

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM MICROBIOLOGIA

**Efeitos benéficos de micro-organismos envolvidos na
produção de leite fermentado**

Henrique Lages Barsand de Leucas

BELO HORIZONTE

2012

Henrique Lages Barsand de Leucas

**Efeitos benéficos de micro-organismos envolvidos na
produção de leite fermentado**

Monografia apresentada ao Departamento
de Microbiologia da Universidade Federal de
Minas Gerais, como requisito parcial para
obtenção do título de Especialista
em Microbiologia aplicada às Ciências
ambientais e industriais.

Orientador: Prof. Flaviano dos Santos Martins

Belo Horizonte

2012

Agradecimentos

À minha mãe, Sinara, e ao meu pai, Luiz, pelo apoio e dedicação.

À minha irmã, Paula, pelo companheirismo.

À Tamara, pelo carinho, amor e bons conselhos.

A todos os meus familiares, por sempre acreditarem em mim.

Ao professor Flaviano, pela oportunidade de realização deste trabalho, orientação e paciência.

Aos amigos e professores do curso de Especialização em Microbiologia, pelos momentos de boa convivência.

Aos meus grandes amigos, pela força e compreensão nos momentos difíceis.

“O único lugar onde o sucesso vêm antes do trabalho é no dicionário.”

Albert Einstein

SUMÁRIO

RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	2
LISTA DE FIGURAS.....	3
LISTA DE TABELAS.....	4
LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS.....	5
1. INTRODUÇÃO.....	6
1.1 Origem do leite fermentado.....	6
1.2 Bactérias Produtoras de Ácido Lático com ênfase em <i>Lactobacillus</i> e <i>Streptococcus</i>	7
1.3 Probióticos.....	9
1.4 Produtos Lácteos Fermentados.....	12
2. OBJETIVOS.....	16
3. JUSTIFICATIVA.....	17
4. METODOLOGIA.....	19
5. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
5.1 Produção do leite fermentado.....	20
5.1.1 Quantidade de micro-organismos na utilização como probiótico.....	20
5.1.2 Culturas “starters”.....	21
5.1.3 Produção do logurte.....	21
5.1.4 Relação entre <i>L. bulgaricus</i> e <i>S. thermophilus</i> no iogurte.....	25
5.1.5 Leite Acidófilo.....	27
5.1.5.1 Yakult.....	27
5.2. Benefícios dos probióticos à base de BAL.....	28

5.2.1 Benefícios para o produto.....	28
5.2.2 Benefícios para o consumidor.....	28
5.3 Ensaio clínico.....	31
5.4 Mecanismos de ação dos probióticos.....	34
6. CONCLUSÃO.....	36
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37

RESUMO

Probióticos são definidos como micro-organismos vivos que quando ingeridos em quantidades suficientes conferem um benefício à saúde do hospedeiro. Tais micro-organismos são utilizados em preparações de produtos fermentados e, alguns, vendidos como produtos farmacêuticos. O leite fermentado é um desses produtos, e utiliza as bactérias ácido lácticas durante sua elaboração. Essas bactérias são em sua maioria anaeróbias facultativas, mesofílicas e durante seu processo de fermentação ocorre a produção de ácido láctico, como produto principal, e a produção de pequenas quantidades de outros subprodutos. Dentre as principais bactérias do ácido láctico, estão os gêneros *Lactobacillus* e *Streptococcus*. A ingestão de leite fermentado traz vários benefícios ao consumidor. No presente trabalho, foi realizado um estudo sobre o atual conhecimento científico em relação a esses benefícios causados pelos probióticos, em especial pelo leite fermentado. Foi revisado os principais mecanismos de ação dos probióticos e o processo de produção do iogurte, que é considerado o leite fermentado de maior importância econômica. No entanto, novas pesquisas ainda serão desenvolvidas e novos conhecimentos acerca da utilização desses probióticos ainda serão descobertos. Apesar da carência de ensaios clínicos controlados utilizando produtos fermentados, a utilização de produtos, como o leite fermentado, traz vantagens para quem o ingere regularmente.

Palavras-chave: probióticos, leite fermentado, bactérias ácido lácticas

ABSTRACT

Probiotics are defined as live microorganisms which when administered in adequate amounts confer a health benefit on the host. Such microorganisms are used in the preparation of fermented products and, some of them, as pharmaceutical products. One of these products is fermented milk, which uses lactic acid bacteria during its elaboration. These bacteria are mostly facultative anaerobic, mesophilic, and during its fermentation process there is the production of lactic acid, as a main product, and the production of small quantities of other sub-products. *Lactobacillus* and *Streptococcus* are among lactic acid's main bacteria. The ingestion of fermented milk has many benefits to the consumer. In this work a study about current scientific knowledge related to the benefits attributed to probiotics, specially fermented milk, was made. The probiotics action mechanisms and the production process of yogurt, considered the most economically important fermented milk, were revised. However, new researches are still on going and new knowledge about the use of these probiotics is still to be discovered. Despite the lack of clinical assays using fermented foods, the use of fermented milk products brings benefits for who ingests it regularly.

Key-words: probiotics, fermented milk, lactic acid bacteria

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Curva de desenvolvimento simbiótico da cultura láctica durante a fermentação do iogurte (F = fator de multiplicação do micro-organismo).....	26
---	-----------

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Nome pelo qual o iogurte é conhecido em diversos países.....	13
Tabela 2 - Produtos produzidos a partir de leite fermentado e seus respectivos 5 micro-organismos envolvidos.....	14
Tabela 3 -Alguns produtos alimentícios contendo bactérias probióticas comercializados no Brasil.....	15

LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS

BAL- Bactérias ácido lácticas

FAO/WHO = Food and Agricultural Organization / World Health Organization

5 HDL = lipoproteínas de alta densidade

LDL = lipoproteínas de baixa densidade

°C = graus Celsius

pH = potencial hidrogeniônico

slgA = imunoglobulina A secretória

10 UFC = unidades formadoras de colônia

UHT = Ultra High Temperature

1. INTRODUÇÃO

1.1 Origem do leite fermentado

5 O leite fermentado é um produto largamente produzido em vários países. Este tipo de processo é um dos mais antigos métodos e começou a ser praticado pelo ser humano a mais de dez mil anos atrás. Nesta época houve uma mudança no comportamento do ser humano; ocorria a transição da busca por comida para a produção do próprio alimento. Esta transformação foi acompanhada da
10 domesticação de animais, principalmente mamíferos para o próprio consumo (TAMIME, 2002). O leite destes animais era estocado em recipientes de cerâmica, a temperaturas elevadas (em torno de 43°C), resultando em um tipo menos refinado daquilo que hoje se conhece como iogurte (FERREIRA, 2001).

Outra versão também discutida da origem do leite fermentado é de que no
15 passado, nômades carregavam pelo deserto leite acondicionado em estômagos de bezerros que, em contato com o corpo dos camelos, encontravam condições ideais de incubação e se transformaram em uma massa semi-sólida, pela ação das bactérias do ácido láctico. Desde então, por tentativas e erros, variando as condições de temperatura e tempo de incubação, foram produzidos diversos tipos de leites
20 fermentados por todo o mundo (FERREIRA, 2001).

No início do século XX, a teoria de Elie Metchnikoff (1845 – 1916), denominada Teoria da Longevidade, atribuiu ao iogurte vários efeitos benéficos à saúde humana. Para Metchnikoff, a longevidade dos povos dos Bálcãs era resultado de uma dieta rica em coalhada, contendo um lactobacilo que por muito tempo foi
25 considerado como *Lactobacillus bulgaricus*. Posteriormente, verificou-se que o

Lactobacillus acidophilus deveria ser o micro-organismo contido em tais produtos, pela afinidade deste com o trato intestinal humano. Embora esta teoria tenha exagerado no valor do iogurte, ela influenciou de forma significativa na difusão desse produto em vários países da Europa (ROBERT, 2008).

5 A fermentação é um método de preservação largamente utilizado desde os primórdios da civilização, pela ausência de métodos de refrigeração ou pasteurização. Historicamente, o processo de fermentação envolvia a coagulação do leite por micro-organismos presentes no meio, obtendo-se um produto final com características e propriedades físico-químicas diferentes da matéria prima (FARIA *et*
10 *al.*, 2006).

No final do século XIX, os micro-organismos utilizados para produção de alimentos foram cultivados em culturas puras pela primeira vez. Esse desenvolvimento rápido levou a uma melhor compreensão das relações entre os micro-organismos específicos e seus produtos e atividades. Esse período pode ser
15 considerado o início da microbiologia de alimentos industriais (TORTORA *et al.*, 2005).

Atualmente o leite fermentado é uma manufatura de vários países, onde seus estágios de produção continuam complexos, na combinação das tradições da antiguidade com a ciência moderna (TAMIME, 2002).

20

1.2 Bactérias Produtoras de Ácido Lático com ênfase em *Lactobacillus* e *Streptococcus*

As bactérias (do latim, bactéria, singular: *bacterium*) são organismos simples,
25 unicelulares e procariotos. Seu material genético não está envolvido por uma

membrana nuclear especial. As células bacterianas geralmente aparecem em vários formatos e podem se agrupar individualmente ou em arranjos de duas ou mais células. Suas células são envolvidas por uma parede celular que é praticamente composta por um complexo de carboidrato e proteína denominado peptidoglicano.

- 5 Geralmente se reproduzem por fissão binária, onde são geradas duas células idênticas, e podem, ou não, produzir seu próprio alimento (TORTORA *et al.*, 2005).

As bactérias do ácido lático são em sua maioria anaeróbias facultativas, podem crescer em presença de oxigênio, mas se desenvolvem melhor em meio com baixa tensão de oxigênio. São basicamente sacarolíticas e mesofílicas. Produzem

10 grandes quantidades de ácido lático: a grande quantidade de açúcar utilizado na produção de energia resulta em um acúmulo de ácido lático e outros subprodutos. Dividem-se em homofermentativas e heterofermentativas. As bactérias homofermentativas (realizam fermentação homolática) produzem, quase que exclusivamente ácido lático quando desdobram a glicose, enquanto as

15 heterofermentativas (realizam fermentação heterolática) produzem além de ácido lático, outros compostos como dióxido de carbono, ácido acético, em quantidades apreciáveis. Para seu crescimento, precisam ser supridas de grande quantidade de nutrientes (FERREIRA, 2001).

Durante o processo de fermentação ocorre a produção de ácido lático, como

20 produto principal, e a produção de pequenas quantidades de outros subprodutos. O acetaldeído é produzido em maiores quantidades seguido por acetona, 2 - butanona, diacetil e acetoína (SILVA, 2007).

As principais bactérias do ácido lático utilizadas como probióticos incluem os lactobacilos (*Lactobacillus lactis*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *L.*

25 *fermentum*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. jensenii*, *L. reuteri*,

L. johnsonii, *L. helveticus*, *L. gasserii*), *Enterococcus faecium* SF68 e *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus salivarius* e *Streptococcus thermophilus*, *Pediococcus acidilactici* e espécies de *Leuconostoc* e *Lactococcus* (MARTINS, 2008). Os principais gêneros utilizados na produção de leites fermentados são o *Lactobacillus* e o *Streptococcus*.

O gênero *Lactobacillus* é representativo dos bastonetes Gram-positivo, produtores de ácido láctico, e são importantes para a indústria. São bactérias aerotolerantes e produzem ácido láctico a partir de carboidratos simples. Os lactobacilos são usados comercialmente na produção de produtos alimentícios como o leite fermentado e o iogurte (TORTORA *et al.*, 2005). A habilidade de colonizar uma grande variedade de habitats é uma consequência direta da diversidade metabólica deste grupo (GIRAFFA, 2010).

O gênero *Streptococcus* são cocos Gram-positivo esféricos, que tipicamente ocorrem em cadeias. O gênero *Streptococcus* possui as mesmas características metabólicas que o gênero *Lactobacillus* (TORTORA *et al.*, 2005).

Muitas das bactérias ácido lácticas, presentes no leite fermentado, possuem propriedades probióticas e, são, portanto, benéficas para seus consumidores.

1.3 Probióticos

20

Em 2002, a FAO/WHO (“Food and Agricultural Organization / World Health Organization”) propôs como definição para probiótico “um micro-organismo vivo que, quando ingerido em quantidades suficientes, confere benefícios à saúde do hospedeiro”.

Schrezenmeir e Vrese (2001) propuseram a seguinte definição para probióticos: “Uma preparação ou um produto contendo micro-organismos definidos e viáveis em número suficiente, que alteram a microbiota (por implantação ou colonização), em um compartimento do hospedeiro e que exercem efeitos benéficos à saúde deste hospedeiro”.

De acordo com Ferreira (2008), há duas expressões a serem consideradas: micro-organismo probiótico e micro-organismo de efeito probiótico. O primeiro é aquele isolado originalmente do trato intestinal da espécie que irá consumi-lo. O segundo é aquele que traz um benefício para o hospedeiro ao ser ingerido, porém não pertence à microbiota intestinal da espécie consumidora. Um exemplo desse último caso é a levedura *Saccharomyces boulardii* (MARTINS *et al.*, 2010).

Além dos probióticos, também são estudados os prebióticos e os simbióticos. Os prebióticos são ingredientes alimentares não digeríveis pelas células humanas, que promovem a saúde do hospedeiro ao estimular a multiplicação ou a ação de uma espécie bacteriana - ou um grupo delas - benéfica no trato digestivo (MARTINS, 2008). Já os simbióticos são combinações de probióticos e prebióticos (NICOLI & VIEIRA, 2000).

O critério de seleção e avaliação dos micro-organismos probióticos foi resultado das pesquisas institucionais e de universidades com as indústrias de alimentos. As linhagens de bactérias para se classificarem como probióticas devem apresentar as seguintes propriedades (SILVA, 2007):

- Possuir identificação taxonômica exata;
- Ser um habitante normal das espécies alvo: origem humana para probióticos humanos;
- Não ser tóxica e patogênica;

- Ser geneticamente estável;
 - Possuir capacidade de sobreviver, proliferar e estimular a atividade metabólica no trato gastrointestinal;
 - Possuir características de aderência e colonização;
- 5
- Características desejáveis de viabilidade durante preparação, estocagem e consumo da cultura;
 - Viabilidade populacional elevada, apresentando em torno de 10^6 – 10^8 UFC por grama de produto;
 - Produção de substâncias antimicrobianas, incluindo bacteriocinas, peróxido de
- 10
- hidrogênio e ácidos orgânicos;
 - Antagonista a patógenos;
 - Capacidade de competir com a microbiota normal, ou espécie específica, ser potencialmente resistente a bacteriocinas, ácidos e outras substâncias antimicrobianas produzidas pela microbiota residente;
- 15
- Resistência ao suco gástrico e à bile;
 - Propriedade imunoestimulatória;
 - Capaz de exercer efeitos benéficos à saúde (documentados e validados clinicamente);
 - Favorável ao processo de produção: crescimento adequado, recuperação,
- 20
- concentração, congelamento, desidratação, estocagem e distribuição;
 - Fornecer qualidades organolépticas desejáveis.

Desde uma perspectiva científica, a descrição adequada de um produto probiótico, conforme informado na etiqueta deve incluir:

- Identificação de gênero e espécie com nomenclatura consistente, com os nomes
- 25
- científicos reconhecidos atualmente;

- Identificação da linhagem;
 - Contagem de micro-organismos viáveis de cada linhagem no fim da vida útil do produto;
 - Condições de armazenamento recomendadas;
 - 5 · Segurança nas condições de uso recomendadas;
 - Dose recomendada, que deve ser baseada na indução do efeito fisiológico declarado;
 - Uma descrição exata do efeito fisiológico;
 - Informação de contato para vigilância pós-comercialização.
- 10 (GUARNER *et al.*, 2011).

1.4 Produtos Lácteos Fermentados

O consumo de misturas contendo micro-organismos vivos na forma de
15 alimentos fermentados está associado há anos com efeitos benéficos na saúde e
longevidade humanas (PERITI & TONELLI, 2002).

Inicialmente, o consumo de iogurte foi bastante limitado, restringindo-se
apenas a certos grupos étnicos. Em meados de 1960, a adição de frutas ao produto
com o objetivo de atenuar o seu sabor ácido buscava uma maior aceitação popular
20 e, ao mesmo tempo, uma maior divulgação era dada às suas qualidades nutritivas e
terapêuticas, levando a um considerável aumento no seu consumo (MOREIRA *et al.*, 1999).

O consumo regular de alimentos fermentados como o iogurte é
reconhecidamente benéfico para a manutenção da boa saúde. Esse efeito é
25 atribuído, em parte, às bactérias ácido-láticas *Streptococcus salivarius* ssp.

termophilus e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* utilizadas na elaboração do produto (ALVES *et al.*, 2009). As ações dos micro-organismos envolvidos no processo fermentativo do leite mostraram sua atuação benéfica no iogurte (MAZOCHI *et al.*, 2010).

- 5 A seguir podemos observar uma tabela como o nome pelo qual o iogurte é conhecido em algumas regiões mostrando as diversidades de culturas que utilizam deste produto como parte de sua dieta (Tabela 1).

Tabela 1 – Nome pelo qual o iogurte é conhecido em diversos países.

Nome	Região ou País
“Leben”	Egito
“Gioddu”	Arábia
“Gioddu”	Itália
“Matzoom”	Armênia
“Dahi”	Índia
“Yaourt”, “yoghourt”	França
“Yoghurt”, “yogurt”	EUA
“Iogurte”, “Yogurt”	Brasil

10 Fonte: FERREIRA, 2001

- O leite acidófilo é produzido pela fermentação do leite inoculado com linhagens selecionadas de *L. acidophilus*. Devido ao seu sabor ácido forte, o leite acidófilo tem seu consumo bastante limitado, e seu consumo está quase sempre
- 15 ligado às características terapêuticas (FERREIRA, 2001).

No Yakult® o micro-organismo envolvido é o *Lactobacillus casei* linhagem Shirota. Foi isolado do intestino humano de pessoas saudáveis, possui ação antagônica sobre grande número de bactérias patogênicas e repõe a “flora” intestinal de pacientes que fizeram uso prolongado de antibiótico (FERREIRA, 2001).

- 5 Outros produtos também produzidos a partir de leites fermentados são: Buttermilk fermentado (leitelho), Kefir, Koumiss, Taette, Viili, Progurt, Leben, Biogurt Aco logurte e Sour Cream (Tabela 2).

10 **Tabela 2** – Produtos produzidos a partir de leite fermentado e seus respectivos micro-organismos envolvidos.

PRODUTOS	MICRO-ORGANISMOS PRESENTES
Buttermilk fermentado	<i>Lactococcus lactis</i> , subsp. <i>lactis/cremosis</i> e <i>Leuconostoc</i> ou <i>Lactococcus lactis</i> , subsp. <i>lactis</i> biovar.
Kefir	<i>Saccharomyces Kefir</i> , <i>Torula Kefir</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Lactobacillus caucasicus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Leuconostoc ssp.</i> e <i>Hennenbergs kefir bacillus</i> .
Koumiss	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> e <i>Torula kumys</i>
Taette	<i>Streptococcus taette</i> , <i>Lactobacillus taette</i> , <i>Saccharomyces taette</i> e <i>Torula ssp.</i>
Viili	<i>Lactococcus ssp.</i>
Progurt	<i>Lactococcus lactis</i> , subsp. <i>cremosis</i> e <i>Lactococcus lactis</i> , subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>
Biogurt	<i>Lactococcus lactis</i> , subsp. <i>lactis</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Bifidobacterium bifidus</i> .
Aco logurte	<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> e <i>Lactobacillus acidophilus</i>
Sour Cream	<i>Lactococcus lactis</i> , subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>

Adaptado de FERREIRA, 2001

Na tabela 3 podemos observar o nome comercial de alguns produtos com suas respectivas bactérias probióticas.

Tabela 3 – Alguns produtos alimentícios contendo bactérias probióticas comercializados no Brasil.

Categoria do produto	Produto	Produtor	Probióticos
Leite Fermentado	Yakult	Yakult	<i>L. casei</i> linhagem Shirota
	Vigor Club-Poke-mons	Vigor	<i>L. casei</i> <i>L. acidophilus</i>
	Chamyto	Nestlé	<i>L. johnsonii</i> <i>L. helveticus</i>
	Leite Fermentado Parmalat	Parmalat	<i>L. casei</i> <i>B. lactis</i> <i>L. acidophilus</i>
	Actimel	Danone	<i>L. casei</i> Imunitass
Leite Fermentado Aromatizado	LC1 Active (sabor laranja)	Nestlé	<i>S. termophilus</i> <i>L. bulgaricus</i> <i>L. acidophilus</i> NCC 208
	Batavito	Batavo	<i>L. casei</i>
Iogurte	Dietalact	Parmalat	<i>B. lactis</i> <i>L. acidophilus</i>
	Iogurte Biofibras	Batavo	<i>B. lactis</i> <i>L. acidophilus</i>
	Activia	Danone	<i>B. animalis</i> DN173010

Fonte: Adaptado de OLIVEIRA *et al.*, 2002.

2. OBJETIVOS

Objetivo geral

- 5 Revisar o processo de produção de produtos lácteos fermentados, além de demonstrar os benefícios trazidos com a adição dos micro-organismos para os produtos industrializados e para os consumidores.

Objetivos específicos

10

Entender a vantagem de se utilizar um micro-organismo fermentador na produção de um alimento industrializado.

Estabelecer relações entre os micro-organismos e os substratos onde são adicionados.

15

Definir as relações entre a ingestão desses micro-organismos e a saúde do consumidor.

Relacionar a utilização desses micro-organismos nos produtos lácteos fermentados e as vantagens proporcionadas para sua conservação.

3. JUSTIFICATIVA

A qualidade dos produtos alimentícios e a sua influência sobre a nutrição e a saúde humana vêm merecendo lugar de destaque nos meios científicos. Essa preocupação se deve ao grande número de produtos alimentícios existentes e a uma tendência atual de se ingerir produtos naturais (MOREIRA *et al.*, 1999). No Brasil, o interesse por produtos lácteos fermentados tem aumentado, e alguns iogurtes suplementados com bactérias probióticas têm sido desenvolvidos (MAZOCHI *et al.*, 2010).

O iogurte é um derivado do leite que apresenta uma das melhores margens de rentabilidade para o fabricante de produtos lácteos, devido ao fato de não passar por nenhum processo de concentração, ou seja, começa com um volume de matéria prima e termina com o mesmo volume ou até um pouco mais, já que alguns ingredientes como polpas de frutas são acrescentados. Seu mercado, em suas diversas categorias, vem demonstrando grande potencial de crescimento nos últimos anos (SILVA, 2007).

Atualmente, devido aos avanços nas diversas áreas industriais, há um crescente aumento da necessidade de profissionais especializados nestas áreas de atuação com a possibilidade de futuras novas pesquisas na área abordada. Grande parte dos produtos lácteos fermentados é de interesse econômico e industrial, tornando uma grande fonte de pesquisas e estudos. Com o avanço das pesquisas nesta área, frequentemente haverá descobertas proporcionando a otimização do processo de produção. Desta forma, a afirmação de que os leites fermentados ao serem ingeridos possuem efeito benéfico para seus consumidores necessita de

pesquisas e avaliações para serem realmente comprovados sua eficiência e introduzido no mercado consumidor.

4. METODOLOGIA

A metodologia utilizada neste trabalho foi a pesquisa por meio de leituras exploratórias, seletivas e analíticas de artigos encontrados em fontes de busca como Pubmed e Scielo, utilizando “probiotic”, “fermented milk” e “yogurt” como palavras-chave, além de revistas, livros, teses e outras fontes relacionadas ao tema.

5. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

5.1 Produção do leite fermentado

5.1.1 Quantidade de micro-organismos na utilização como probiótico

5 **5.1.1 Quantidade de micro-organismos na utilização como probiótico**

Para que um micro-organismo utilizado como probiótico exerça o seu efeito benéfico, além de permanecer viável durante sua passagem pelo sistema gastrointestinal, o seu nível populacional deve ser igual ou superior a 10 milhões de células por grama de conteúdo fecal (NICOLI & VIEIRA, 2000). Portanto, ele deve ser ingerido diariamente, para manter seus níveis artificialmente elevados no ecossistema digestivo.

10 Embora não sejam mencionadas dosagens específicas para ingestão de probióticos, considera-se que, pelo menos, 10^9 unidades formadoras de colônias (UFCs)/dia de micro-organismos devam ser ingeridos para chegar ao intestino em níveis iguais aos da microbiota dominante (OUWEHAND *et al.*, 2002).

15 Apesar da controvérsia, em geral o micro-organismo empregado necessita de condições de ser reativado, para que possa exercer seus possíveis efeitos benéficos (MARTINS, 2008). Esta exigência reduz o número de micro-organismos que podem atuar como medicamento, já que o intestino humano apresenta uma microbiota extremamente competitiva, que funciona como uma barreira física e química, conhecida como “barreira intestinal”, possuindo mecanismos poderosos de combate a micro-organismos não autóctones (SAAVEDRA, 1995).

5.1.2 Culturas “starters”

Culturas “starters” são culturas de micro-organismos saprófitas, ativos, que crescem em leite ou soro. Pode ser uma cultura simples, contendo apenas uma
5 linhagem de uma espécie de bactéria, ou pode reunir várias linhagens, sendo chamada, assim, de cultura mista ou múltipla.

As culturas “starters” têm como função incorporar um número substancial de organismos no material “starting”, de modo que estes micro-organismos possam crescer e produzir as modificações esperadas. Outra função das culturas é
10 sobrepujar o crescimento de qualquer agente contaminante que pudesse estar presente no substrato que está sendo usado para fermentação (FERREIRA, 2001).

Pode-se controlar a quantidade de “starters”, menor ou maior concentração, de modo a controlar o tempo gasto na elaboração de um produto (FERREIRA, 2001).

15

5.1.3 Produção do iogurte

A elaboração do iogurte é uma técnica que se expande cada vez mais no mundo inteiro, de preparo originalmente simples e que atualmente vem se
20 transformando em um processo bastante sofisticado. Entretanto, com a rápida incorporação deste produto aos hábitos alimentares, a competição industrial desencadeou a busca de novos processos que possibilitem a redução dos custos de fabricação sem prejuízo da qualidade do produto (MOREIRA, 1999).

Embora existam controvérsias sobre uma definição exata de iogurte, em
25 termos de sua composição química e tipos de organismos “starters”, ele será

definido como produto que resulta da fermentação do leite por culturas “starters” que contenham somente o *S. thermophilus* e o *L. bulgaricus*. No entanto, isso não impede que o produto possa ser veículo de outras bactérias, como o *L. acidophilus*, adicionado após a elaboração do produto, durante seu resfriamento (FERREIRA, 5 2001). A cultura de *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* também pode originar um iogurte de excelente qualidade (SILVA, 2007). Outra cultura também bastante utilizada é a de *Bifidobacterium* na produção de iogurtes como o Activia®, adicionados após sua preparação. Apesar de ser utilizado em iogurtes principalmente, o *Bifidobacterium B. bifidum*, *B. longum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. animalis*, *B. adolescentis*) não é 10 considerado uma bactéria do ácido láctico, pois apesar de produzir ácido láctico, este não é produzido como principal sub produto (proporções diferentes), utilizando diferentes vias metabólicas (TORTORA *et al.*, 2005). Portanto é considerado apenas como um probiótico.

Para que ocorra a produção do iogurte, a precipitação das proteínas deve 15 ocorrer sem a eliminação do soro. Caso contrário, será produzido queijo ao invés de iogurte (FERREIRA, 2001).

As etapas do processo de produção de iogurte, de maneira geral, são as seguintes: Preparo da matéria prima, Adição de substâncias (açúcar, caseinato de cálcio, insulina), Pasteurização, Resfriamento, Inoculação da cultura “starter”, 20 Incubação, Refrigeração, Homogeneização, Quebra do gel, Adição de substâncias (base de frutas, aroma, corante), Envase (embalagem), Conservação e Armazenamento (FERREIRA, 2001).

Para o preparo da matéria prima, o leite utilizado na fabricação de iogurte deve apresentar boa qualidade, ser higienicamente produzido e manipulado, de 25 composição físico-química normal, isento de antibióticos e preservativos e não deve

ser utilizado congelado, a fim de evitar defeitos na textura do produto (ROBERT, 2008).

5 A pasteurização (aquecimento) tem como objetivo destruir os micro-organismos patogênicos e outros que possam competir com as culturas do iogurte, além de promover a desnaturação das proteínas do soro, o que reduz a contração do coágulo da caseína do iogurte. O tratamento térmico estimula o início do crescimento da cultura láctica por redução do conteúdo de oxigênio do leite. Além disso, a pasteurização influi sobre o aumento da viscosidade do iogurte e na obtenção de uma boa textura (SILVA, 2007).

10 Após o leite ser resfriado, adiciona-se fermento láctico preparado previamente, para ativação das culturas. A cultura “starter” deve ser homogeneizada, de forma que todos os grumos sejam quebrados. Após a adição de culturas no leite, o conjunto deve ser novamente homogeneizado. A cultura láctica deve ser adicionada somente em leite previamente esterilizado (ROBERT, 2008).

15 Os métodos de produção de iogurte basicamente se restringem à maneira de incubação. De acordo com a textura, o iogurte pode ser classificado como iogurte de massa firme, de massa batida e de textura líquida, conhecidos respectivamente como iogurte tradicional, batido e líquido (FERREIRA, 2001). O iogurte tradicional adquire consistência de pudim, devido ao fato do processo da fermentação ocorrer dentro da própria embalagem, não sofrendo homogeneização e o resultado é um produto firme, mais ou menos consistente. O iogurte batido, por sua vez, resulta em um produto com textura menos firme que o anterior, pelo fato do processo de fermentação ocorrer em fermentadeiras ou incubadoras com posterior quebra do coágulo. O iogurte líquido é produzido no processo de fermentação que é realizado

20

em tanques, sendo comercializado em embalagens plásticas tipo garrafa ou do tipo cartonadas (SILVA, 2007).

O resfriamento é uma etapa crítica na produção de iogurte e é realizado logo após o produto ter atingido o grau de acidez desejado na fermentação. Como a
5 elaboração do iogurte é um processo biológico, torna-se necessário o uso da refrigeração para reduzir a atividade metabólica da cultura, controlando, deste modo, a acidez do iogurte (ROBERT, 2008).

O processo de quebra do gel modifica a estrutura coloidal da massa, liberando soro que deverá ser completamente redistribuído de maneira uniforme.
10 Este é o momento ideal para adição de frutas, aromatizantes e corantes. O produto final deverá ter uma aparência lisa, sem grumos, e a quebra da massa a frio permite que as micelas de caseína reabsorvam o soro (ROBERT, 2008).

A embalagem deve seguir alguns critérios como: ser impermeável aos sabores, corantes, odores do ambiente, oxigênio e contaminações externas; resistir
15 a acidez do iogurte, a umidade, golpes mecânicos a que o produto é sujeito durante o transporte e armazenamento, e não permitir exposição do produto à luz (SILVA, 2007).

O pós processamento do iogurte poderá também levar a outros tipos de iogurte, como o pasteurizado, o concentrado, o congelado e o desidratado. O
20 primeiro é submetido ao tratamento UHT (Ultra High Temperature) e há eliminação das bactérias “starters”. Existe uma polêmica em torno de tal produto receber o nome de iogurte, uma vez que a presença de bactéria viva no momento do consumo é uma das condições básicas na especificação do produto. No caso de outros tipos de iogurte, concentrado, congelado e desidratado, como os nomes indicam, o
25 produto é submetido aos processos de concentração, congelamento e desidratação

respectivamente, resultando produtos com propriedades diferentes (FERREIRA, 2001).

5.1.4 Relação entre *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* no iogurte

5

Logo após a inoculação, o *S. thermophilus* cresce primeiro e tem a capacidade de clivar a lactose a pH mais neutro. Com o seu crescimento, o ácido láctico é acumulado no meio, abaixando parcialmente o pH e lançando ao meio algumas substâncias aminadas originadas da proteína do soro, que vão estimular o desenvolvimento do *L. bulgaricus*. Este, por sua vez, passa a crescer, abaixa ainda mais o pH e lança no meio aminoácidos que estimulam o crescimento do *S. thermophilus*. Até aí, tem-se uma simbiose. Com o passar do tempo, cada vez mais ácido láctico é acumulado no meio. O pH chega a um certo ponto que passa a inibir o *S. thermophilus*. O *L. bulgaricus*, por ser mais resistente a acidez, aumenta em número e sobrepuja o *S. thermophilus*. No final do processo, tem-se um número bem maior de *L. bulgaricus* que de *S. thermophilus*. O *L. bulgaricus* no início cresce mais devagar, mas permanece viável por um tempo bem maior. O *S. thermophilus* por sua vez, cresce mais rapidamente no início do processo, mas, devido à sensibilidade a acidez, é sobrepujado pelo *L. bulgaricus* (FERREIRA, 2001).

20 A seguir podemos observar uma figura que relaciona as duas populações de bactérias em relação ao tempo (Figura 1).

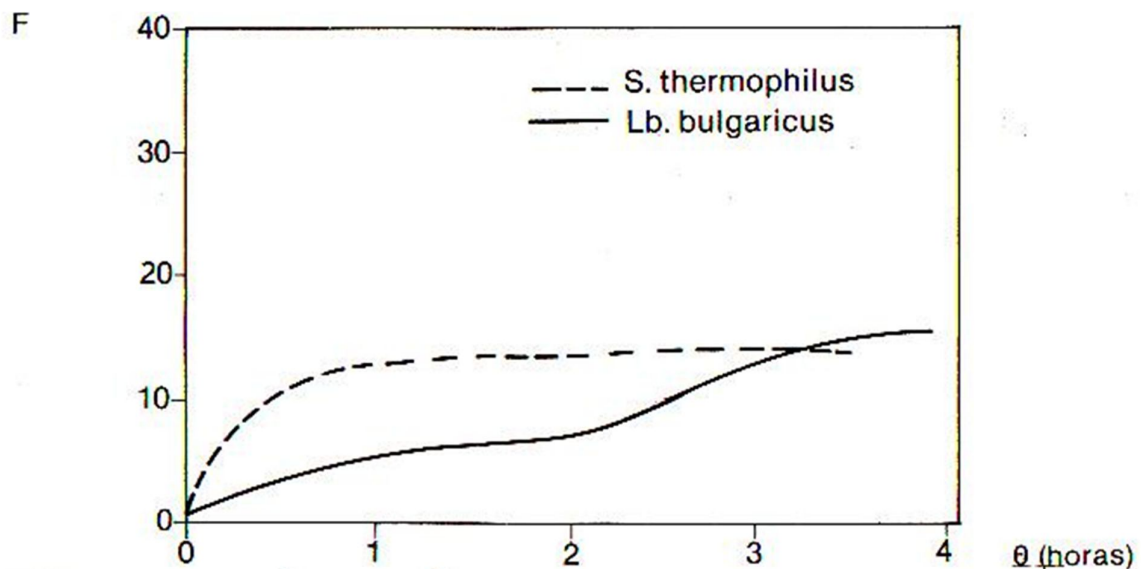


Figura 1- Curva de desenvolvimento simbiótico da cultura láctica durante a fermentação do iogurte (F = fator de multiplicação do micro-organismo).

Fonte: ROBERT, 2008.

5

A proporção normalmente usada é 1:1 *cocci* para *bacilli*. Podem ser também utilizadas proporções 2:1; 3:1; 3:2. O importante é a cultura conter maior número de *S. thermophilus* que de *L. bulgaricus*. Esta proporção na cultura “starter” é fundamental, uma vez que terá efeito decisivo no “flavor” e nas características do produto final. Devido aos efeitos de simbiose no início e antibiose no final do processo do iogurte, nunca se deve fazer iogurte a partir de outro iogurte. Essas culturas devem ser mantidas separadas e misturadas nas proporções adequadas no momento de inoculação da mistura. Após sucessivas repicagens, o *L. bulgaricus* predomina na cultura e as características do produto final se alteram. As culturas de uso direto no tanque devem ter a composição adequada para garantir menor tempo de fabricação (FERREIRA, 2001).

Durante o crescimento associativo das bactérias do iogurte, observa-se a produção rápida de acidez e aparecimento do “flavor” característico do iogurte.

Dentre os principais componentes do “flavor” do iogurte, observam-se o ácido láctico, acetaldeído e diacetil em baixas concentrações. O acetaldeído é o composto mais importante no “flavor” do iogurte. O *L. bulgaricus* parece ser o principal responsável pela produção do acetaldeído. A proporção do acetaldeído é maior quando *L.*
5 *bulgaricus* cresce junto com *S. thermophilus*. A proporção de ácido também é maior quando esses micro-organismos estão crescendo juntos (FERREIRA, 2001).

5.1.5 Leite Acidófilo

10 É produzido pela fermentação do leite inoculado com linhagens selecionadas de *L. acidophilus*. O *L. acidophilus* têm características especiais, como a de resistir a baixas tensões superficiais e ao suco gástrico (FERREIRA, 2001).

Foi descrito a importância da utilização do *L. acidophilus* no tratamento de diarreia infantil, constipação intestinal e reposição de “flora” intestinal após
15 tratamento prolongado com, e depois do uso de, antibióticos. A literatura indica dados favoráveis à implantação do *L. acidophilus* no intestino grosso. As linhagens de *L. acidophilus* utilizadas na elaboração do leite acidófilo e de outros produtos fermentados são selecionados de acordo com a capacidade de crescer bem no leite e no trato intestinal humano (FERREIRA, 2001).

20

5.1.5.1 Yakult

O micro-organismo envolvido é o *L. casei* var. Shirota que foi isolado do intestino humano de pessoas saudáveis e passado várias vezes pelos intestinos ou
25 teve sua resistência à acidez aumentada por meio de inoculação em meios com

acidez cada vez maiores. Este micro-organismo têm temperatura ótima de crescimento a 37°C e pH de 6,8. O produto tem ação antagônica sobre grande número de bactérias patogênicas. É recomendado em várias moléstias digestivas, além de repor a “flora” intestinal em pacientes que fizeram uso prolongado de
5 antibiótico (FERREIRA, 2001).

5.2. Benefícios dos probióticos à base de BAL

5.2.1 Benefícios para o produto

10

As bactérias ácido-láticas utilizadas atualmente para a produção de leites fermentados fermentam açúcares, produzindo ácido lático como principal produto do metabolismo. Estas bactérias agem acidificando os produtos alimentares, impedindo o desenvolvimento de bactérias indesejáveis e aumentando o período de
15 conservação dos produtos fermentados em relação à matéria-prima não fermentada (FARIA *et al.*, 2006). Esses micro-organismos podem modificar o “flavor”, textura, valor nutricional, além de impedir o desenvolvimento de outros micro-organismos, que, caso crescessem, poderiam deteriorar o produto, tornando-o impróprio para o consumo (FERREIRA, 2001). O acúmulo de vitaminas e ácidos orgânicos aumentam
20 a vida de prateleira desses produtos.

5.2.2 Benefícios para o consumidor

Considera-se que alguns leites fermentados apresentam propriedades
25 terapêuticas por serem elaborados com bactérias que incluem lactobacilos,

bifidobactérias e estreptococos, cuja origem geralmente é o trato gastrointestinal humano e que apresentam, além dos efeitos bioquímicos e biológicos sobre os nutrientes do leite, efeitos fisiológicos e terapêuticos para o consumidor (FARIA *et al.*, 2006).

5 Os alimentos probióticos fazem parte do grupo dos alimentos funcionais pois, além de suas qualidades nutricionais, afetam benéficamente uma ou mais funções relevantes do organismo do consumidor. Dentre os benefícios à saúde produzidos por bactérias probióticas, podem-se citar: inibição de micro-organismos patogênicos; aumento e modulação da resposta imunológica (NEUMAN *et al.*, 1998; MARTINS *et al.*, 2009; RIBEIRO *et al.*, 2009); balanço da microbiota normal (REID *et al.*, 2001);
10 recuperação da “flora” intestinal (GOLDIN, 1992; SANTOS, 2010); redução a intolerância da lactose (GILLILAND, 1989; VESA *et al.*, 2000); alívio dos sintomas da síndrome do intestino irritável e alívio da constipação intestinal (GOLDIN & GORBACH, 2008); prevenção da diarreia (DORON, 2008); prevenção de câncer de
15 cólon (WOLLOSWSKI *et al.*, 1999; HIRAYAMA & RAFTER, 2000); prevenção de cáries dentárias (BAYONA *et al.*, 1990; BUSSCHER *et al.*, 1999); redução do colesterol do soro (TEITELBAUM & WALKER, 2002).

O ácido láctico nos produtos fermentados tem a propriedade de melhorar a utilização do cálcio, fósforo e ferro, além de estimular a secreção do suco gástrico
20 (FERREIRA, 2001).

Outra ação dos probióticos é a redução de enzimas fecais responsáveis pelo início do desenvolvimento de alguns tipos de cânceres e prevenção de infecções do trato respiratório e outras doenças infecciosas assim como tratamento de infecções urogenitais (DE VRESE & SCHREZENMEIR, 2008).

A microbiota indígena possui micro-organismos com efeitos benéficos e deletérios para o hospedeiro (ROBERFROID, 2001). Dessa forma, estrutura-se um ecossistema muito complexo e interativo com a presença de vários micro-organismos que se relacionam em equilíbrio com o hospedeiro. No entanto, quando
5 esse balanço microbiano é alterado, podem ocorrer distúrbios clínicos, já que a microbiota indígena possui papel importante sobre o trato gastrointestinal (CZERUCKA *et al.*, 2007).

Acredita-se que a microbiota indígena seja a principal reguladora do sistema imunológico. Dessa forma, várias tentativas têm sido feitas para melhorar a saúde
10 de indivíduos afetados por meio da modulação da microbiota intestinal, utilizando micro-organismos vivos denominados probióticos (CZERUCKA & RAMPAL, 2002).

O consumo de probióticos como suplemento alimentar é devido, especialmente, à capacidade de várias bactérias diminuírem o colesterol circulante no soro – por exemplo, as bactérias do ácido láctico (MARTINS, 2008). Tais
15 bactérias promovem um aumento notável no HDL (lipoproteínas de alta densidade) e diminuem a quantidade de LDL (lipoproteínas de baixa densidade) (BEENA & PRASAD, 1997).

Outro modo pelo qual estas bactérias conseguem diminuir o colesterol é acelerando a conversão desta substância em ácidos biliares, o que diminui a
20 concentração de colesterol no soro (FUKUSHIMA & NAKANO, 1996).

Quanto ao efeito medicamentoso exercido por estes micro-organismos, cita-se, principalmente, o uso na recomposição da microbiota após tratamentos com antibióticos de amplo espectro, durante o curso de vários tipos de diarreias e outros usos (MARTINS, 2008).

A seguir a utilização dos probióticos para combater infecções de outros micro-organismos. Foi comprovado por ASAHARA *et al.* (2001) que a ingestão de *L. casei* var. Shirota foi eficiente no combate de infecção de *Escherichia coli* no trato urinário. Além disso, estudos também indicam o tratamento de infecções por

5 *Trichinella spiralis* por meio de ingestão de *L. casei* em ratos (BAUTISTA-GARFIAS *et al.*, 1999). Inibição de *Shigella sonnei* por *L. casei* e *L. acidophilus* (NADER DE MACIAS *et al.*, 1992). Inibição de *E. coli* por *Lactococcus latis* subsp. *cremoris* e *Acetobacter orientalis* (NAKASAKI *et al.*, 2008). Inibição de *Shigella flexneri* e *Salmonella enteritidis* sorovar. Typhimurium pelo *L. acidophilus* em ratos

10 gnotobióticos (LIMA FILHO *et al.*, 2000). Ingestão de iogurte contendo *L. acidophilus* para o tratamento de *Candida* (HALLEN *et al.*, 1992; HILTON *et al.*, 1992; PARENT *et al.*, 1996). *Lactobacillus acidophilus* inibe a invasão de bactérias enteropatogênicas (BERNET *et al.*, 1994). Combate da infecção por *Helicobacter pylori* por meio da utilização de probióticos (BROWN & VALIERE, 2004).

15

5.3 Ensaios clínicos

Existem várias meta-análises de ensaios clínicos controlados que mostram resultados consistentes em revisões sistemáticas, sugerindo que os probióticos são

20 seguros e eficazes. A evidência que surge dos estudos na gastroenterite viral é mais convincente que a evidência nas infecções bacterianas ou parasitárias. Os mecanismos de ação são específicos de cada linhagem: há evidência de eficácia de algumas linhagens de lactobacilos (por exemplo, *L. rhamnosus* GG e *L. reuteri* ATCC 55730) e para *S. boulardii* (GUARNER *et al.*, 2011).

Está demonstrado que as diferentes linhagens probióticas incluindo *L. reuteri* ATCC 55730, *L. rhamnosus* GG, *L. casei* DN-114 001, e *S. boulardii* servem para reduzir a severidade e duração da diarreia infecciosa aguda em crianças. A administração oral de probióticos encurta a duração da doença diarreica aguda em
5 crianças em aproximadamente um dia (GUARNER *et al.*, 2011).

Na diarreia associada a antibióticos há fortes evidências da eficácia do *S. boulardii* ou *L. rhamnosus* GG em adultos ou crianças que recebem antibióticos. Uma pesquisa recente indicou a eficácia do *L. casei* DN-114 001 em pacientes adultos hospitalizados na prevenção da diarreia associada a antibióticos e diarreia
10 por *Clostridium difficile* (GUARNER *et al.*, 2011).

Existem várias linhagens de lactobacilos e bifidobactérias, bem como de *Bacillus clausii*, que parecem reduzir os efeitos das antibioticoterapias. Outras linhagens demonstram eficácia na diminuição dos efeitos colaterais, mas não alteram a taxa de erradicação. Uma meta-análise recente de 14 ensaios
15 aleatorizados sugere que suplementar os regimes antibióticos anti-*H. pylori* com determinados probióticos seria também efetivo para aumentar as taxas de erradicação e pode ser considerado útil para os pacientes caso falhe a erradicação. Atualmente, não há evidências suficientes para avaliar o conceito da eficácia de um só probiótico, sem antibioticoterapia concomitante. Em suma, existe literatura que
20 sugere que certos probióticos podem ser úteis como terapia adjuvante com antibióticos na erradicação da infecção por *Helicobacter pylori* (GUARNER *et al.*, 2011).

Os prebióticos como a lactulose são utilizados comumente na prevenção e tratamento da cirrose. Foi possível reverter a encefalopatia hepática mínima em 50%
25 dos pacientes tratados com um preparado simbiótico (quatro linhagens probióticas e

quatro fibras fermentáveis, incluindo inulina e amido resistente) durante 30 dias (GUARNER *et al.*, 2011).

Streptococcus thermophilus e *L. bulgaricus* melhoram a digestão da lactose e reduzem os sintomas relacionados a sua intolerância. Isto foi confirmado por uma
5 série de estudos controlados com indivíduos que consumiam iogurte com culturas vivas (GUARNER *et al.*, 2011).

Os ensaios clínicos demonstraram que a suplementação com probióticos reduz o risco de enterocolite necrosante em recém-nascidos prematuros. As revisões sistemáticas dos ensaios controlados aleatorizados também demonstraram
10 uma redução do risco de morte em grupos tratados com probióticos (GUARNER *et al.*, 2011).

O *L. reuteri* pode melhorar os sintomas de cólicas na primeira semana de tratamento, como mostrado em um ensaio recente com 90 lactentes, com cólicas intestinais, alimentados no peito. Em suma, existem publicações que sugerem que
15 certos probióticos podem aliviar os principais sintomas nas pessoas com Síndrome do intestino irritável (GUARNER *et al.*, 2011).

Estudos com a aplicação de probióticos na prevenção de quadros de alergia já são realizados. Oferecidos as gestantes por ocasião das últimas quatro semanas precedentes ao parto e, subsequentemente, aos seus recém nascidos, com alto
20 risco de alergia, durante os seis meses seguintes ao nascimento, teve como resultado a diminuição significativa do quadro de alergia atópica precoce (KARKOW *et al.*, 2007). Reduções de sintomas de alergias alimentares também foram observadas em pacientes que ingeriram os probióticos rotineiramente.

5.4 Mecanismos de ação dos probióticos

De acordo com a literatura analisada existem alguns possíveis mecanismos que poderiam explicar os benefícios causados pelos probióticos.

5 Produção de substâncias inibidoras de outros micro-organismos. (VANDENBERG, 1993). Essas substâncias incluem os ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio, bacteriocinas, dentre outras. Estes compostos, além de reduzirem o número de células bacterianas viáveis, afetam o metabolismo bacteriano ou a produção de toxinas (ROLFE, 2000).

10 Competição por sítios de adesão na superfície do epitélio intestinal e, por nutrientes, inibindo, deste modo, a fixação e a sobrevivência de outros micro-organismos (LAZADO *et al.*, 2011).

 Modulação do sistema imune. Evidências sugerem que a modulação da resposta imune específica e não-específica pode ser outro mecanismo pelo qual os
15 probióticos protegem o hospedeiro contra as desordens gastrointestinais (MATSUZAKI & CHIN, 2000).

 Melhora da barreira intestinal. Segundo ANDERSON *et al.* (2010) *L. plantarum* aumenta a expressão de genes envolvidos na sinalização da junção serreada das células epiteliais. Dessa forma, tal probiótico pode melhorar a função
20 de barreira intestinal.

 Ativar os macrófagos locais para aumentar a apresentação dos antígenos para os linfócitos B e aumentar a produção de imunoglobulina A secretória (sIgA) tanto local quanto sistemicamente. Modular os perfis das citocinas. Induzir a hiporesposta aos antígenos alimentares. Digerir os alimentos e concorrer com os
25 patógenos pelos nutrientes. Alterar o pH local para criar um ambiente local

desfavorável aos patógenos. Produzir bacteriocinas para inibir os patógenos. Fagocitar os radicais superóxidos. Estimular a produção epitelial de mucina. Aumentar a função da barreira intestinal. Concorrer por aderência com os patógenos. Modificar as toxinas de origem patogênica (GUARNER *et al.*, 2011).

5

6. CONCLUSÃO

A utilização de produtos contendo micro-organismos é uma prática de muitas décadas e que se conserva até os dias de hoje. É bastante comum observarmos a
5 ingestão de produtos lácteos fermentados na dieta de inúmeras pessoas nos mais diversos lugares. Este hábito acaba trazendo inúmeros benefícios para seus consumidores que a princípio não sabiam dessas vantagens.

Estudos envolvendo a ingestão desses probióticos, presentes nos leites fermentados, acabaram por desvendar grandes benefícios para as pessoas que
10 ingeriam os produtos e para os próprios produtos. A partir daí, novos investimentos foram feitos nesta área e novos estudos estão sendo realizados a fim de entender cada vez mais essa relação entre os probióticos e o organismo humano.

Com esse novo ramo de alimentos, vários produtos foram lançados com o intuito de oferecer aos consumidores todos esses benefícios.

15 Novas pesquisas ainda serão desenvolvidas e novos conhecimentos a cerca da utilização desses probióticos ainda serão descobertos. Apesar da carência de ensaios clínicos controlados utilizando produtos fermentados, a utilização de produtos, como o leite fermentado, traz vantagens para quem o ingere regularmente.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, L.L.; RICHARDS, N.S.P.S.; BECKER, L.V.; ANDRADE, D.F.; MILANI, L.I.G.; REZER, A.P.S.; SCIPIONI, G.C. Aceitação sensorial e caracterização de *frozen yogurt* de leite de cabra com adição de cultura probióticas e prebiótico. **Ciência Rural**, v. 39, n. 9, 2009.

ANDERSON, R.C.; COOKSON, A.L.; MCNABB, W.C.; PARK, Z.; MCCANN, M.J.; KELLY, W.J.; ROY, N.C. *Lactobacillus plantarum* MB452 enhances the function of the intestinal barrier by increasing the expression levels of genes involved in tight junction formation. **BMC Microbiol.**, v. 10, p. 316, 2010.

ASAHARA, T.; NOMOTO, K.; WATANUKI, M.; YOKOKURA, T. Antimicrobial activity of intraurethrally administered probiotic *Lactobacillus casei* in a murine model of *Escherichia coli* urinary tract infection. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 45, p. 1751-1760, 2001.

BAUTISTA-GARFIAS, C.R.; IXTA, O.; ORDUNA, M.; MARTINEZ, F.; AGUILAR, B.; CORTES, A. Enhancement of resistance in mice treated with *Lactobacillus casei*: effect on *Trichinella spiralis* infection. **Vet. Parasitol.**, v. 80, p. 251-260, 1999.

BAYONA GONZALES, A.; LOPEZ CAMARA, V.; GOMEZ CASTELLANOS, A. Prevención de caries por lactobacilos (resultados finales de un ensayo clínico sobre caries dental con lactobacilos muertos [estreptococos y lactobacilos] por via oral). (Prevention of caries with lactobacillus (final results of a clinical trial on dental caries

with killed lactobacillus [streptococcus and lactobacillus] given orally)).

Pract.Odontol., v. 11, p. 37-39, 1990.

5 BEENA, A.; PRASAD, V. Effect of yogurt and bifidus yogurt fortified with skim milk powder, condensed whey and lactose-hydrolyzed condensed whey on serum cholesterol and triacylglycerol concentration in rats. **J. Dairy Res.**, v. 64, p. 453-457, 1997.

10 BERNET, M.F.; BRASSART, D.; NEESER, J.R.; SERVIN, A.L. *Lactobacillus acidophilus* LA1 binds to cultured human intestinal cells lines and inhibits cell attachment and cell-invasion by enterovirulent bacteria. **Gut**, v. 35, p. 483-489, 1994.

15 BROWN, A.C.; VALIERE, A. Probiotics and medical nutrition therapy. **Nutr. Clin. Care.**, v. 7, n. 2, p. 56-68, 2004.

20 BUSSCHER, H.J.; MULDER, A.F.; VAN DER MEI, H.C. *In vitro* adhesion to enamel and *in vivo* colonization of tooth surfaces by Lactobacilli from a bio-yoghurt. **Caries Res.**, v. 33, p. 403-404, 1999.

CZERUCKA, D.; PICHE, T.; RAMPAL, P. Review article: yeast as probiotics - *Saccharomyces boulardii*. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v. 26, p. 767-778, 2007.

25 CZERUCKA, D.; RAMPAL, P. Experimental effects of *Saccharomyces boulardii* on diarrheal pathogens. **Microbes Infect.**, v. 4, p. 733-739, 2002.

DE VRESE, M.; SCHREZENMEIR, J. Probiotics, prebiotics and synbiotic. **Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.**, v. 111, p. 1-66, 2008.

- 5 DORON, S.I.; HIBBERD, P.L.; GORBACH, S.L. Probiotics for prevention of antibiotic-associated diarrhea. **J. Clin. Gastroenterol.**, v. 42, p. 558-563, 2008.

FAO/WHO. Food and Agriculture Organization / World Health Organization. **Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food.** London, Ontario, Canada.

- 10 11p. April 30 and May 1, 2002.

FARIA, C.P.; BENEDET, H.D.; GUERROUE, J.L. Parâmetros de produção de leite de búfala fermentado por *Lactobacillus casei*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 3, 2006.

15

FERREIRA, C.L.L.F. Produtos lácteos fermentados (aspectos bioquímicos e tecnológicos). **Caderno Didáticos**, 2 ed.; Editora UFV, 2001.

- 20 FERREIRA, C.L.L.F. Microrganismos probióticos e de ação probiótica. **Leite & Derivados**, São Paulo, v. 17, n. 103. Jan-fev, 2008.

FUKUSHIMA, M.; NAKANO, M. Effects of a mixture of organisms, *Lactobacillus acidophilus* or *Streptococcus faecalis* on cholesterol metabolism in rats fed on a fat- and cholesterol- enriched diet. **J. Nutr.**, v. 76, p. 857-867, 1996.

25

GILLILAND, S.E. *Acidophilus* milk products: a review of potential benefits to consumers. [J Dairy Sci.](#), v. 72, p. 2483-2494, 1989.

5 GIRAFFA, G.; CHANISHVILI, N.; WIDYASTUTI, Y. Importance of lactobacilli in food and feed biotechnology. **Res. Microbiol.**, v. 161, n. 6, p. 480-487, 2010.

GOLDIN, B.R.; GORBACH, S.L.; SAXELIN, M.; BARAKAT, S.; GUALTIERI, L.; SALMINEN, S. Survival of *Lactobacillus* species (strain GG) in human gastrointestinal tract. **Dig. Dis. Sci.**, v. 37, p. 121-128. 1992.

10

GOLDIN, B.R.; GORBACH, S.L. Clinical Indications for probiotics: an overview. **Clin. Infect. Dis.**, v. 46, p. 96-100, 2008.

15 GUARNER, F.; KHAN, A.G.; GARISCH, J.; ELIAKIM, R.; GANGL, A.; THOMSON, A.; KRABSHUIS, J.; MAIR, T.L.; KAUFMANN, P.; PAULA, J.A.; FEDORAK, R.; SHANAHAN, F.; SANDERS, M.E.; SZAJEWSKA, H. Diretrizes Mundiais da Organização Mundial de Gastroenterologia: Probióticos e prebiótico, 2011.

20 HALLEN, A.; JARSTRAND, C.; PAHLSON, C. Treatment of bacterial vaginosis with *Lactobacilli*. **Sex. Transm. Dis.**, v. 19, p. 146-148, 1992.

HILTON, E.; ISENBERG, H.D.; ALPERSTEIN, P.; FRANCE, K.; BORENSTEIN, M.T. Ingestion of yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* as prophylaxis for candidal vaginitis. **Ann. Intern. Med.**, v. 116, p. 353-357, 1992.

25

HIRAYAMA, K.; RAFTER, J. The role of probiotic bacteria in cancer prevention. **Microbes Infect.**, v. 2, n. 6, p. 681-686, 2000.

5 KARKOW, F.J.A.; FAINTUCH, J.; KARKOW, A.G.M. Probióticos: perspectivas
médicas. **Revista da AMRIGS**, Porto Alegre, v. 51, n. 1, p. 38-48, 2007.

LAZADO, C.C.; CAIPANG, C.M.; BRINCHMANN, M.F.; KIRON, V. *In vitro* adherence
of two candidate probiotics from Atlantic cod and their interference with the adhesion
of two pathogenic bacteria. **Vet. Microbiol.**, v. 148, n. 2-4, p. 252-259, 2011.

10

LIMA FILHO, J.V.M.; VIEIRA, E.C.; NICOLI, J.R. Antagonistic effect of *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces boulardii* and *Escherichia coli* against experimental
infections with *Shigella flexneri* and *Salmonella enteritidis* ssp. *typhimurium* in
gnotobiotic mice. **J. Appl. Microbiol.**, v. 88, p. 365-371, 2000.

15

MARTINS, F.S. **Efeito de dois probióticos, *Saccharomyces boulardii* e *Saccharomyces cerevisiae* linhagem UFMG 905, na resposta inflamatória induzida por *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorovar. Typhimurium.** 2008.
(Tese / Doutorado).

20

MARTINS, F.S.; SILVA, A.A.; VIEIRA, A.T.; BARBOSA, F.H.; ARANTES, R.M.;
TEIXEIRA, M.M.; NICOLI, J.R. Comparative study of *Bifidobacterium animalis*,
Escherichia coli, *Lactobacillus casei* and *Saccharomyces boulardii* probiotic
properties. **Arch. Microbiol.**, v. 191, n. 8, p. 623-630. 2009.

25

- MARTINS, F.S.; DALMASSO, G.; ARANTES, R.M.; DOYE, A.; LEMICHEZ, E.; LAGADEC, P.; IMBERT, V.; PEYRON, J.F.; RAMPAL, P.; NICOLI, J.R.; CZERUCKA, D. Interaction of *Saccharomyces boulardii* with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium protects mice and modifies T84 cell response to the infection.
- 5 **PLoS One**, v. 5, n. 1, e8925, 2010.
- MATSUZAKI, T.; CHIN, J. Modulating immune responses with probiotic bacteria. **Immunol. Cell. Biol.**, v. 78, p. 67-73, 2000.
- 10 MAZOCHI, V.; JÚNIOR, F.E.M.; VAL, C.H.; DINIZ, D.N.; RESENDE, A.F.; NICOLI, J.R.; SILVA, A.M. Iogurte probiótico produzido com leite de cabra suplementado com *Bifidobacterium spp.* **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 6, 2010.
- 15 MOREIRA, S.R.; SCHWAN, R.F.; CARVALHO, E.P.; FERREIRA, C. Análise microbiológica e química de iogurtes comercializados em lavras – MG. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 1, 1999.
- 20 NADER DE MACIAS, M.E.; APELLA, M.C.; ROMERO, N.C.; S.N.; OLIVER, G. Inhibition of *Shigella sonnei* by *Lactobacillus casei* and *Lact. acidophilus*. **J. Appl. Bacteriol.**, v. 73, p. 407-411, 1992.
- 25 NAKASAKI, K.; YANAGISAWA, M.; KOBAYASHI, K. Microbiological quality of fermented milk produced by repeated-batch culture. [J. Biosci. Bioeng.](#), v. 105, n. 1, p. 73-76, 2008.

NEUMAN, E.; OLIVEIRA, M.A.P.; CABRAL, C.M.; NICOLI, J.R.; VIEIRA, E.C; CARA, D.C.; VIEIRA, L.Q. Monoassociation with *Lactobacillus acidophilus* UFV-H₂B₂₀ stimulates the phagocytic system of germfree mice. **Braz.J. Med. Biol. Res.**, v. 31, p. 5 1565-1573, 1998.

NICOLI, J.R.; VIEIRA, L.Q. Probióticos, prebióticos e simbióticos: moduladores do ecossistema digestivo. **Ciência Hoje**, v. 28, p. 34-38, 2000.

10 OLIVEIRA, M.N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J.H.A.; SAAD, S.M.I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 1, 2002.

OUWEHAND, A.C.; SALMINEN, S.; ISOLAURI, E. Probiotics: an overview of 15 beneficial effects. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 82, p. 279-289, 2002.

PARENT, D.; BOSSENS, M.; BAYOT, D.; KIRKPATRICK, C.; GRAF, F.; WILKINSON, F.E.; KAISER, R.R. Therapy of bacterial vaginosis using exogenouslyapplied *Lactobacillus acidophilus* and a low dose of estriol: a placebo- 20 controlled multicentric clinical trial. **Arzneimittelforschung**, v. 46, p. 68-73, 1996.

PERITI, P.; TONELLI, F. Biotherapeutics and biotherapy of surgical enteropathies. **Digest. Liver. Dis.**, v. 34, p. 587-597, 2002.

- REID, G.; BRUCE, A.W.; FRASER, N.; HEINEMANN, C.; OWEN, J.; HENNING, B.
Oral probiotics can resolve urogenital infections. **FEMS Immunol. Med. Microbiol.**,
v. 30, p. 49-52, 2001.
- 5 RIBEIRO, E.P.; SIMÕES, L.G.; JURKIEWICZ, C.H. Desenvolvimento de queijo
minas frescal adicionado de *Lactobacillus acidophilus* produzido a partir de
retentados de ultrafiltração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 1, 2009.
- ROBERFROID, M.B. Prebiotics: preferential substrates for specific germs? **Am.**
10 **J.Clin. Nutr.**, v. 73, p. 406-409, 2001.
- ROBERT, N.F. Dossiê técnico, fabricação de iogurtes. **Rede de tecnologia do Rio
de Janeiro RETEC**, jul, 2008.
- 15 ROLFE, R.D. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health.
J.Nutr., v. 130, p. 396S-402S, 2000.
- SAAVEDRA, J.M. Microbes to fight microbes: a not so novel approach to controlling
diarrheal disease. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v. 21, p. 25-29, 1995.
- 20 SANTOS, A.C.A.L. **Uso de probióticos na recuperação da flora intestinal**. Rio de
Janeiro. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. 2010. (Monografia).
- SCHREZENMEIR, J.; VRESE, M. Probiotics, prebiotics and symbiotics - approaching
25 a definition. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 73, p. 361-364, 2001.

SILVA, S.V. **Desenvolvimento de iogurte probiótico com prebiótico**. 2007.
(Dissertação / Mestrado).

- 5 TAMIME, A.Y. Fermented milks: a historical food with modern applications - a review.
[Eur. J. Clin. Nutr.](#), v. 56, Suppl 4, p. S2-S15, 2002.

TEITELBAUM, J.E.; WALKER, W.A. Nutritional impact of pre- and probiotics as protective gastrointestinal organisms. **Annu. Rev. Nutr.**, v. 22, p. 107-138, 2002.

10

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CHRISTINE L. **Microbiologia**. 8 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

- VANDENBERG, P.A. Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference
15 with microbial growth. **FEMS Microbiol. Rev.**, v. 12, p. 221-238, 1993.

VESA, T.; MARTEAU, P.; KORPELA, R. Lactose intolerance. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 19, p. 165S-175S, 2000.

- 20 WOLLOWSKI, I.; JI, S.T.; BAKALINSKY, A.T.; NEUDECKER, C.; POOLZOBEL, B.L. Bacteria used for the production of yogurt inactivate carcinogens and prevent DNA damage in the colon of rats. **J. Nutr.**, v. 129, p. 77-82, 1999.