade diária de no mínimo 5 bilhões de unidades formadoras de colônias (UFC/g), ou seja, (5×10^9 UFC/dia) para que se alcance os benefícios esperados. (GALLINA *et al.*, 2012).

Para que um alimento de competência da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) ou seu constituinte seja relacionado a efeitos fisiológicos, é necessário que sejam atendidas determinadas diretrizes junto à Resolução n. 19, de 30 de abril de 1999 para comprovação dos efeitos funcionais. Em caso de alimentos ditos bioativos e/ou probióticos isolados, segue-se a Resolução n. 02, de 07 de janeiro de 2002. As empresas que produzem alimentos rotulados como funcionais devem propor um texto contendo as devidas informações ao consumidor, sendo que as mesmas devem apresentar clareza ao que se diz que não se trata de um medicamento ou composto terapêutico. (ANVISA, 2016).

Tendo em vista a importância de informar os consumidores, este trabalho objetivou-se a realizar uma pesquisa quantitativa com cinco marcas de leite fermentado líderes de mercado, encontradas nos comércios da cidade de Sete Lagoas Minas Gerais, a fim de verificar as condições físico-químicas desses produtos durante a vida de prateleira e a viabilidade dos microrganismos probióticos por 1, 15 e 28 dias sob refrigeração constante a aproximadamente 4 °C, comprovando assim se estão em conformidade com a legislação brasileira de leites fermentados.

Pretendeu-se determinar a quantidade de microrganismos probióticos (UFC/g) encontrada nos produtos analisados no Laboratório de Microbiologia da Faculdade Ciências da Vida em três tempos de vida de prateleira; determinar por avaliação dos dados obtidos, os possíveis fatores físico-químicos interferentes para

a não conformidade quanto à baixa quantidade (UFC/g) de microrganismos probióticos presentes no leite fermentado (em caso de ocorrência) e avaliar se as marcas analisadas estão em conformidade com a legislação vigente, para serem denominados alimentos funcionais.

Desta forma o projeto justifica-se pela importância de se inteirar a população quanto à eficácia dos alimentos funcionais disponíveis no mercado alimentício, visto que, atualmente encontram-se para consumo humano uma gama de alimentos ditos funcionais. Estes testes são importantes, pois visam realizar análises físico-químicas e microbiológicas aplicáveis ao produto com intuito de avaliar a estabilidade das características em análise. A questão norteadora a que se pretendeu investigar foi: Qual à prevalência de produtos da linha leite fermentado que se encontram no mercado com alegação de propriedades funcionais e efeito probiótico e não obedecem ao requisito de unidades formadoras de colônias conforme legislação vigente?

Em busca por respostas a essa questão foram propostas três hipóteses; a primeira acerca de que os produtos da linha leite fermentado existentes no mercado não se encontram em adequação com a legislação vigente no que se diz respeito às unidades formadoras de colônias de microrganismos probióticos, devido a inúmeros interferentes que podem vir a inibir a presença desses durante a vida de prateleira. A segunda propõe que os produtos encontram-se em adequação, contendo a quantidade de unidades formadoras de colônias exigidas pela legislação. E por último a hipótese que acredita que os leites fermentados não possuem o número mínimo (UFC/g) para serem considerados probióticos e, por isso, não recebe a classificação de alimentos funcionais.

A metodologia utilizada consistiu na obtenção de dados bibliográficos necessários e posteriormente realizou-se uma coleta de amostras de cinco marcas de leite fermentado probiótico nos supermercados de Sete Lagoas. Foram realizadas diluições seriadas das amostras e as mesmas foram plaqueadas em meio MRS (MAN, ROGOSA e SHARPE, 1960) a 37°/48 horas para determinar quantidade de microrganismos probióticos (UFC/g) presentes. Adicionalmente foram realizadas análises físico-químicas de acidez titulável e pH. Estas análises foram realizadas utilizando-se os Laboratórios Integrados da Faculdade Ciências da Vida. Foram realizadas as mesmas análises em três tempos distintos, com intuito de avaliar a

estabilidade das características em análise. Após o levantamento dos dados, os mesmos foram analisados pela Análise de Variância (ANOVA), não sendo significativa para nenhuma das variáveis analisadas. (ESTGV, 2013).

REFERENCIAL TEÓRICO

O mercado de bebidas funcionais aumentou consideravelmente como um dos ramos mais dinâmicos da indústria de alimentos, em especial, o setor de laticínios. (WATANABE JR, *et al.* 2014). Esse aumento da busca do consumidor brasileiro por produtos inovadores, mais saudáveis aliados à saúde, contribuiu ainda mais para a popularização dos leites fermentados. (MARQUES, 2012).

Segundo a Instrução Normativa nº 46 de 23 de outubro de 2007 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), entende-se por leite fermentado um produto obtido através da coagulação do leite, apresentando diminuição do pH por fermentação láctica a partir de microrganismos específicos, viáveis, abundantes e principalmente ativos no produto final. (BRASIL, 2016). A estabilidade e viabilidade das culturas tem sido um dos maiores desafios para as indústrias processadoras de leite fermentado (GALLINA *et al.*, 2012), visto que a quantidade (UFC/g) de microrganismos viáveis e ativos é fundamental para que o mesmo acarrete efeitos fisiológicos favoráveis ao melhor funcionamento do organismo. A legislação vigente para alimentos funcionais estabelece uma quantidade mínima viável para os probióticos na faixa de 10^8 a 10^9 UFC/g na recomendação diária do produto pronto para consumo. (ANVISA, 2008).

Para que um alimento de competência ou seu constituinte seja relacionado a efeitos fisiológicos, é necessário que sejam atendidas determinadas diretrizes junto à Resolução n. 19, de 30 de abril de 1999 para comprovação dos efeitos funcionais. Em caso de alimentos ditos bioativos e/ou probióticos isolados, segue-se a Resolução n. 02, de 07 de janeiro de 2002. As empresas que produzem alimentos rotulados como funcionais devem propor um texto contendo as devidas informações ao consumidor, sendo que as mesmas devem apresentar clareza ao que se diz que não se trata de um medicamento ou composto terapêutico. (ANVISA, 2016).

Depreende-se que alimentos funcionais são quaisquer substâncias ou componente de um alimento que acarreta benefícios para a saúde e atua na

prevenção e/ou tratamento de doenças. (MARQUES, 2012). Segundo a Sociedade Brasileira de Alimentos Funcionais (SBAF), alimentos funcionais são alimentos que desencadeiam efeitos fisiológicos e/ou metabólicos por meio de substâncias biológicas ativas que trazem benefícios à saúde, além de serem seguros e eficazes. (SALLES, 2013). Entretanto, a definição de alimento funcional é controversa, variando entre legislações nacionais e, também, entre diferentes discursos, se aprimorando ao longo dos anos. O conceito inicial de alimentos funcionais foi incorporado no Japão, na década de 1980, por meio de um programa do governo, definido como alimentos similares em aparência aos convencionais, mas que apresentavam benefícios fisiológicos, além de funções nutricionais básicas. (COSTA, *et al.*, 2013).

Várias jurisdições posteriormente começaram a definir o termo alimentos funcionais. (JEW *et al.*, 2015). Esta relação entre saúde e alimentação é uma das chaves para a prevenção de doenças e, devido a este raciocínio, é que vem aumentando significativamente o mercado de alimentos funcionais (LIMA, *et al.*, 2014), e se afirmando com mais assiduidade que a composição da dieta que se consome está relacionada com a qualidade de vida que se adquire. (FIORAVANTE, 2015).

Probiótico é um termo que significa “para a vida” e por isso, sempre está associado às bactérias que promovem benefícios à saúde. (FIORAVANTE, 2015). Quando se refere aos efeitos das substâncias probióticas, pode-se classificá-las em aquelas que modulam a defesa do organismo do consumidor (como a imunidade da mucosa); as que atuam na prevenção de doenças ou ainda, as responsáveis pela eliminação de toxinas do organismo. (COSTA, *et al.*, 2013).

Um produto não necessita de registro para conter um insumo com características de nutriente funcional, mas para que essa informação seja disposta em sua embalagem e/ou campanha publicitária, é obrigatória a elaboração do registro na ANVISA, na categoria de alimentos com alegações de propriedades funcionais ou de saúde (Resolução n. 19, de 30 de abril de 1999) ou na categoria de substâncias bioativas e probióticos isolados (Resolução n. 02, de 07 de janeiro de 2002) pela ANVISA, para que o controle das alegações realizado pela Comissão Técnico-Científica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos (CTCAF) impeça o uso de informações infundadas que visam ludibriar os

consumidores, ou seja, promovendo e protegendo a saúde do consumidor. (ANVISA, 2016; SALLES, 2013). Os produtos lácteos representam uma parcela importante neste mercado (LIMA, *et al.*, 2014), e na maior parte desses são adicionadas bactérias ácido lácticas (BAL) para produzir metabolitos a fim de promover benefícios á saúde. (SAAD, *et al.*, 2013; SINGH *et al.*, 2013).

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade descrito pelo MAPA, leite fermentado é um produto resultante da fermentação do leite pasteurizado ou esterilizado por culturas de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium sp*, *Streptococcus thermophilus* e/ou outras bactérias ácido-lácticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final. (SANTOS *et al.*, 2012). O leite fermentado probiótico é aquele no qual são adicionados microrganismos vivos que não são patógenos e que apresentam resistência aos interferentes para chegarem vivos até o cólon, como por exemplo, resistência ao ambiente ácido estomacal, à bile e às enzimas pancreáticas. São cepas adicionadas como suplemento e podem ser considerados como flora transitória. (COSTA *et al.* 2013; SANTOS *et al.* 2012).

Na literatura é descrito um número relevante de microrganismos probióticos: *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. helveticus*, *L. casei* subsp. *paracasei* e subsp. *tolerans*, *L. sakei*, *L. curvatus*, *L. paracasei*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *L. johnsonii*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* e *L. salivarius*), *Lactococcus* (*L. lactis* subsp. *lactis*) e bactérias Gram-positivas. Outros micro-organismos, dos gêneros *Bifidobacterium* (*B. infantis*, *B. breve*, *B. lactis*, *B. animalis*, *B. longum*, *B. thermophilum*) *Enterococcus* (*E. faecium*, *E. faecalis*, *E. mundii*) e *Saccharomyces spp.* As bactérias ácido lácticas (BAL) têm uma grande tolerância ao meio ácido e são microrganismos fermentadores que produzem o ácido láctico como principal produto. Apresentam três funções que justificam a importâncias destas no processo de fabricação de bebidas lácteas: potencial de acidificação, contribuição para realce de sabor e odor e também para a textura do produto final. (REIS, 2012).

A fermentação láctica realizada por estes microrganismos se resume na conversão anaeróbica parcial da lactose (carboidrato presente no leite), e após esse processo é formado o produto de interesse, que é o ácido láctico. Em detrimento da espécie utilizada, esta fermentação pode ocorrer por duas vias, sendo as vias homofermentativa na qual o ácido láctico é o único produto formado, ou a via

heterofermentativa, com a formação de outros compostos além do ácido láctico, que podem influenciar nas características organolépticas do leite fermentado. (SILVA, *et al.*, 2012). O ácido láctico é um ácido orgânico que é conhecido pelo seu potencial antimicrobiano e está apto para ser adicionado aos alimentos devido ao seu estatuto *Generally Recognized as Safe* (GRAS). (WANG *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2014).

Para as bases de processamento desses produtos, o grande desafio é manter a viabilidade e estabilidade das culturas. Fatores como pH, temperatura de estocagem, microrganismos inibidores e/ou competidores no meio e nível de oxigênio causam grandes interferências. Ainda assim, as culturas devem englobar linhagens específicas de microrganismos probióticos e manter uma quantidade (UFC/g) de células viáveis durante a produção e vida-de-prateleira do produto, conforme solicitado pela ANVISA, sem comprometer ainda as características organolépticas, como sabor e textura do produto. (GALLINA *et al.*, 2012).

Estudos atuais têm dado destaque à dois microrganismos probióticos: *Bifidobacterium spp.* e *L. acidophilus*, visto que os mesmo tem entre si uma simbiose. (REIS, 2012). O gênero dos *Lactobacillus* compreende o maior número de bactérias lácticas, agregando as principais da indústria de laticínios, como *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. delbrueckii bulgaricus* ou *L. plantarum*. São classificadas como bastonetes Gram positivos, microaerofílicos, e são utilizadas como culturas *starter* e probióticas, visto que produzem quantidade considerável de ácido láctico e acarretam decréscimo no pH do meio. (BARRANGOU *et al.*, 2012).

A utilização destas é indicada às pessoas que desejam favorecer o equilíbrio da microbiota intestinal. (BOGSAN, 2012). Produtos lácteos que contem em sua composição culturas probióticas agregam vários benefícios à saúde por razão de aliviarem por vezes a intolerância à lactose, inibirem a adesão de microrganismos patógenos no trato gastrointestinal, intervenção preventiva contra vários tipos de diarreias (agudas, associadas a antibióticos, síndrome do intestino irritável, cólica) dentre outros efeitos mais delicados como, efeitos anticarcinogênicos e hipocolesterolêmicos. (SANTOS *et al.*, 2012; MAGRO *et al.*, 2014).

As diarreias podem ter causa alimentar, infecciosa ou pelo uso de medicamentos. Segundo estudo realizado quanto à atuação dos probióticos na flora intestinal, determinou-se que o tratamento com estes microrganismos foi eficaz na redução das diarreias associadas ao uso de antibióticos. Quanto à intolerância a

lactose, esta ocorre devido ao déficit na produção da enzima β -galactosidase, que é a responsável pela degradação da lactose presente nos alimentos. Aos intolerantes, leites fermentados são mais bem digeridos, pois a lactose presente no leite é consideravelmente reduzida durante o processamento, mais especificamente no processo de fermentação pelos lactobacilos e pelas bifidobactérias. (WENDLING *et al.*, 2013)

MATERIAIS E MÉTODOS

Cinco marcas de leite fermentado foram adquiridas no comércio de Sete Lagoas- MG, após verificar junto aos gerentes dos estabelecimentos quais as marcas de maiores índices de vendas. As mesmas foram mantidas sob refrigeração até o momento das análises físico-químicas e microbiológicas realizadas nos laboratório de Química Analítica e Microbiologia, respectivamente, na Faculdade Ciências da Vida- FCV. Foram adquiridas seis amostras de cada marca, em estabelecimentos comerciais distintos da cidade, e cada marca foi analisada em três tempos da vida de prateleira (1 dia, 15 dias e 28 dias após a aquisição das amostras). Devido ao sigilo das marcas, as mesmas foram enumeradas de 1 a 5 e assim referidas.

ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Para contagem de microrganismos nas amostras foi utilizada a metodologia Boletim Técnico P-12 da *Chr-Hansen*. O número de células da microbiota essencial presente na bebida, *S. thermophilus*, *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* foi determinado pela contagem total de células viáveis. Em capela de fluxo laminar, foram realizadas diluições seriadas de 10^{-1} a 10^{-6} do produto em solução salina de água peptonada 0,1% para que fosse possível à contagem entre 25-250 colônias. Posteriormente foram inoculadas 1 ml das diluições em placas de Petri através da técnica de semeadura por profundidade sobre camada com meio de cultura Ágar MRS (MAN, ROGOSA e SHARPE, 1960), sendo as placas invertidas e incubadas a $37^{\circ}\text{C}/48\text{h}$.

Terminado o período de incubação, foi realizada a contagem das colônias típicas dos lactobacilos (colônias cor creme, de diâmetro pequeno), lembrando que foram inoculados controles positivo, através da semeadura de uma alíquota do leite fermentado sem diluição no ágar MRS e o controle negativo, através na imersão do ágar sem leite fermentado, para garantia dos resultados. Após a contagem de número de colônias (UFC viáveis) foi realizado o cálculo da quantidade de microrganismos viáveis/ml através da fórmula: Número de UFC viáveis/ ml de produto= média de UFC da replicata X Fator de diluição X 10.

ANÁLISES FÍSICO- QUÍMICAS

Foram realizadas análises físico-químicas segundo as metodologias oficiais do Instituto Adolf Lutz (2008). O pH das amostras foi analisado através do método de potenciometria utilizando o potenciômetro previamente aferido com solução padrão pH 7,0 e pH 4,0 e, assim como todas as outras análises, o mesmo foi realizado em duplicata. Este método consiste em colocar 50 ml da amostra em um béquer de capacidade para 100 ml e inserir o eletrodo capacitado para realizar a leitura do pH.

A acidez titulável em ácido láctico foi determinada através da técnica de titulometria, que é realizada pela diluição de 10 g da amostra de leite fermentado em um béquer contendo 10 ml de água isenta de gás carbônico. Esta diluição deve ser acrescida de 4 a 5 gotas de solução indicadora de Fenolftaleína 1% e em seguida, proceder com a titulação utilizando solução de Hidróxido de Sódio 0,1 Normal (NaOH 0,1 N) até obter uma coloração rósea persistente ou até pH 8,3.

Foi realizada também a avaliação sensorial de todas as amostras, avaliando seu aspecto, cor, odor e sabor conforme padrão descrito pela legislação vigente do produto. Para o aspecto deve-se avaliar se o produto encontra-se fluido, pastoso ou gelificado. Quanto à cor, o mesmo deve ser branco ou de acordo com as substâncias alimentícias e/ou corantes adicionados. Seu odor e sabor devem ser acidulados de acordo com as substâncias adicionadas e/ou aromatizantes e saborizantes adicionados, respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo a resolução nº 5 do MAPA, referente aos padrões de identidade e qualidade para leites fermentados, a acidez titulável desses produtos deve estar entre 0,6 e 2,0% de ácido láctico. (BRASIL, 2000). Os resultados obtidos para análise de acidez e pH descritos na tabela 1 e 2, respectivamente, revelam que a marca 5 apresentou a menor média (0,817% de ácido láctico) e a marca 1 apresentou a maior média (1,028% de ácido láctico). Ainda assim, todas as marcas apresentaram-se conformes com a exigência da Resolução. Nos valores encontrados nesta pesquisa, observa-se a concordância entre relação pH/acidez ácido láctico, o que mostra que as marcas em avaliação têm uma boa aceitação pelo público consumidor, uma vez que, em casos de um baixo pH e alta acidez ocorre rejeição pelo produto devido ao forte sabor ácido. Este fator também prejudica a microbiota natural do produto. (SANTOS *et al.*, 2012).

Os valores encontrados estão em conformidade comparados com Farias *et al.* (2012) que encontraram concentrações abaixo de 5,5% de ácido láctico em sete tipos de leite fermentado, na cidade de João Pessoa. Autores como Santos *et al.* (2012), Canella (2016) também encontram valores semelhantes a esta pesquisa, ao contrário de Gallina *et al.* (2012), que encontram resultados de análises de acidez próximos de 0,41%, ou seja, consideravelmente abaixo dos demais.

Tabela 1- Valores médios de acidez titulável em ácido láctico

Marca	Média de acidez titulável (% ácido láctico)	Desvio Padrão
1	1,028	±0,01
2	0,970	±0,06
3	0,878	±0,02
4	0,850	±0,01
5	0,817	±0,01

Em relação ao pH, foram encontrados valores entre 4,30 (marca 1) a 4,74 (marca 5). Estes baixos valores de pH são comuns aos leites fermentados e estão diretamente relacionados à segurança alimentar, visto que microrganismos patogênicos não crescem em ambientes muito ácidos. (GALLINA *et al.*, 2012).

Tabela 2- Valores médios de pH das marcas avaliadas

Marca	Média Ph	Desvio Padrão
1	4,30	±0,01
2	4,36	±0,01
3	4,45	±0,01
4	4,71	±0,01
5	4,74	±0,01

Os resultados encontrados na contagem de microrganismos probióticos presentes nas amostras estão descritos na tabela 3 e foram satisfatórios, visto que nos três tempos analisados (1 dia, 15 dias e 28 dias respectivamente), todas as marcas apresentaram o limite exigido de 10^7 UFC/g. Observa-se que ocorreu uma diminuição da quantidade de microrganismos probióticos entre a primeira e a última análise de viabilidade, portanto, depreende-se que o consumo de tais produtos deve obedecer à data de validade para que os benefícios probióticos sejam atingidos.

Tabela 3- Contagem de bactérias lácticas viáveis durante o armazenamento do leite fermentado

	1 dia	15 dias	28 dias
	Células viáveis (UFC/g)		
Marca 1	$2,0 \times 10^9$	$5,70 \times 10^8$	$4,835 \times 10^8$
Marca 2	$3,50 \times 10^8$	$2,15 \times 10^8$	$4,483 \times 10^7$
Marca 3	$3,89 \times 10^8$	$6,20 \times 10^7$	$5,090 \times 10^7$
Marca 4	$4,12 \times 10^8$	$3,91 \times 10^8$	$3,040 \times 10^8$
Marca 5	$3,24 \times 10^8$	$1,30 \times 10^8$	$6,740 \times 10^7$

As marcas 1 e 4 apresentaram as melhores quantidades de células viáveis durante todo o armazenamento do produto e todas as marcas sofreram um decréscimo na quantidade de microrganismos que se deve principalmente ao aumento da acidez devido ao aumento da concentração de ácido láctico presente na amostra em virtude da fermentação. Entretanto, a sobrevivência das bactérias probióticas no produto alimentício deve alcançar populações suficientemente elevadas para ser de importância fisiológica ao consumidor. (GALLINA *et al.*, 2012).

Os valores encontrados são de grande relevância quando comparados com autores como Barros *et al.* (2011) que encontraram valores em torno de 10^8 UFC/m em bebidas lácteas fermentadas, na cidade de Dourados-MT. Outros autores como

Krüger *et al.* (2008) e Andrade *et al.* (2011) 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.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O leite fermentado comercializado em Sete Lagoas atende aos critérios de identidade e qualidade preconizados na legislação de leites fermentados, podendo ser considerados como alimentos funcionais. A quantidade de microrganismos probióticos viáveis encontrada foi menor que a quantidade indicada na embalagem do produto, mas ainda dentro dos valores mínimos de viabilidade exigida pela legislação vigente. Ocorreu uma diminuição da quantidade de microrganismos probióticos entre a primeira e a última análise de viabilidade, portanto, depreende-se que o consumo de tais produtos deve obedecer à data de validade para que os benefícios probióticos sejam atingidos.

Quanto às implicações encontradas neste trabalho, houve uma dificuldade quanto ao critério para escolha das marcas a serem estudadas e quais os comércios que seriam coletadas as amostras, visto que existe em Sete Lagoas uma gama de ambos, mas o intuito da pesquisa é informar a população quanto à eficácia dos alimentos funcionais probióticos disponíveis no mercado alimentício de Sete Lagoas de forma representativa.

Toda pesquisa possui limitações ligadas ao contexto em que foi realizada, sejam elas teóricas, metodológicas ou práticas. Com relação às limitações deste estudo, pode-se considerar que esta pesquisa restringiu-se a um determinado mercado, o da cidade de Sete Lagoas, fazendo com que os dados e a interpretação dos resultados sejam característicos dos produtos encontrados nesta cidade. Sugere-se que pesquisas desta mesma natureza sejam realizadas em outras localidades do Estado e do país, de modo a analisar diferentes comportamentos analíticos das marcas de leite fermentados.

O rótulo é um requisito obrigatório, além de exercer função educativa. A educação do consumidor é um processo lento, e informações completas nos rótulos são fundamentais. Dessa forma, seria muito importante que além do microrganismo,

as concentrações dos mesmos fossem indicadas. Espera-se que, com o passar do tempo, os consumidores também exijam que os benefícios esperados sejam veiculados nos rótulos, e que num futuro próximo, mais produtos de leites fermentados estejam no mercado apresentando informações que os direcionem a escolha daquele que mais se adequa à sua necessidade. Outra sugestão é que as próprias empresas fabricantes implantem esse estudo de viabilidades dos produtos, a fim de verificar as condições que esses se encontrarão com a progressão do tempo de prateleira.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, E. H. P. **Características microbiológicas de bebidas lácteas fermentadas.** Características microbiológicas de bebidas lácteas fermentadas. In: CONGRESSO DE MICROBIOLOGIA, 26., Foz do Iguaçu, out. 2011. Anais... Foz do Iguaçu: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 2011; p.310-1.

ANVISA, 2008. Comissões Tecnocientíficas de Acessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. **Alimentos com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos: lista das alegações aprovadas.** Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm.> Acesso em: 15 Fev. 2016.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alegações de propriedade funcional e de saúde.** Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Alimentos/Assuntos+de+Interesse/Alimentos+Com+Alegacoes+de+Propriedades+Funcionais+e+ou+de+Saude/Avaliacao+de+seguranca+e+comprovacao+de+eficacia> > Acesso em: 02 Mai. 2016.

BARRANGOU, R *et al.*. Genus Lactobacillus, in: Lahtinen, S., Ouwehand, A., Salminen, S., von Wright, A. (Eds.), **Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects.** Taylor and Francis, New York, p. 77-91, 2012

BARROS, L. A.; SILVA, K. E.; AGOSTINI, J. S.; MELO, A. M. M. F. **Qualidade microbiológica de bebidas lácteas fermentadas comercializadas na cidade de Dourados – MS.** Interbio, Dourados, v. 5, n. 2, p. 44-49, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento . **Resolução 5 de 13 de novembro de 2000. Padrões de identidade e qualidade de leites fermentados.** Ministério da Agricultura e do Abastecimento 2000. Disponível em: <www.anvisa.gov.br/alimentos/aulas/ii_seminario.../rotulagem_origem_animal.ppt. > Acesso em: 01 Mai. 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento . **Instrução normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007. Regulamento Técnico de identidade e qualidade de leites fermentados.** Disponível em:

<<http://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2012/08/INSTRU%C3%87%C3%83O-NORMATIVA-N%C2%BA-46-DE-23-DE-OUTUBRO-DE-2007.pdf> > Acesso em 02 Mai. 2016.

BOGSAN, Cristina Stewart Bittencourt. **Efeito do leite fermentado probiótico na resposta imune celular em cólon de camundongo BALB/c.** 2012, Monografia- Universidade de São Paulo- Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo.

CANELLA, Maria H. M. **Potencial da crioconcentração do soro de leite e seu emprego na elaboração de uma bebida láctea fermentada simbiótica.** 2016. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina.

COSTA, Marion P. *et al.* **Leite fermentado: Potencial alimento funcional.** **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer.** Goiânia, v.9, N.16; p. 1389, jul., 2013.

ESTGV, Escola Superior de Tecnologia e Gestão de Viseu. **Análise e Variância.**

Disponível em :<

<http://www.estgv.ipv.pt/PaginasPessoais/lucas/material/ANOVA%20Formato%20Aluno.pdf>> Acesso em: 12 Mai. 2016.

FARIAS, Maria M. A. G, *et al.* **Avaliação da Acidez de Diversas Marcas de Leite Fermentado Disponíveis Comercialmente.** Pesquisa Brasileira Odontopediatria Clínica Integrada, João Pessoa, 12(4):451-55, out.-dez., 2012

FIORAVANTE, Marceli Borges. **Elaboração, caracterização e aceitabilidade de bebida fermentada saborizada à base de extrato hidrossolúvel da amêndoa de baru (*Dipteryx alata* Vogel).** 2015, Monografia- Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande.

GALLINA, Darlila A. *et al.* **Caracterização de bebida obtida a partir de leite fermentado simbiótico adicionado de polpa de goiaba e avaliação da viabilidade das bifidobacterias.** *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes.* Campinas, n.386, p.45-54, mai-jun., 2012.

JEW, Stephanie *et al.* **Nutrient essentiality revisited.** Journal of Functional Foods, n.14, p. 203-209, 2015.

KRÜGER, R. L. *et al.* **Desenvolvimento de uma bebida Láctea probiótica utilizando como substratos soro de leite e extrato hidrossolúvel de soja.** Alimentação e Nutrição, Araraquara, v. 19, n. 1, p. 43-53, 2008.

LIMA, M. S. F. *et al.* **Características microbiológicas e antioxidantes de um novo alimento funcional probiótico: leite de ovelha fermentado por kefir.** Revista do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química. Florianópolis, p. 1-8, out., 2014.

MAN, J. C.; ROGOSA, M; SHARPE, M. Elisabeth. **A medium for the cultivation of lactobacilli.** Journal of applied Bacteriology, v. 23, n. 1, p. 130-135, 1960.

MAGRO, D. O. *et al.* **Effect of yogurt containing, Lactobacillus acidophilus NCFM and Bifidobacterium lactis HN019: a randomized, double-blind, controlled study in chronic constipation.** Nutrition Journal, v.13, n.75, 2014.

MARQUES, Aline Prudente. **Desenvolvimento de bebida láctea fermentada à base de soro lácteo e café solúvel com atividade probiótica.** 2012, Monografia- UFLA, Universidade Federal de Lavras, Lavras.

REIS, Janaína Alves. **Bebidas lácteas fermentadas: evolução da microbiota durante a fabricação, identificação de fungos leveduriformes e ação de culturas probióticas sobre os leveduriformes.** 2012, Monografia- Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto.

SAAD, N. *et al.* **An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field.** LWT – Food Sci. Techn., v.50, p.1-16, 2013.

SALLES, Leonardo Gaspar. **Os alimentos funcionais no Brasil: Uma análise dos produtos registrados com alegações de propriedade funcional e/ou de saúde entre 1999 e 2013.** 2013. f.109. Monografia- UFSC, Universidade Federal de Santa Catarina , Florianópolis.

SANTOS, Geânderson. *et al.* **Avaliação sensorial, físico-química e microbiológica do leite fermentado probiótico desnatado adicionado de jenipapo desidratado osmoticamente.** Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes. Juiz de Fora, n.388, p.61-67, set/out.2012.

SILVA, Anne R. *et al.* **Estudo do comportamento cinético e reológico da fermentação láctica na produção do iogurte natural.** Enciclopédia Biosfera. Centro Científico Conhecer. Goiânia, v.8, N.14; p.1907, jun. 2012.

SINGH, A. *et al.* **Immune-modulatory effect of probiotic Bifidobacterium lactis NCC2818 in individuals suffering from seasonal allergic rhinitis to grass pollen: an exploratory, randomized, placebo-controlled clinical trial.** Europa, *Journal of Clinical Nutrition*, v.67, p.161167, 2013.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ALIMENTOS FUNCIONAIS (SBAF). **O que são alimentos funcionais?** Disponível em: <http://www.sbaaf.org.br/alimentos_funcionais.htm>. Acesso em: 12 Fev. 2016.

TECHNICAL BULLETIN P-12. **Alternative method for enumeration of Bifidobacteria in fermented milk products.** Guidelines. Chr-Hansen, 2007.

WANG, Chenjie *et al.* **Efficacy of lactic acid in reducing foodborne pathogens in minimally processed lotus sprouts.** Food control, v. 30, n. 2, p. 721-726, 2013.

WANG, Chenjie *et al.* **Surface physiological changes induced by lactic acid on pathogens in consideration of pKa and pH.** Food Control, v. 46, p. 525-531, 2014.

WATANABE JR. *et al.* **Aplicação de probióticos microencapsulados em leites fermentados.** *Revista do 8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica.* Campinas, Ago., 2014.

WENDLING, Luana K. *et al.* **Probióticos e alimentos lácteos fermentados: Uma revisão.** *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes.* Juiz de Fora, n.395, p. 49-57, nov/dez.2013.

ZENEON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. **Instituto Adolf Lutz-Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos.** São Paulo-SP, 2008.