

## ANÁLISE COMPARATIVA DA POPULAÇÃO VIÁVEL DE BACTÉRIAS LÁTICAS E QUALIDADE HIGIÊNICA INDICATIVA DE TRÊS MARCAS DE LEITES FERMENTADOS

Camila Carpenedo \*

Jéssica Luz \*

Nathaly Laube \*

Jane Mary Lafayette N. Gelinski \*\*

### Resumo

O leite fermentado é um produto com um mercado promissor por fazer parte dos alimentos funcionais, sendo as bactérias ácido-láticas (BALs) as responsáveis por esta atribuição. Estas devem estar presentes, conforme a legislação em uma quantidade mínima de Unidades Formadoras de Colônia (UFC). Já o grupo dos coliformes é indesejável, especificamente a *Escherichia Coli*. Este trabalho teve como objetivo comparar três marcas de leites fermentados, obtidas em mercados da cidade de Videira - SC, no ano de 2017. Analisando a população total viável de bactérias láticas e coliformes nas amostras indicativas dos produtos, verificou-se que todas as amostras das marcas analisadas (A, B e C), estão com qualidade higiênico-sanitária adequada, ou seja, ausência de coliformes. Quanto à viabilidade da população de BAL, constatou-se que apenas uma das marcas (C) apresentava níveis adequados para bactérias láticas viáveis. Já as demais (A e B) foram  $<10E6$  UFC/mL, valor mínimo aceitável em termos de bactérias láticas. Conclui-se que há necessidade de monitorar os produtos que indicam presença de bactérias láticas com efeito benéfico ao organismo.

Palavras-chave: Fermentação. Bactérias do ácido lático. Qualidade. Probiótico.

## 1 INTRODUÇÃO

A produção do leite fermentado aconteceu pela primeira vez de forma acidental, por nômades que o armazenavam em recipientes produzidos de estômago de bode. Por conta disso e de fatores como o clima seco e árido da Eurásia, houve a proliferação de bactérias, as quais modificaram a estrutura do leite, proporcionando-lhe um atrativo sensorial e conservando-o mesmo por mais tempo (COSTA et al., 2013).

Atualmente a preocupação cada vez maior com a vida saudável, tem ajudado a desenvolver alguns setores de produtos. Por conta disso, os alimentos funcionais ganharam atenção de fabricantes e consumidores, tornando-se uma grande área de estudo em todo o mundo e, constituindo-se em um mercado altamente promissor (ZACARCHENTO et al., 2008). Segundo as estimativas, o setor de leites fermentados cresce 20% ao ano, sendo que 80% destes são representados por iogurtes (GALLINA, 2011).

O leite fermentado é constituído por microrganismos, tais como *Lactobacillus casei*, um probiótico. Gallina, et al. (2011) afirmam ainda, que a Organização Mundial da Saúde define probióticos como microrganismos vivos, com capacidade para resistir ao suco gástrico ácido do estômago, aos sais biliares e às enzimas digestivas. E ainda, com capacidade de aderir à mucosa intestinal, não interferir com a microbiota intestinal endógena, mas, quando ministrados em quantidade adequada são capazes de inibir bactérias indesejáveis.

Outro aspecto a considerar, particularmente para produtos fermentados, é a qualidade higiênico-sanitária, uma vez que produtos lácteos precisam de matéria de excelente qualidade. É preciso verificar essa qualidade com base em indicadores microbiológicos, sendo assim, o grupo dos coliformes é o mais utilizado.

A denominação coliformes fecais há muito vinha sendo utilizada para descrever os fermentadores de lactose com produção de gás a 44,5°C. A legislação brasileira modificou a denominação anterior de coliformes fecais para coliformes a 45°C tendo em vista que apenas *Escherichia coli* tem

habitat predominante no intestino humano e de animais (SILVA; CAVALLI; OLIVEIRA, 2006). O leite fermentado deve atender aos padrões legais vigentes no Brasil, que determinam como valores máximos para esses microrganismos, 10NMP/g (ZACARCHENTO et al., 2008).

Esta pesquisa realizou a contagem de BAL totais em amostras de leites fermentados. Também avaliou-se a qualidade higiênica destas amostras com base na quantificação do grupo coliformes.

## 2 DESENVOLVIMENTO

### 2.1 MATERIAL E MÉTODOS

As amostras utilizadas para a contagem de UFC de bactérias lácticas e coliformes foram obtidas em mercados da cidade de Videira – SC, totalizando três diferentes marcas (A, B e C). As amostras estavam dentro do prazo de validade e em temperatura adequada. Após coletadas, foram levadas diretamente para o laboratório de microbiologia da Unoesc.

#### 2.1.1 Preparação das Amostras

As amostras foram agitadas, ainda nas embalagens utilizadas para comercialização e, então, foram abertas na câmara de fluxo laminar. De cada uma das três marcas (A, B e C), foram pesados 25 gramas do produto e adicionados 225 mL de solução salina (NaCl 0,85% p/v), os quais foram transferidos para um saco estéril (Nasco®) onde foram homogeneizados, sendo esta considerada a diluição 10E-1. Posteriormente, 1 mL de cada solução, foi adicionado em um tubo contendo 9mL de água peptonada 0,1%, obtendo-se a diluição 10E-2. Repetiu-se o procedimento até as diluições 10E-3, 10E-4 e 10E-5, as quais foram utilizadas para as análises de coliformes e de BAL.

### 2.1.2 Contagem Coliformes Totais

Para determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais, de cada diluição ( $10E-1$  a  $10E-3$ ) do alimento em estudo, foram retiradas três porções de 1mL cada e inoculadas em três tubos contendo 9 mL do Caldo LST (Lauril Sulfato Triptose) e, um tubo de Durham invertido. Obtendo-se três tubos de cada amostra (A, B e C). Foram incubados em estufa a  $35 - 37^{\circ}C$ , por 48 horas. A prova foi considerada positiva somente quando se verificava turvação do meio e produção de gás nos tubos de Durham e, a determinação quantitativa foi realizada de acordo com a técnica de NMP, segundo a Instrução Normativa Nº 62 do Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento-MAPA (BRASIL, 2003). Realizou-se também o inóculo de cada uma das diluições ( $10E-1$  a  $10E-3$ ) em meio EMB (Eosin Metheylene Blue) para a contagem total de Enterobactérias. As placas foram incubadas a  $35 - 37^{\circ}C$ , por até 48 horas.

### 2.1.2 Contagem Bactérias Lácticas

A mesma metodologia foi usada para a análise de bactérias lácticas viáveis. Retirou-se 1 mL das diluições, colocando-as em placas previamente marcadas com o número da diluição. Esterilizou-se a alça de vidro no álcool 70% e, flambou-a no bico de Bunsen. Esfriou-se a alça e em seguida espalhou-se a amostra da primeira diluição ( $10E-1$ ) por toda a placa contendo o meio MRS, sendo usadas cinco diluições de cada amostra, em duplicatas, totalizando 30 placas. Após o término dos inóculos, as placas foram levadas a incubadora a uma temperatura de  $35 - 37^{\circ}C$ , por um período de 48 horas.

A metodologia de contagem utilizada, após a contagem das colônias e os cálculos feitos para a UFC/mL, foram comparados com a quantidade de colônias determinadas como satisfatórias segundo Franco e Landgraf (2001), sendo esta entre  $10E6$  UFC e  $10E8$  UFC viáveis. Verificando assim, se o

leite fermentado está de acordo com o recomendado em termos de BAL viáveis.

## 2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.2.1 Contagem Coliformes Totais

Na tabela 1, estão os dados coletados através dos procedimentos realizados com o Caldo LST e Ágar EMB, para análise de Coliformes totais e o total de Enterobactérias, NMP/mL e UFC/g, respectivamente.

Os dados obtidos em relação aos microrganismos analisados, foram apropriados para o material avaliado. Sendo que nenhuma das amostras (A, B e C), apresentaram NMP/mL ou UFC/g, mostrando assim que não há contaminação relacionada aos grupos evidenciados. Sendo um indicativo de boas condições durante o processo de elaboração. Para esses grupos as amostras estiveram dentro dos padrões legais vigentes, ou seja adequadas ao consumo (BRASIL, 2001).

### 2.2.2 Contagem Bactérias Lácticas

De acordo com o levantamento realizado, foram encontradas em todas as amostras de leite fermentado Unidades Formadoras de Colônias. Na Tabela 2, está representado o resultado para contagem total de bactérias lácticas, de cada uma das amostras do produto analisado.

A partir das análises comparativas dos produtos encontrados à venda, constatou-se que das três marcas, apenas a marca C esta dentro dos padrões de contagem estabelecido pela Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Para que um alimento seja considerado probiótico, a contagem de bactérias lácticas no produto final deve ser de  $10E6$  UFC/ml (BRASIL, 2001 apud GATTI; GELINSKI; BARATTO, 2013).

Sendo assim, comparando as marcas, a marca C se sobressai por se enquadrar nos padrões legais vigentes. A marca B e C, não se enquadram nestes padrões, porém a B possui algumas UFC de bactérias láticas a mais. Logo, esta é mais benéfica que a outra. Podemos então exemplificar a qualidade sendo como  $C > B > A$ .

### 3 CONCLUSÃO

Os resultados experimentais deste trabalho demonstram a ausência, em 100% das amostras, de Coliformes totais, indicando condições higiênic-sanitárias satisfatórias. Portanto, estão de acordo com os padrões legais vigentes, sendo classificadas como produtos próprios para o consumo.

Em relação às bactérias láticas, apenas uma marca (C), apresentou resultados satisfatórios, enquadrando-se à quantidade adequada (entre  $10E6$  e  $10E8$  UFC/mL), demonstrando assim, que as demais (A e B), não possuem por completo os benefícios que um probiótico deveria apresentar em termos de bactérias láticas viáveis no produto. Contudo, foram realizadas neste artigo somente análises indicativas, as quais são válidas apenas para as amostras analisadas de cada produto.

### REFERÊNCIAS

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o "Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos sobre alimentos". Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC\\_12\\_2001.pdf/15fdd6-3767-4527-bfac-740a0400829b](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15fdd6-3767-4527-bfac-740a0400829b)>. Acesso em: 10 abr. 2017.

COSTA, Marion Pereira da, et al. Leite fermentado: Potencial alimento funcional. Enciclopédia Biosfera, v. 9, 2013.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos alimentos. 1 ed. São Paulo: ATHENEU, 2001. 192p.

GALLINA, D. A., et al. Caracterização de leites fermentados com e sem adição de probióticos e prebióticos e avaliação da viabilidade de bactérias lácticas e probióticas durante a vida-de-prateleira. *Journal of Health Sciences*, v. 13, n. 4, 2011.

GATTI, D. J.; GELINSKI, J.; BARATTO, C. Leites fermentados na promoção da saúde humana. In: GELINSKI, J.; BARATTO, C. (Org.) *Temas especiais em Ciência e Biotecnologia*. Joaçaba. Editora UNOESC, p. 91-104, 2013.

SILVA, M. P.; CAVALLI, D. R.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos. *Ciênc Tecnol Aliment*, v. 26, n. 2, p. 352-9, 2006.

ZACARCHENCO, P. B., et al. Inibição de *Escherichia coli* por bactérias lácticas e probióticas em leite fermentado com fibras de aveia aromatizado. *Caderno Fazer Melhor – Jan/Fev*, p. 65-68, 2008.

Sobre o(s) autor(es)

\* Acadêmicos do Curso de Bacharelado em Biotecnologia Industrial

\*\* Professora orientadora – Componente curricular Microbiologia II - Unoesc Videira - SC

E-mails: camila.carpenedo@hotmail.com

jessicafdaluz@outlook.com

thaly\_laube@hotmail.com

Tabela 1 - Média de Coliformes Totais e Enterobactérias em amostras de leite fermentado em Caldo LST e Ágar EMB

Amostras	Coliformes Totais (NMP/g)	Contagem total de Enterobactérias (UFC/g)
A	< 3,0	< 10 Est.
B	< 3,0	< 10 Est.
C	< 3,0	< 10 Est.

LST: Lauril Sulfato Triptose

EMB: Eosin Methylene Blue

NMP: Número mais provável

Est.: Estimado

Fonte: Os autores (2017)

Tabela 2 - Média de UFC/mL de bactérias lácticas em amostras de leite fermentado inoculadas em Ágar MRS

Amostras	UFC/mL viáveis	Valor de UFC/mL mínima desejável
A	3,5 x 10E5	10E6
B	4,7 x 10E5	10E6
C	2,21 x 10E7	10E6

UFC: Unidade Formadora de Colônia

MRS: De Man, Rogosa and Sharpe

Fonte: Os autores (2017)

Fonte:

Fonte:



Fonte:



Fonte: