



TESTE DE VIABILIDADE DE PROBIÓTICOS EM DIFERENTES FORMULAÇÕES DE LEITE FERMENTADO ATRAVÉS DO PROCESSO DE DIGESTÃO SIMULADA.

Luciana de Carvalho Fino*, Fabíola L. Pena, Thais R. Silva, Vivian C. C. Rodrigues, Luiz G. S. Silva, Adriane E. C. Antunes.

Resumo

O leite fermentado é um alimento com alegação funcional devido à presença de probióticos em sua composição, trazendo diversos benefícios a seus consumidores regulares. Assim, o presente trabalho buscou avaliar a viabilidade de probióticos frente ao processo de digestão simulada *in vitro*, bem como analisar a segurança microbiológica das bebidas desenvolvidas. Os resultados demonstraram que a bifidobactéria BB12 apresentou melhor sobrevivência ao ensaio *in vitro* quando comparada à bifidobactéria BI07, mas ambas sofreram decréscimo de suas contagens iniciais. As bebidas probióticas apresentam-se de acordo com a RDC nº12 do ponto de vista microbiológico.

Palavras-chave:

Leite fermentado, probióticos, viabilidade.

Introdução

O consumo regular de leites fermentados contendo probióticos – associado a um estilo de vida saudável – traz benefícios a seus consumidores, tais como controle da microbiota intestinal, estímulo do sistema imune e prevenção de distúrbios intestinais como diarreia e Síndrome do Intestino Irritável. Mas para que esses efeitos sejam alcançados é necessário que haja viabilidade dessas bactérias no intestino, sobrevivendo às diversas situações ofensivas ao longo do trato gastrointestinal humano, tais como HCl, enzimas e peristaltismo até chegarem ao cólon para colonizar o hospedeiro. A sobrevivência desses microrganismos na matriz alimentar é positiva, principalmente em produtos lácteos, conferindo certa proteção ao probiótico.

O presente trabalho buscou avaliar a viabilidade de probióticos frente ao processo de digestão simulada *in vitro*, bem como analisar a segurança microbiológica das bebidas desenvolvidas.

Resultados e Discussão.

O ensaio *in vitro* da digestão simulada foi separado em três fases: a fase gástrica, com adição de ácido clorídrico e solução de pepsina (0,3g/L) e lipase (0,9mg/L) à amostra; a fase entérica I com adição de solução tampão fosfato de sódio, bile (10g/L) e pancreatina (1g/L) à amostra; a fase entérica II, com nova adição de solução fosfato de sódio, bile e pancreatina à amostra, mantendo a mesma concentração das enzimas. A faixa de pH das amostras em cada fase é de 2 – 2,5 para fase gástrica, 4,5 – 5,5 para fase entérica I e 6,5 – 7,5 para fase entérica II. As amostras foram submetidas a um banho metabólico do tipo Dubnoff a 37°C, e constante agitação a 150 RPM durante seis horas seguidas (duas para cada fase). Ao término de cada fase fez-se análises de viabilidade dos probióticos, inoculando 1 mL das diluições decimais em placas de petri com MRS Agar, por plaqueamento *pour plate* e incubação em anaerobiose por 72±2 horas a 37°C. Os resultados estão demonstrados na tabela 1, em que pode-se observar uma diminuição expressiva da contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) dos probióticos na fase entérica I, já que as soluções de enzimas e a agitação constante desempenham papel extremamente ofensivo a essas bactérias. Entretanto, na

fase entérica II há um aumento significativo de UFC, mostrando que possivelmente haviam algumas células microbianas em estado viável mas sem condições de se multiplicar naquela situação. Quando as bifidobactérias encontraram o pH mais próximo da neutralidade conseguiram se estabilizar e se recuperar dos danos causados nas fases anteriores. Ambas culturas apresentaram decréscimo de suas contagens iniciais, mas o que deve se levar em conta é a funcionalidade do probiótico e não simplesmente o número final de suas colônias. A *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB12) apresentou melhor sobrevivência ao trato gastrointestinal quando comparada à *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BI07).

Tabela 1. Contagem de Probióticos no Ensaio de Digestão Simulada *in vitro*.

Bebida Probiótica	Amostra sem digestão (UFC.mL ⁻¹)	Fase Gástrica (UFC.mL ⁻¹)	Fase Entérica I (UFC.mL ⁻¹)	Fase Entérica II (UFC.mL ⁻¹)
BB12	7,9.10 ⁸	4.10 ⁸	6,9.10 ⁷	2,42.10 ⁹
BI07	7,1.10 ⁸	1,96.10 ⁸	1.10 ⁸	1,88.10 ⁸

Os leites fermentados produzidos também foram submetidos a análises microbiológicas durante toda sua vida de prateleira (28 dias) com avaliação de coliformes a 35 e a 45°C. Os resultados ficaram abaixo do nível de detecção do método estando de acordo com o estabelecido pela RDC nº 12, garantindo a segurança do produto.

Conclusões

A bifidobactéria BB12 apresentou melhor sobrevivência à digestão simulada quando comparada à bifidobactéria BI07, entretanto ambas sofreram um grande decréscimo de suas contagens iniciais. As bebidas probióticas produzidas estão seguras do ponto de vista microbiológico de acordo com a resolução RDC nº12 (ANVISA) e contêm quantidades de probióticos suficientes para desenvolver efeitos benéficos ao consumidor.

Antunes SMML. Probióticos: agentes promotores de saúde. Rev. Soc. Br. Al. Nut. 2007;32(3):113-132.

Brasil, 2001. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC Nº 12, de 2 de janeiro de 2001.

REDONDO NC. Avaliação *in vitro* de características probióticas do *Enterococcus faecium* CRL183 e do *Lactobacillus helveticus* ssp. *jugurti* 416. Araraquara. Dissertação [Mestrado em Alimentos e Nutrição] - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP; 2008