

THATIANA ANDRADE FONSECA

PROBIÓTICOS EM ALIMENTOS:

BENEFÍCIOS, VIABILIDADE E APLICAÇÕES

LAVRAS - MG 2022

THATIANA ANDRADE FONSECA

PROBIÓTICOS EM ALIMENTOS:

BENEFÍCIOS, VIABILIDADE E APLICAÇÕES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Engenharia de Alimentos para a obtenção do título de Bacharel.

Profa. Dra. Karen Cristina Guedes Silva

Orientadora

LAVRAS - MG

THATIANA ANDRADE FONSECA

PROBIÓTICOS EM ALIMENTOS:

BENEFÍCIOS, VIABILIDADE E APLICAÇÕES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Engenharia de Alimentos para a obtenção do título de Bacharel.

Aprovado em 15 de julho de 2022.

Me. Larissa Carolina de Morais UFLA

Profa. Dra. Gabriela Feltre ESALQ

Profa. Dra. Karen Cristina Guedes Silva

Orientadora

LAVRAS - MG

RESUMO

Probióticos são microrganismos vivos que quando consumidos em quantidades adequadas garantem benefícios à saúde, como a recomposição da microbiota natural do intestino, promoção do equilíbrio e imunidade, por aumentar a resistência a patógenos. A capacidade de sobrevivência de bactérias probióticas quando inseridas em alimentos, depende das circunstâncias de processamento, armazenamento e transporte dos alimentos, bem como, das interações entre os microrganismos e o produto alimentício. Além disso, as condições encontradas ao longo do trato gastrointestinal também exercem influência sobre a viabilidade dessas bactérias, uma vez que as mesmas apresentam grande sensibilidade à variações de temperatura, acidez e nível de oxigênio. Na indústria de alimentos, os probióticos são geralmente utilizados em produtos lácteos, contudo diferentes matrizes alimentares tem sido estudadas e novas tecnologias estão sendo empregadas para proporcionaraplicações variadas. Técnicas como a microencapsulação e o desenvolvimento de cepas termorresistentes tornam-se alternativas importantes para a diversificação da utilização de probióticos em alimentos. Seu reconhecimento vem aumentando de acordo com a ampliação do seu uso e aplicações, e a compreensão dos benefícios que eles podem proporcionar à saúde. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo elaborar uma revisão bibliográfica sobreos probióticos e sua utilização nos alimentos, mostrando os benefícios do consumo à saúde humana, viabilidade, sensibilidades e tecnologias utilizadas para proteção destes microrganismos, como a microencapsulação. Logo,a execução desta revisão, possibilitou a reunião de informações e conhecimento acerca de suas definições, histórico, efeitos no organismo e aplicações na indústria alimentícia.

Palavras-chave: Probióticos. Alimentos funcionais. Viabilidade. Aplicação. Microencapsulação.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	5
2 METODOLOGIA	7
3 REFERENCIAL TEÓRICO	8
3.1 Probióticos: Origem e Definição	8
3.2 Viabilidade dos probióticos frente às condições ambientais	9
3.3 Mecanismo de ação dos probióticos	11
3.4 Principais gêneros	12
3.4.1 Gênero Lactobacillus	12
3.4.2 Gênero Bifidobacterium	14
3.5 Benefícios de microrganismos probióticos	16
3.5.1 Doenças autoimunes gastrointestinais	17
3.5.2 Câncer de cólon	18
3.5.3 Diarreia associada a antibióticos	18
3.6 Prebióticos	19
3.7 Simbióticos	20
3.8 Microencapsulação de bactérias probióticas	21
3.8.1 Secagem por Spray Dying	23
3.8.2 Gelificação iônica externa	25
3.9 Aplicação de probióticos e prebióticos em alimentos	28
3.9.1 Limites de uso e alegações de alimentos contendo probióticos segundo a 2020	
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	
REFERÊNCIAS	

1 INTRODUÇÃO

A busca por uma alimentação mais saudável e balanceada faz com que a população busque por alimentos que lhe tragam benefícios. Uma alimentação adequada contribui para uma vida mais saudável através do valor nutricional dos alimentos, auxiliando no bem-estar, saúde e também na redução do risco de algumas doenças. Assim, os probióticos vem se destacando dentre os alimentos que apresentam características funcionais, proporcionando aos consumidores que procuram por uma alimentação saudável, grandes benefícios para o organismo (BIRCH; BONWICK, 2018; MORAES, 2007).

Os probióticos são microrganismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas, conferem muitos benefícios à saúde de seu hospedeiro (DENIPOTE; TRINDADE; BURINI, 2010). Tais benefícios se dão pela forma de ação dos probióticos, produzindo metabólitos que atuam como inibidores do crescimento de bactérias patogênicas. Os metabólitos produzidos podem ser ácidos, principalmente lático e acético; dióxido de carbono; peróxido de hidrogênio; bacteriocinas e peptídeos antimicrobianos (KURITZA; WESTPHAL; SANTIN, 2014).

Diversas espécies de microrganismos probióticos habitam o organismo humano e proporcionam um bom funcionamento do intestino, sendo alvo de interesse industrial e de pesquisas voltadas para o desenvolvimento de alimentos funcionais. Tais microrganismos, conhecidos como probióticos, são capazes de colonizar, por exemplo, o trato gastrointestinal de humanos por um determinado período de tempo, reforçando os mecanismos de defesa naturais do hospedeiro (Fernandes, 2013). Os principais grupos de probióticos são os pertencentes aos gêneros *Lactobacillus e Bifidobacterium*, já que fazem parte da microbiota do intestino humano e exercem vários benefícios para a saúde (COOK et al., 2012; MENEZES; DURRANT, 2008).

Devido a suas potencialidades, o uso de bactérias probióticas em alimentos tem aumentado, uma vez que, além dos benefícios já apontados como equilíbrio da microbiota intestinal pela ingestão contínua, atua no combate a enfermidades, como na prevenção de câncer de cólon, desordens intestinais, prevenção de doenças digestivas e imunológicas (ANTUNES et al., 2007; RAUCH; LYNCH, 2012).

Para que um microrganismo probiótico seja adicionado nos alimentos, é necessário que sobreviva além das condições de processamento do próprio alimento e de interação com os ingredientes, resista a passagem pelo trato gastrointestinal, suportando o baixo pH estomacal, a ação de sais biliares, oxigênio, entre outras condições. Para reverter essa sensibilidade,

promover proteção e entrega controlada, processos de microencapsulação tem sido estudados e aplicados como alternativa para preservar os probióticos durante as condições de armazenamento e digestão (COOK et al., 2012). O método mais utilizado para desenvolver micropartículas é a técnica de *spray drying*, compreendendo menores custos na produção industrial para o desenvolvimento de ingredientes bioativos, além de ser uma técnica que permite escalonamento e a utilização de diversos materiais de encapsulação (JUNIOR; SOUZA, 2020).

A busca por alimentos funcionais e que trazem efeitos benéficos à saúde vem aumentando a cada dia, e alimentos contendo probióticos atendem a esse objetivo. Buscando atender a demanda dos consumidores e a diversificação de produtos funcionais, as indústrias vêm adicionando microrganismos probióticos em alimentos e bebidas como queijos, iogurtes, chocolate, cereais, sorvetes, sucos, produtos cárneos, entre outros. Assim, os consumidores podem desfrutar de refeições saborosas, de qualidade, com ações e efeitos benéficos à saúde (POSSER SIMEONI et al., 2014).

Portanto, o presente trabalho objetivou elaborar uma revisão bibliográfica sobre os probióticos e sua utilização nos alimentos, visando compreender seus benefícios à saúde humana, sensibilidade a condições ambientais, viabilidade e avanços na área de pesquisa e desenvolvimento para permitir aplicações em produtos alimentícios. Sua execução possibilitou a ampliação dos conhecimentos acerca de suas definições, histórico, efeitos no organismo e aplicações na indústria alimentícia.

2 METODOLOGIA

A fim de levantar trabalhos e dados científicos com a temática probióticos, o presente estudo se pautou em uma pesquisa de revisão bibliográfica sobre o tema probióticos em alimentos, sendo esta de caráter qualitativo. Utilizou-se como instrumentos para coleta de informações, bases de dados como *a Scientific Electronic Library Online* (Scielo), Google Acadêmico, *Web of Science*, Periódicos CAPES, entre outras. A obtenção de publicações técnico científicas utilizou os seguintes descritores: probióticos, aplicação de probióticos em alimentos, benefícios dos probióticos, e principais gêneros.

A revisão bibliográfica foi fundamentada a partir de consulta em fontes como artigos, periódicos científicos, livros, teses, dissertações e revistas científicas, dando enfoque a publicações atuais.

Após a definição do tema da pesquisa e dos objetivos, iniciou-se a busca na literatura e a seleção das bibliografias, através de consultas realizadas nas bases de dados citadas. Posteriormente, as publicações que abordam a temática foram pré-selecionadas e, em seguida, uma leitura criteriosa foi realizada com o propósito de sustentar as ideias defendidas de forma confiável e verificar se atendiam ao contexto do estudo. Por fim, realizou-se a escrita da revisão de literatura.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Probióticos: Origem e Definição

O termo probiótico é derivado do grego que significa "para a vida". A palavra foi utilizada pela primeira vez por Lily & Stillwell (1965) para descrever substâncias produzidas por protozoários que estimulam o crescimento de outros microrganismos (LILLY; STILLWELL, 1965). Posteriormente, Fuller (1989) caracterizou os probióticos como suplementos contendo microrganismos vivos que trazem benefícios à saúde de seu hospedeiro por meio do equilíbrio da microbiota intestinal (FULLER, 1989).

Após vários estudos e aprofundamento na área, a definição aceita cientificamente é que probióticos são microrganismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas, conferem muitos benefícios à saúde de seu hospedeiro (DENIPOTE; TRINDADE; BURINI, 2010). Para ter um efeito positivo na saúde do hospedeiro, os probióticos devem ser ingeridos ou implementados localmente em quantidades suficientes (COOK et al., 2012). Recomenda-se que os alimentos contenham bactérias probióticas entre 10⁸ a 10⁹ UFC/g (unidades formadoras de colônia) (DA SILVA GUEDES et al., 2019).

Segundo Salminen (1996), os requerimentos para que uma bactéria possa ser classificada como probiótica são a habilidade de aderir às células do hospedeiro; excluir ou reduzir a aderência de bactérias patogênicas; persistir e se multiplicar; produzir ácidos, peróxidos de hidrogênio e bacteriocinas que impedem o crescimento de bactérias patogênicas; ser segura; não invasiva; não carcinogênica e não patogênica e possuir a capacidade de se agregar a outras bactérias, formando assim, uma microbiota saudável e balanceada (SALMINEN et al., 1998).

A principal forma de ação dos probióticos se dá pela produção de metabólitos que atuam como inibidores do crescimento de bactérias patogênicas. Tais metabólitos produzidos podem ser ácidos, principalmente lático e acético; dióxido de carbono; peróxido de hidrogênio; bacteriocinas e peptídeos antimicrobianos. Devido a facilidade de adesão dos probióticos à mucosa do hospedeiro, a liberação dos metabólitos no local de ação, permite reforçar os mecanismos de defesa natural, impedindo a proliferação de bactérias patogênicas (KURITZA; WESTPHAL; SANTIN, 2014).

O uso de probióticos em alimentos no Brasil requer avaliação da Anvisa, seguindo os requisitos da Resolução RDC nº 241, de 27 de julho de 2018, que dispõe sobre os requisitos para comprovação da segurança e dos benefícios à saúde dos probióticos para uso em alimentos

(BRASIL, 2018). A identificação da linhagem dos microrganismos acontece por meio de documentos ou estudos científicos que identificam a espécie de acordo com a nomenclatura mais recente, além da caracterização da linhagem. A linhagem de probióticos deve ser segura para consumo, considerando o público-alvo e condições de uso, sendo estabelecida em legislação. Para se ter a segurança de tais probióticos, é necessário testes *in vivo* e *in vitro*, que sejam capazes de evidenciar a inocuidade da linhagem (BRASIL, 2017).

Produtos contendo probióticos são desenvolvidos para melhorar doenças fisiológicas em diversas áreas do corpo. Apesar do trato intestinal ser o alvo mais importante para o tratamento com probióticos, outras áreas do corpo como boca, trato urogenital e pele, também podem ser consideradas para sua utilização. Os probióticos são considerados também para prevenir e diminuir infecções do trato reprodutivo e urinário (CASTAÑEDA GUILLOT, 2018). Podendo atuar na multiplicação de bactérias benéficas, reforçando os mecanismos naturais de defesa do hospedeiro (COOK et al., 2012).

3.2 Viabilidade dos probióticos frente às condições ambientais

Os principais grupos de probióticos são os pertencentes aos gêneros *Lactobacillus e Bifidobacterium*, que fazem parte da microbiota do intestino humano e exercem vários benefícios para a saúde. Quando consumidos, agem reforçando a microbiota do trato gastrointestinal (COOK et al., 2012; MENEZES; DURRANT, 2008).

Para que as bactérias probióticas promovam os benefícios a saúde do hospedeiro, é essencial garantir sua sobrevivência e viabilidade nos produtos em que são adicionados, além disso, para que os microrganismos probióticos atinjam e consigam colonizar o intestino humano, a viabilidades destes microrganismos deve ser preservada durante o consumo, sendo um dos aspectos mais importantes (CHAMPAGNE; FUSTIER, 2007).

Neste sentido, a viabilidade dos probióticos veiculados em diferentes produtos alimentícios durante sua produção até seu consumo, requer cuidados e estudos para sua melhoria. Dentre os fatores que afetam a viabilidade de cepas probióticas podem ser citadas a temperatura, presença ou ausência oxigênio no meio, ação das enzimas digestivas, sais biliares, ingredientes e aditivos dos meios em que são adicionados (ANAL; SINGH, 2007; CHAMPAGNE; FUSTIER, 2007). Outros fatores externos incluem parâmetros alimentícios como acidez titulável, atividade de água, presença de sais e produtos químicos como aromatizantes e corantes alimentícios. Parâmetros de processamento como tratamento térmico,

temperatura de incubação, taxa de resfriamento/aquecimento dos produtos e métodos de armazenamento; além dos parâmetros microbiológicos como cepas de probióticos e proporção de inoculação, influenciam a viabilidade de microrganismos probióticos (TRIPATHI; GIRI, 2014). Estas condições ambientais variadas podem estar presentes nas condições de processo, armazenamento, transporte e durante o consumo, pela passagem pelo trato digestivo, devendo ser controladas

O pH é um dos maiores fatores que podem afetar a sobrevivência dos probióticos. Apesar de cada espécie em particular apresentar características distintas em relação ao pH ótimo de atuação e de sensibilidade, condições extremas de acidez se tornam desfavoráveis na maior parte dos casos. Pelo fato dos microrganismos necessitarem cruzar o ambiente ácido do estômago, com pH entre 1,5 a 2, a fim de alcançar o intestino e beneficiar o organismo humano, e por determinados alimentos apresentarem uma digestão mais lenta nesta etapa, a exposição dos probióticos as condições de acidez por um período mais longo, pode comprometer sua viabilidade (CASTAÑEDA GUILLOT, 2018). Os *Lactobacillus* e gêneros associados são mais resistentes e sobrevivem em pH variando de 3,7 a 4,3 (PERRICONE et al., 2015).

Estudos tem demonstrado que a adição de microrganismos probióticos em produtos congelados pode promover um período mais longo de viabilidade. Entretanto, cuidados são necessários, pois o congelamento pode danificar as membranas das células dos probióticos devido as tensões causadas pelos cristais de gelo formados no exterior das células ou em seu interior, causando danos fatais. Assim, as atividades metabólicas das células são reduzidas ou interrompidas. No congelamento lento, os cristais de gelo produzidos são maiores, causando danos as células. Já no congelamento rápido, existe a contribuição para melhorar a manutenção dos microrganismos no produto, devido a formação de cristais pequenos e ordenados, com menor possibilidade de ruptura celular. As perdas probióticas também podem ocorrer no descongelamento dos produtos, causado pela exposição das células aos efeitos osmóticos, assim como as elevadas concentrações de íons de hidrogênio, ácidos orgânicos e componentes tóxicos no meio (CRUZ et al., 2017).

Desta forma, é possível inferir a importância de controlar todas as condições de processo quando se trabalha com microrganismos probióticos, levando em consideração também suas características particulares de sensibilidade às condições ambientais. Durante o processamento de alimentos, várias condições como as já mencionadas, podem interferir na viabilidade dos microrganismos. A fim de garantir a ação funcional desejada dos probióticos, o controle do processo e o conhecimento das características de cada espécie, é fundamental.

3.3 Mecanismo de ação dos probióticos

Os mecanismos de ação dos probióticos se dão pela competitividade de adesão à parede intestinal, sendo uma ação normal da microbiota para proteger o intestino contra microrganismos patogênicos (BAJAGAI et al., 2016). Esta competitividade indica que microrganismos benéficos e selecionados competem com cepas patogênicas para se aderirem à parede intestinal (PEREIRA et al., 2021).

A competitividade dos probióticos oferece uma barreira contra a proliferação de bactérias patogênicas, competindo pelo mesmo sítio de ligação, podendo ser localizados nas vilosidades intestinais, nas células caliciformes e nas criptas intestinais (PEREIRA et al., 2021). Quando aderidos na parede intestinal, colonizam a região, desta forma, os probióticos podem produzir metabólitos variados, que são os produtos responsáveis por inibir o crescimento de bactérias patogênicas. Dentre os metabólitos produzidos podem ser citados ácido lático e acético, dióxido de carbono, peróxido de hidrogênio e peptídeos antimicrobianos como as bacteriocinas (OLIVEIRA et al., 2002).

As bacteriocinas são descritas como peptídeos ribossomais ou proteínas sintetizadas por bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (CUI et al., 2017). Os mecanismos utilizados pelas bacteriocinas para inibir o crescimento de bactérias patogênicas são a destruição das células através da formação de poros e inibição da síntese da parede celular (HASSAN et al., 2012). Algumas cepas de *Lactococcus lactis* subsp *lactis* produzem a nisina, uma bacteriocina, que possui a capacidade de inibir o crescimento de bactérias patogênicas. A nisina, juntamente com um glicopeptídeo, formam uma ligação estável gerando um complexo, nestas condições podem promover a formação de poros na parede celular dos patógenos, levando a célula a um desequilíbrio eletrostático e causando a morte celular (BAHRAMI et al., 2019; BREUKINK; DE KRUIJFF, 2006).

Os mecanismos de ação dos probióticos também estão relacionados com a modulação da microbiota intestinal e a melhora da barreira da mucosa intestinal, logo, estes probióticos impedem a entrada de antígenos na corrente sanguínea (SOUZA et al., 2010).

3.4 Principais gêneros

As principais linhagens de probióticos são encontradas no intestino humano, devido ao fato de apresentar maior adaptabilidade às necessidades fisiológicas do hospedeiro (SALGADO, 2017).

Os probióticos aprovados pela legislação brasileira são os Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei shirota, Lactobacillus paracasei, Lactobacillus lactis, Bifidobacterium bifdum, Bifidobacterium animalis (incluindo Bifidobacterium lactis subsp.), Bifidobacterium longum e Enterococcus faecium (BRASIL, 2017).

Os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são habitantes dos intestinos delgado e grosso e são os principais probióticos utilizados na indústria alimentícia. Existem mais de 200 espécies nesses dois gêneros, muitas das quais são usadas como probióticos (PAPIZADEH et al., 2017). Como já abordado anteriormente, estes microrganismos trazem muitos benefícios a saúde de seu hospedeiro, devido a capacidade de sobrevivência e adesão ao trato gastrointestinal, e também por serem considerados seguros para o consumo (TRIPATHI; GIRI, 2014).

3.4.1 Gênero Lactobacillus

As bactérias do gênero *Lactobacillus* são encontradas em diversos nichos ecológicos, principalmente em todo o trato gastrointestinal e geniturinário, constituindo parte da microbiota de homens e animais. A sua disponibilidade, porém, é afetada por diversos fatores como pH, disponibilidade de oxigênio, nível de substrato especifico, presença de secreções e interações bacterianas. Os *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus casei* são muito utilizados na indústria para produção de leites fermentados e outros derivados lácteos, devido a sua alta capacidade de sobrevivência nestes meios (RAIZEL et al., 2011). A figura 1, apresenta a morfologia dos *Lactobacillus acidophilus*.

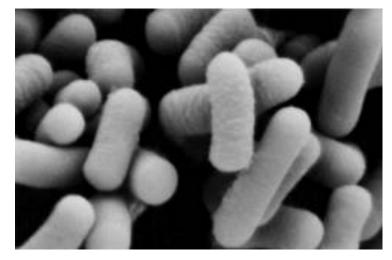


Figura 1: Lactobacillus acidophilus

Fonte: Lew and Choi (2014).

Lactobacillus acidophilus foi isolado pela primeira vez a partir de fezes de lactantes, recebendo o nome de Bacillus acidophilus. Logo depois, foi classificado como Lactobacillus acidophilus, e anos depois, foi descoberto que este microrganismo possui a capacidade de colonizar o trato gastrointestinal, trazendo benefícios à seu hospedeiro (REIS, 2012).

Estes microrganismos são pouco tolerantes à salinidade do meio, são microaerofílicos, ou seja, podem se desenvolver em condições de baixíssimas concentrações de oxigênio, e podem crescer em meios sólidos favorecidos pela anaerobiose. Possuem a capacidade de degradar amidalina, celobiose, frutose, galactose, lactose, glicose, maltose e manose (RAIZEL et al., 2011).

Os *Lactobacillus acidophilus* são microrganismos heterofermentativos, produzindo ácido lático devido a degradação da glicose, e também acetaldeído. As condições de temperatura favoráveis para seu crescimento e proliferação estão entre 35 e 40°C, sua tolerância em relação a acidez do meio varia entre 0,3 e 1,9% (v/v) de acidez titulável. Os *Lactobacillus* produzem vários compostos voláteis, como o diacetil e seus derivados, contribuindo assim, com o sabor e aroma de leites fermentados (RAIZEL et al., 2011; REIS, 2012).

O *Lactobacillus acidophilus* são um dos microrganismos mais recomendados como suprimento dietético, devido à sua facilidade de adesão ao epitélio intestinal. Com a colonização no intestino, desempenham um importante papel de melhoria da digestibilidade de lácteos, aumentando a biodisponibilidade dos nutrientes, além de estimular o mecanismo imune de seu hospedeiro (GONÇALVES, 2009).

Um dos papeis importantes desenvolvidos pelos *Lactobacillus acidophilus* após colonizarem o intestino, está relacionado a sua atuação na resistência à proliferação de

organismos patógenos. O ácido lático produzido a partir da fermentação dos probióticos, reduz o pH do intestino delgado, criando um ambiente desfavorável para o crescimento de agentes patógenos, já que estes preferem um ambiente com pH mais alcalino (VONDRUSKOVA et al., 2010).

Lactobacillus casei foram citados pela primeira vez no Japão, em 1935. Este microrganismo é Gram-positivo, não esporulado, catalase negativo, seu formato é de bastonete, são facultativos quanto ao requerimento de oxigênio, ácido tolerante e estritamente fermentativo. Está presente naturalmente no intestino delgado, sendo resistente à bile. A temperatura ideal do meio para proliferação destes microrganismos é de 37° C, são homofermentativos facultativos e produzem quase que exclusivamente ácido lático (REIS, 2012).

Os *Lactobacillus casei* pertencem a um grupo heterogêneo, onde estão inclusas as subespécies *L. paracasei*, *L. zeae e L. rhamnosus*, possuindo padrões nutricionais e bioquímicos parecidos. Estes microrganismos também são muito utilizados na produção de leites fermentados, devido a seu potencial de sobrevivência neste meio e possibilidade de proliferação no trato gastrointestinal após sua ingestão, favorecendo a saúde do consumidor (BURITI; SAAD, 2007; FARIAS, 2017; TD; PL, 2009).

Diversas aplicações desses microrganismos têm sido estudadas, sendo as mais empregadas, em iogurtes, leites, queijos de diversos tipos, devidos as potencialidades mencionadas, sendo também encontrados em produtos como sobremesas aeradas, produtos à base de soja, sorvete, geleias, bebidas de fruta. Algumas cepas são capazes de produzir bacteriocinas termoestáveis e biossurfactantes, possibilitando sua aplicação como biopreservativo para conservação de alimentos (FARIAS, 2017).

3.4.2 Gênero Bifidobacterium

As bifidobactérias são microrganismos Gram-positivos, não formadores de esporos. Possuem 30 espécies, sendo 10 de origem humana, 17 de origem animal, 2 de águas residuais e 1 de leite fermentado, sendo a do leite fermentado a que apresenta melhor tolerância ao oxigênio. Essas bactérias produzem ácido acético e lático na proporção de 3:2, a partir de dois mols de hexose, sem produção de CO₂. A principal enzima fermentativa desta via metabólica é a frutose-6-fosfato fosfocetolase. As bifidobactérias de origem humana são capazes de utilizar a galactose, lactose e frutose como fontes de carbono. A temperatura ótima de crescimento

dessas bactérias varia entre 37 e 41°C, sendo o crescimento máximo de 43 a 45°C e mínimo de 25 a 28°C. Atuam em um pH ótimo entre 6 e 7, e apresentam redução ou ausência de crescimento em valores de pH ácidos de 4,5 a 5 ou valores de pH alcalinos de 8 a 8,5 (RAIZEL et al., 2011). A figura 2 ilustra a morfologia dos *Bifidobacterium bifidum*, que se apresentam em forma de bastonete.

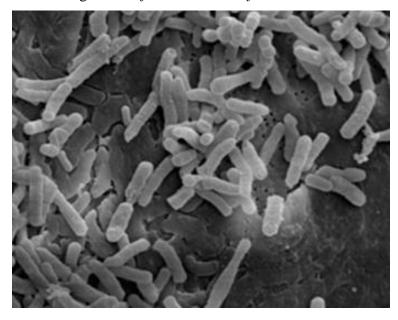


Figura 2: Bifidobacterium bifidum.

Fonte: Booyens, Labuschagne and Thantsha (2014).

Bifidobacterium bifidum foi isolada pela primeira vez no trato gastrointestinal de seres humanos. É encontrada no intestino grosso, especialmente no cólon, se apresentando em grandes concentrações. Está presente também na flora intestinal de crianças juntamente com outras bifidobactérias como Bifidobacterium longum e Bifidobacterium pseudocatenulatum (VIEIRA, 2011).

É uma bactéria gram-positiva e anaeróbica, sendo uma das primeiras espécies a colonizar o intestino de bebês amamentados com leite materno, no entanto, sua população diminui consideravelmente com a idade adulta. Esta espécie produz ácido lático como produto do processo de fermentação. Como probiótico, o *Bifidobacterium bifidum* favorece a homeostase da microbiota intestinal, mantendo o funcionamento adequado do organismo (BARBOSA et al., 2011).

Estudos mostram que ao modular a expressão das respostas imunes, *B. bifidum* pode reduzir ou limitar a ação dos mediadores inflamatórios envolvidos em doenças inflamatórias, como na artrite reumatoide e na esteatose hepática não alcóolica (BARBOSA et al., 2011).

A aplicação desses microrganismos é feita em variedades de queijos, maionese, leite em pó, sorvete, bebidas à base de soja, iogurtes, sobremesas lácteas, e entre outros alimentos (SILVEIRA, 2014).

Bifidobacterium longum foi isolada de fezes de crianças saudáveis e tem se mostrado como uma boa opção para sua utilização como microrganismo probiótico (ABRANTES, 2015).

Possui maior probabilidade de adesão ao epitélio intestinal, devido à alta hidrofobicidade em comparação a outras espécies. Esta espécie tem a capacidade de se instalar rapidamente no trato gastrointestinal, indicando ser capaz de resistir a condições adversas do trato gastrointestinal. É efetiva contra constipação em crianças e adolescentes (SOUZA, 2012).

Estes microrganismos são aplicados em variados alimentos como produtos lácteos, leite em pó, sorvete, bebidas à base de soja, iogurtes, sobremesas lácteas, e entre outros alimentos (SILVEIRA, 2014).

3.5 Benefícios de microrganismos probióticos

Devido a sua diversidade e características particulares de cada gênero e espécie, os microrganismos probióticos apresentam inúmeros benefícios e potencialidades. Consequentemente, sua inserção em alimentos, conferem benefícios à manutenção da saúde. Para que as bactérias probióticas sejam utilizadas, elas precisam apresentar características compatíveis com o organismo humano, como viabilidade, resistência aos ácidos biliares, atividade antimicrobiana, competir com patógenos por sítios ativos de adesão no intestino e possuir capacidade de aderência ás células epiteliais (FIJAN, 2014; WOLLHERR, 2019).

O consumo de alimentos contendo bactérias probióticas fornece efeitos positivos à saúde intestinal. Os probióticos possuem um papel importante na saúde da boca, pele, trato urogenital, trato reprodutivo e urinário referente a resposta imune. Os probióticos também apresentam bons resultados contra desconfortos no organismo humano, como a diarreia induzida por radioterapia e infecções respiratórias (RONDANELLI et al., 2017; WOLLHERR, 2019; ZHANG; LOU; SCHUTYSER, 2018).

O uso de bactérias probióticas em alimentos tem aumentado, uma vez que, seu uso contínuo traz equilíbrio da microbiota intestinal, estudos também tem relatado a prevenção de câncer de cólon, desordens intestinais, prevenção de doenças digestivas e imunológicas, além de melhorar o humor (ANTUNES et al., 2007; RAUCH; LYNCH, 2012). O mecanismo de ação de alguns probióticos atuando no combate ou redução de algumas doenças está detalhado abaixo.

3.5.1 Doenças autoimunes gastrointestinais

Em doenças autoimunes, o sistema imunológico ataca e prejudica o próprio organismo. Existem doenças com respostas imunológicas associadas a um determinado órgão ou tecido. Muitas doenças autoimunes prejudicam o bom funcionamento do sistema gastrointestinal, como a gastrite autoimune, doenças inflamatórias intestinais, doença celíaca e enteropatia autoimune (FRIEDRICH; FARIÑA, 2020).

Em doenças inflamatórias do intestino, o uso de probióticos é bastante promissor, como exemplo, podem ser citados o emprego das espécies *Saccharomyces boulardii* e de *Lactobacillus casei* no tratamento da doença de Cronh, que promove a colite ulcerosa e inflamação da bolsa ileal. A utilização desses microrganismos se dá pela sua ação na redução da permeabilidade intestinal, além de suas características anti-inflamatórias (OLIVEIRA; ALMEIDA; BOMFIM, 2017).

O efeito benéfico dos probióticos em inflamações intestinais, tem como principais mecanismos a secreção de produtos antibacterianos e decomposição de antígenos patogênicos, inibição de crescimento de patógenos, aumento das junções epiteliais e modificação da permeabilidade intestinal, modulação da resposta imune do epitélio intestinal e das células imunes da mucosa (ARAUJO FERREIRA et al., 2010).

A doença celíaca é caracterizada como a reação imunológica à ingestão de glúten. Esta doença é autoimune, ou seja, suas células de defesa imunológica atacam as células do organismo, causando o processo inflamatório, provocado pelo consumo de glúten, proteína presente no trigo, centeio e cevada. A doença celíaca afeta o intestino delgado, causando frequentemente diarreia e má absorção dos nutrientes. O uso de probióticos tem sido uma alternativa para pacientes celíacos, já que tais microrganismos atuam na melhora dos sintomas relacionados a doença, modulando a resposta imuneperiférica e alterando a microbiota fecal (COANA, 2021).

3.5.2 Câncer de cólon

O câncer colorretal é causado por vários fatores, e sua gênese está atribuída ao envelhecimento populacional, doenças inflamatórias do intestino, sedentarismo, inatividade física, obesidade, diabetes, má alimentação, uso do tabaco, e também fatores genéticos (MEDEIROS; TAVARES, 2018).

A utilização de probióticos para pacientes em tratamento contra o câncer de cólon, pode permitir a diminuição dos sintomas, pois podem atuar evitando infecções bacterianas, reduzindo a incidência e severidade da diarreia, colaborando com uma recuperação mais rápida da função intestinal e melhorando a resposta ao estresse sistêmico e da imunidade sistêmica (JACOBY et al., 2017).

O consumo de alimentos probióticos oferece efeito protetor contra adenomas ou carcinomas do cólon. Estudos sugerem que microrganismos probióticos são capazes de proteger o hospedeiro contra atividades carcinogênicas através de três mecanismos: os probióticos seriam capazes de inibir as bactérias responsáveis por converter substancias pré-carcinogênicas; estudos em animais de laboratório tem demonstrado que alguns probióticos inibem diretamente a formação de células tumorais, além disso, algumas bactérias da flora intestinal tem mostrado capacidade de ligação e/ou inativação carcinogênica (DENIPOTE; TRINDADE; BURINI, 2010).

O mecanismo de atuação inclui o estímulo da resposta imune do hospedeiro, ligação e degradação de compostos com potencial carcinogênico, alterações qualitativas e/ou quantitativas na microbiota intestinal envolvidas na produção de carcinógenos e de promotores, como a degradação de ácidos biliares, produção de compostos antitumorígenos ou antimutagênicos no cólon, alteração da atividade metabólica da microbiota intestinal, alteração das condições físico-químicas do colón com diminuição do pH e efeitos sobre a fisiologia do hospedeiro (HIRAYAMA; RAFTER, 2000; RAFTER, 2003).

3.5.3 Diarreia associada a antibióticos

Antibióticos são compostos terapêuticos utilizados para tratamentos contra infecções bacterianas, onde podem ter moléculas inibidoras do crescimento de bactérias patogênicas ou com ação destrutiva. O uso dos antibióticos pode causar reações como

febre, náuseas, problemas gastrointestinais, diarreia, dor abdominal, entre outros (MOTA et al., 2005; TALBOT, 2013).

A diarreia associada a uso de antibióticos ocorre devido a destruição da flora intestinal natural, ocasionando um alto crescimento de bactérias, como o *Clostridioides difficile* que produzem toxinas que provocam diarreias, especialmente com cepas mais virulentas e resistentes a fluoroquinolona (CLOUD; KELLY, 2007).

O benefício dos probióticos após o consumo de antibióticos, está relacionado a sua potencialidade de colonização do intestino, recompondo a flora intestinal danificada. Após a recomposição, outros mecanismos de ação dos probióticos também estão relacionados à modulação da função da barreira intestinal, supressão da colonização enteropatogênica, estimulação imune e modulação do metabolismo no cólon (BALLUS et al., 2010; LAGES; GENEROSO; CORREIA, 2018; PROTIC et al., 2005). Além disso, produção de substâncias que atuam na defesa do hospedeiro contra infecções posteriores, como ácido lático e acético, peróxido de hidrogênio e diacetil.

3.6 Prebióticos

Prebióticos são definidos como fibras não digeríveis que possuem benefícios por serem fermentados por microrganismos que compõem a microbiota intestinal, atuando como substrato (CARLSON et al., 2018). Quando os prebióticos atuam conjuntamente com os probióticos, diversos benefícios são alcançados. Prebióticos possuem características como resistência à acidez gástrica e à hidrólise por enzimas intestinais, portanto, não são digeríveis, nem absorvidos pelo trato gastrointestinal. No entanto, podem ser utilizados como substrato para a microbiota intestinal, favorecendo a proliferação de bactérias que contribuem para o bem-estar e saúde do hospedeiro (NATH et al., 2018).

As fibras de maior importância utilizadas como prebióticos em alimentos são a inulina e os frutooligossacarídeos (FOS), mas uma diversidade de prebióticos também oferecem potencialidades diversas em combinação com os mais variados tipos de probióticos. A inulina é amplamente distribuída na natureza em várias plantas e em algumas bactérias e fungos, como exemplo, podem ser encontradas em alho, arroz, aspargo, banana, cebola, trigo e outros (PIMENTEL; GARCIA; PRUDENCIO, 2012). Os frutooligossacarídeos, são formados a partir da hidrólise da inulina, pela enzima inulinase. Ambos são denominados frutanos, fibras solúveis e fermentáveis, não degradadas pela α-amilase e por outras enzimas hidrolíticas na parte

superior do trato intestinal (SALGADO, 2017). As doses recomendadas para o efeito benéfico dos prebióticos se encontram entre 18 a 20 g/dia (RAIZEL et al., 2011).

A ingestão de fibras prebióticas na alimentação traz efeitos positivos para o organismo, ajudam na absorção de nutrientes, principalmente o cálcio, onde sua absorção ocorre no intestino e que é estimulado por alterações químicas e fermentação das fibras. Este tipo de carboidrato beneficia a microbiota intestinal, como substrato, aumenta a colonização dos *lactobacillus*, e através da metabolização produzem compostos que possuem função antinflamatória (CARLSON et al., 2018).

Os prebióticos modificam a composição da microbiota intestinal para que bactérias benéficas promovam o bem-estar de seu hospedeiro e tornam-se predominantes. Os prebióticos podem ser encontrados em alimentos como alcachofra, banana, cebola, alho, chicória, aveia, entre outros (SAAD, 2006).

Outros benefícios que os prebióticos trazem estão relacionados ao combate a doenças inflamatórias intestinais como a doença de crohn e colite ulcerativa, que causam o desequilíbrio da microbiota intestinal. O tratamento com prebióticos indica a suplementação para prevenir o surgimento das doenças e reparar danos causados pela sua instalação, já que esta fibra quando metabolizada pela flora nativa intestinal, possibilita produção de compostos com fatores anti-inflamatórios (SHEN et al., 2018).

3.7 Simbióticos

Simbióticos são formados pela presença simultânea dos microrganismos probióticos e ingredientes prebióticos, resultando em produtos com as características funcionais dos dois grupos, que em sinergia vão beneficiar a saúde do consumidor (RAIZEL et al., 2011). Os prebióticos são complementares e sinérgicos aos probióticos, apresentando assim fator multiplicador sobre suas ações isoladas, uma vez que estimulam sua proliferação e viabilidade. Essa combinação deve possibilitar a sobrevivência da bactéria probiótica no alimento e nas condições do meio gástrico (FLESCH; POZIOMYCK; DAMIN, 2014).

Dentre as funções dos simbióticos, a resistência aumentada das cepas contra patógenos é a melhor caracterizada. O emprego de culturas probióticas melhora a exclusão de microrganismos potencialmente patógenos, que têm o crescimento inibido pela produção de ácidos orgânicos e bacteriocinas, provenientes do metabolismo dos prebióticos pela ação das

bactérias, reforçando os mecanismos naturais de defesa do organismo (FLESCH; POZIOMYCK; DAMIN, 2014).

Algumas das funções dos simbióticos se dá pela resistência aumentada das cepas contra patógenos. Seu emprego em alimentos pode eliminar microrganismos potencialmente patogênicos, tendo o crescimento inibido por ácidos orgânicos e bacteriocinas e assim, reforçando os mecanismos naturais de defesa do organismo. Os simbióticos modulam a microbiota intestinal através do mecanismo de exclusão competitiva, assim *Bifidobacterium bifidum, Lactobacillus rhamnosus, Sacharomyces boulardii* e *Lactobacillus plantarum*, entre outras cepas, prevalecem no trato gastrointestinal ao utilizarem prebióticos como substrato (FLESCH; POZIOMYCK; DAMIN, 2014).

Possíveis indicações dos simbióticos em situações clínicas, nas quais existem indícios de sua eficácia são: diarreia viral aguda, diarreia dos viajantes, infecções e complicações gástricas pelo *Helicobacter pylori*, encefalopatia hepática, diarreia em pacientes portadores da síndrome da imunodeficiência adquirida, síndrome do intestino irritável, diarreia em pacientes em nutrição enteral por sonda nasogástrica, radioterapia envolvendo a pelves, doença inflamatória intestinal, carcinogênese, alergia, síndrome da resposta inflamatória sistêmica, constipação, melhoria da saúde urogenital de mulheres, redução do colesterol e triacilglicerol plasmático, efeitos benéficos no metabolismo mineral, particularmente densidade e estabilidade óssea (RAIZEL et al., 2011).

Entre os alimentos simbióticos que mais se destacam estão os iogurtes, leites fermentados, bebidas lácteas, sucos e biscoitos que combinam quantidades adequadas de probióticos e prebióticos. Assim os alimentos que possuem simbióticos em sua formulação ampliam os benefícios que tais microrganismos oferecem, incluindo a inibição do crescimento de patógenos, fortalecimento do sistema imunológico, diminuição da atividade inflamatória e aumento da absorção de nutrientes como cálcio e magnésio (CARDOSO, 2020).

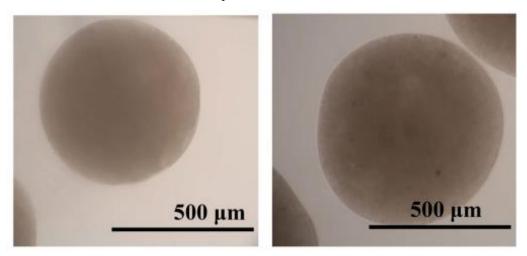
3.8 Microencapsulação de bactérias probióticas

A microencapsulação é uma tecnologia utilizada para recobrir materiais de interesse, como os ingredientes funcionais e bioativos. As partículas podem apresentar tamanhos variados e apresentam a potencialidade de garantir proteção, liberar seu conteúdo em taxas controladas e/ou sob condições específicas. A técnica de encapsulação pode ser aplicada de diversas formas na indústria alimentícia, podendo ser utilizada para estabilização de material encapsulado,

controle de reações oxidativas, liberação controlada de certo material, mascarar sabores e odores indesejáveis, entre outros (QUEIROZ et al., 2013).

A microencapsulação pode ser utilizada para imobilização de células bacterianas no interior de uma matriz encapsulante, formando uma cápsula que deverá ser capaz de manter a sua integridade durante o processamento do alimento, armazenamento, transporte e consumo e durante a passagem pelo trato gastrointestinal. Além disso, as matrizes encapsulantes empregadas devem garantir a liberação dos probióticos no local de ação, para que exerçam seus benefícios de forma otimizada. Dependendo do material e da tecnologia utilizados, a cápsula formada resulta numa membrana fina semipermeável e esférica, envolvendo um núcleo com um diâmetro que pode variar de poucos micrômetros a 1 mm ou tamanhos maiores (ALVES, 2013). A figura 3, apresenta uma microscopia de microgéis de alginato e gelatina para proteção de um probiótico modelo (*Pediococcus pentosaceus Li05*) na ausência e presença de nanopartículas de óxido de magnésio. A viabilidade do probiótico foi avaliada após exposição a diferentes condições como armazenamento; tratamento térmico; e durante a exposição ao trânsito gastrointestinal. Os resultados obtidos pelo estudo apontaram que a encapsulação dos probióticos melhorou significativamente sua viabilidade sob essas diferentes condições (YAO et al., 2018).

Figura 3: Morfologia de microgéis de alginato e gelatina para encapsulamento de *Pediococcus* pentosaceus.



Fonte: YAO et al. (2018).

A viabilidade bacteriana no produto também depende da sobrevivência do probiótico aos processos de microencapsulação, do tipo e da concentração do material de revestimento, do

tamanho das partículas, do número de células bacterianas inicial e da cepa bacteriana (POSSER SIMEONI et al., 2014).

Há diversas técnicas utilizadas na elaboração de micropartículas, a escolha mais adequada depende do tipo de substância ativa (probiótico), da aplicação e do mecanismo de liberação. A combinação entre a substância ativa e o agente encapsulante pode ocorrer por diversos métodos (RIBAS BARRETO et al., 2015):

- Físicos: spray drying, spray cooling, recobrimento em leito fluidizado, extrusão centrífuga e pulverização em banho térmico (RIBAS BARRETO et al., 2015);
- Químicos: Inclusão molecular e polimerização interfacial (RIBAS BARRETO et al., 2015);
- Físico-químicos: coacervação, envolvimento lipossômico e gelificação iônica (RIBAS BARRETO et al., 2015).

As micropartículas têm a capacidade de modificar e melhorar a aparência e as propriedades de uma substância, como viscosidade, cor, aspectos sensoriais, entre outros (RIBAS BARRETO et al., 2015).

As características físicas das partículas obtidas a partir da encapsulação de probióticos ou simbióticos podem apresentar-se na forma de um pó, obtendo vantagens como armazenamento fácil e vida de prateleira longa, permitindo sua aplicação em alimentos secos, ou na forma de géis úmidos, que também podem garantir maior estabilidade e permitirem sua inserção em alimentos úmidos (COOK et al., 2012; POSSER SIMEONI et al., 2014).

A microencapsulação de probióticos é uma alternativa para solucionar problemas que os microrganismos encontram no processamento e consumo dos alimentos. Existem ainda diversos desafios em relação aos processos de microencapsulação e os materiais mais adequados para serem utilizados para cada aplicação. Os desafios incluem manter a viabilidade das células probióticas tanto no processamento, como nas condições do trato digestório *in vivo*, que apresenta condições de elevadas concentrações de sais biliares e baixo pH, sendo este, um dos pontos mais importantes para se ter sucesso no processo de encapsulação dos microrganismos (QUEIROZ et al., 2013).

3.8.1 Secagem por Spray Dying

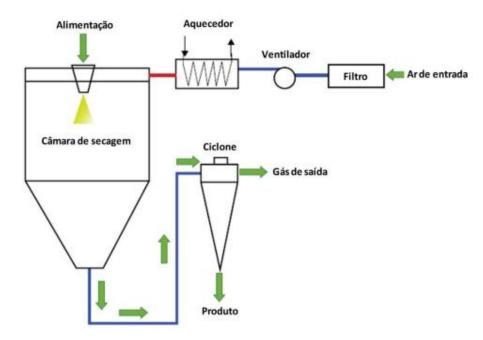
Para preservar alimentos por um período mais longo, a secagem por *Spray Dying* é muito utilizada pelas indústrias, permitindo reduzir custos com transporte e facilitando o comércio, além de prolongar a vida útil de muitos ingredientes (HUANG et al., 2017).

A técnica de *spray drying* permite a produção de pós a partir da secagem de uma solução líquida contendo o composto de interesse, podendo este ser probióticos ou simbióticos. A secagem ocorre após a aspersão da solução (atomização) em uma câmara contendo gás a temperaturas elevadas. Esta técnica, tem como características a produção de grande quantidade de material, sendo uma alternativa economicamente viável e escalonável. Os polímeros encapsulantes mais utilizados nessa técnica são a goma arábica e o amido, pelo fato que tendem a formar micropartículas esféricas durante o processo de secagem. Em contrapartida, neste processo, pode ocorrer uma perda de viabilidade dos microrganismos, resultante da temperatura elevada e da desidratação, utilizadas na técnica. Para aumentar a viabilidade bacteriana podem ser utilizados agentes termoprotetores como amido, fibra solúvel e trealose, que são adicionados no meio antes da secagem. Esse método é altamente reprodutível e apropriado para aplicações industriais (POSSER SIMEONI et al., 2014).

Segundo Schuck et al. (2016), entre as técnicas de secagem a de *spray dying* é umas das mais utilizadas por indústrias alimentícias. É um processo rápido que ocorre em poucos segundos, onde o líquido de alimentação é pulverizado em gotículas finas, podendo ter tamanhos variados de acordo com as condições de processo, como entre 10 – 150 μm sendo posteriormente direcionados para um fluxo de ar quente e seco em uma temperatura de 150°C a 250°C (BROECKX et al., 2016).

O processo de secagem por *spray drying* é divido em 4 etapas, sendo elas a preparação de dispersão ou emulsão, homogeneização, atomização e desidratação das partículas atomizadas (Shahidi; Han; 2009). A figura 4, ilustra uma representação do processamento de secagem para produção de partículas por Spray Drying.

Figura 4: Representação esquemática do processamento por *spray drying*.



Fonte: Adaptado de Anandharamakrihnan e Ishwarya (2015) citado por Junior and Souza (2020).

Durante o processo de secagem por spray drying existem pontos críticos como a viscosidade da solução de alimentação, taxa de alimentação, vazão de ar e temperatura da câmara de secagem, devem ser considerados. É necessário a instalação do atomizador correto para que se tenha sucesso em todo o processo da secagem. Para que se tenha esse sucesso, o atomizador deve cumprir algumas funções importantes como dispersar o material de alimentação em pequenas gotículas; as gotículas produzidas não devem ser muito grandes para que possam ser completamente secas, e não tão pequenas que seja difícil a recuperação do produto; e o atomizador deve atuar como dispositivo de medição, controlar a taxa na qual o material é alimentado no secador (PATEL; PATEL; SUTHAR, 2009).

3.8.2 Gelificação iônica externa

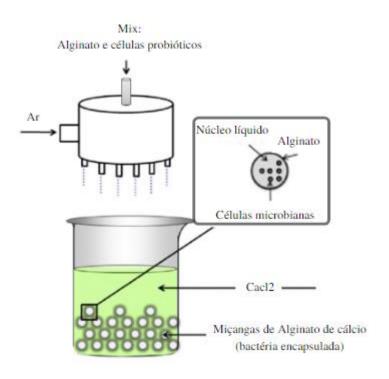
A técnica de gelificação iônica externa consiste na gelificação de polímeros que possuem carga superficial, como o alginato, quitosana, pectina e carragena. O método consiste em lançar uma solução contendo o polímero e a cultura probiótica, através de um bocal de alta pressão, que irá gotejar em uma solução contendo cloreto de cálcio, ou outro sal divalente para que ocorra a gelificação iônica, um processo de formação de gel por interação eletrostática entre

polímero carregado e um sal com carga oposta (ETCHEPARE et al., 2016; LISERRE; RÉ; FRANCO, 2007).

A gelificação iônica não causa danos às células bacterianas, pois não se utiliza processos com alta temperatura, conferindo maior viabilidade aos microrganismos encapsulados quando comparados à microrganismos livres. É uma técnica simples, de baixo custo, porém possui como um fator limitante a difícil aplicação em escala industrial, devido que a formação das micropartículas ser mais lenta (KRASAEKOOPT; BHANDARI; DEETH, 2003).

Neste processo, a formação de partículas empregando um polímero com carga negativa como por exemplo o alginato, a gelificação iônica irá ocorrer pela difusão do cálcio (cátion divalente) para o interior das gotas do polímero. Assim, quando as duas soluções com cargas opostas são misturadas, complexos polieletrólitos são formados como resultado de interações eletrostáticas (LI; DIOSADY; WESLEY, 2010; LIU et al., 2002). Na figura 5 está representado o processamento de encapsulação pelo método de gelificação iônica externa.

Figura 5: Esquema do processo de encapsulamento de bactérias probióticas pelo método de gelificação iônica.



Fonte: Adaptado de BURGAIN et al. (2011).

O material encapsulante ideal deve possuir baixa viscosidade; não ser reativo com o material encapsulado; ser de fácil manipulação durante o processo, deve ter habilidade de selar e segurar o material ativo dentro da estrutura da cápsula e ter habilidade para dispensar ou

emulsificar e estabilizar o ingrediente ativo (CHAMPAGNE; FUSTIER, 2007). As figuras 6 e 7, apresentam a morfologia de micropartículas de alginato para encapsulação de probióticos pela técnica de gelificação iônica. Nas micrografias é possível observar a presença dos microrganismos dispersos no interior das partículas.

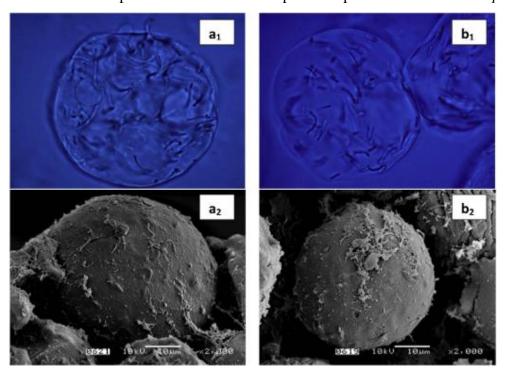
Figura 6: Micropartículas de alginato com microrganismos probióticos.



Legenda: Alginato de sódio no interior da partícula (1) e microrganismo no interior da partícula (2).

Fonte: ETCHEPARE et al. (2016).

Figura 7: Microesferas probióticas e simbióticas para encapsulamento de L. acidophilus.



Legenda: Microscopia ótica de micropartículas para proteção de probióticos (1) e microscopia eletrônica de varredura (2). (a) Micropartículas de alginato-gelatina para proteção de *L. acidophilus*, (b) Micropartículas simbióticas de alginato-gelatina-frutooligossacarídeo para proteção de *L. acidophilus*.

Fonte: SILVA et al. (2018).

3.9 Aplicação de probióticos e prebióticos em alimentos

A busca por alimentos funcionais e que trazem efeitos benéficos à saúde vem aumentando a cada dia, e alimentos contendo probióticos atendem a esse objetivo. Buscando atender os consumidores, as indústrias vêm adicionando microrganismos probióticos em alimentos e bebidas como queijos, iogurtes, chocolate, cereais, sorvetes, sucos, produtos cárneos, entre outros. Assim, os consumidores desfrutam de refeições saborosas, de qualidade, com ações e efeitos benéficos à saúde (POSSER SIMEONI et al., 2014).

Os alimentos que são mais utilizados como veículos para os microrganismos probióticos são os produtos lácteos, devido suas características que permitem fácil aplicação, possuindo uma maior aceitação comercial devido a seu excelente valor nutritivo. A utilização de culturas probióticas pelas indústrias alimentícias vem aumentando, pois possuem grande capacidade de favorecer as características sensoriais de produtos lácteos, além de aumentar a conservação dos produtos, devido a competição com microrganismos patogênicos. Os derivados do leite são bons meios de crescimento para esse grupo microbiano, pois contém fatores e substratos indispensáveis para a fermentação, como açúcares e proteínas (WOLLHERR, 2019).

Uma função das bactérias láticas na microbiota intestinal é produzir a enzima β-D-galactosidase, auxiliando na quebra da lactose no intestino. Esta ação é fundamental para o caso de indivíduos com intolerância à lactose, os quais são incapazes de digeri-la, resultando em um desconforto abdominal em grau variável. Desta maneira é possível incorporar produtos lácteos e os nutrientes importantes que fazem parte desses produtos (SAAD, 2006).

Adeptos a dieta vegana, indivíduos que por hábitos alimentares ou por questões culturais não ingerem produtos lácteos, a adição de culturas probióticas podem ser feitas em bebidas de frutas e produtos cárneos, como exemplo, permitindo assim o consumo de culturas probióticas por estes indivíduos (WOLLHERR, 2019).

Para que probióticos e prebióticos desempenhem seus benefícios, é necessária sua sobrevivência no organismo humano. Para isso são desenvolvidas técnicas de encapsulamento para que o microrganismo mantenha sua viabilidade (POSSER SIMEONI et al., 2014). Estudos realizados por Naissinger da Silva, Tagliapietra and Richards (2021) utilizando *Lactobacillus acidophilus e Bifidobacterium bifidum* encapsulados com alginato de sódio de baixa viscosidade como matriz encapsulante para adição em manteiga, mostraram que o produto adicionado de microcápsulas contendo *Lactobacillus acidophilus* apresentou maior viabilidade,

alcançando um período de 45 dias, *Bifidobacterium bifidum* apresentou viabilidade no produto por um período de 22 dias de armazenamento. Estes estudos, emonstram a eficácia da técnica de microenpsulação quando comparado a adição dos probióticos livres em alimentos, permitindo a proteção das células probióticas do estresse térmico, pH e oxigênio, liberando as substancias ativas em condições ideais.

Bastos, Paulo and Chiaradia (2014) utilizaram em seus estudos culturas probióticas de *Lactobacillus acidophilus e Saccharromyces boulardii* liofilizados para encapsulação com alginato de cálcio pelo método de extrusão para adição em barra de cereais. Em seus resultados, a utilização das culturas probióticas não alteraram as características sensoriais do produto em comparação às barras de cereais sem adição de microrganismos, mantendo assim, a viabilidade dos probióticos até o momento de consumo.

3.9.1 Limites de uso e alegações de alimentos contendo probióticos segundo a IN $n^{\rm o}$ 76 de 2020

A Instrução Normativa IN nº 76, de 5 de novembro de 2020, regulamenta sobre a lista de constituintes, limites de uso, alegações e rotulagem complementar do uso de suplementos alimentares (BRASIL, 2020).

Segundo a legislação, a recomendação diária mínima para uso de probióticos como suplementos alimentares, são indicados para cada grupo populacional e para cada espécie de microrganismos. Como exemplo, a aplicação de *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* BB12 em alimentos, deve ser de 1 x 10⁹ UFC, sendo este probiótico autorizado para consumo de todas as faixas etárias e gestantes, porém a legislação aponta não ser recomendado para lactantes. Já os *Lactobacillus acidophilus* NCFM são recomendados pela legislação em questão, apenas para faixas etárias superiores a 19 anos, não sendo recomendado para gestantes e lactantes. Na tabela 1 é possível verificar as recomendações mínimas para outros probióticos e respectivos grupos populacionais (BRASIL, 2020).

Tabela 1: Recomendações diárias mínimas (UFC) para uso de probióticos em suplementos alimentares.

Probióticos	Unidades	Grupos Populacionais								
		0 a 6 meses	7 a 11 meses		4 a 8 anos	4.0	≥ 19 anos	Gestantes	Lactantes	

Bifidobacterium animalis subsp. Lactis HN019 (ATCC SD5674)	UFC	NA	NA	NA	NA	NA	2 x 10 ⁹	NA	NA
Bifidobacterium lactis NCC 2818	UFC	1 x 10 ⁹	1 x 10 ⁹	1 x 10 ⁹	NA	NA	NA	NA	NA
Lactobacillus rhamnosus GG (DSM 33156)	UFC	1 x 10 ¹⁰	1 x 10 ¹⁰	1 x 10 ¹⁰	1 x 10 ¹⁰	1 x 10 ¹⁰	1 x 10 ¹⁰	NA	NA

NA: Não se aplica

Fonte: Adaptado de BRASIL (2020).

As recomendações máximas para adição de probióticos em suplementos alimentares para a maioria das espécies, não é estabelecida. Vale ressaltar que, algumas espécies não são recomendadas para certos grupos populacionais, especificamente gestantes e lactantes (BRASIL, 2020). Portanto, para adição dos probióticos em alimentos, as indústrias devem consultar as legislações vigentes, a fim de garantir a contagem de microrganismos ideal, para que o alimento com alegações funcionais exerça sua ação durante o consumo atribuindo seus benefícios. Além de considerar o público recomendado para cada tipo de probiótico.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da pesquisa, foi observado que os probióticos são microrganismos vivos capazes de proporcionar vários benefícios à saúde quando consumidos em quantidades adequadas e de forma regular, entre os quais podemos citar o fortalecimento do sistema imunológico, a estabilização da microbiota intestinal e a resistência a patógenos. Tal fato justifica a crescente utilização desses microrganismos na alimentação humana e seu emprego como alimento funcional.

É importante enfatizar que para ser considerado um alimento probiótico é necessário comprovar além da segurança do microrganismo, a sua eficácia para efeitos funcionais relacionados ao seu consumo. É necessário também garantir que que os probióticos permaneçam viáveis e nas quantidades suficientes para exercer os efeitos benéficos até o prazo final da validade do produto e garantir sua contagem de UFC de acordo com as legislações vigentes.

Diante desse cenário inúmeros estudos têm se concentrado na busca por condições e alternativas que promovam a viabilidade dos probióticos tanto em matriz alimentícia, quanto no trato gastrointestinal, e neste contexto, a encapsulação se destaca como uma estratégia acessível e viável, sendo o spray drying e a gelificação iônica as técnicas mais comumente empregadas para encapsulação de culturas probióticas.

Finalmente, a execução desta revisão possibilitou a reunião de informações e conhecimento acerca de definições, histórico, efeitos no organismo e legislação que validam o grande potencial da aplicação dos probióticos na industria de alimentos.

REFERÊNCIAS

ABRANTES, Fernanda Alves. **Efeitos da Bifidobacterium longum 51A sobre o restabelecimento da homeostase intestinal, em modelo experimental de colite ulcerativa induzida por DSS**. 2015. 1-115 p. Dissertação de Pós-Graduação (Pós-Graduação em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal de Minas Gerais, [S. l.], 2015. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/BUBD-

9XTGQS/1/disserta_o_fernanda_abrantes.pdf. Acesso em: 18 maio 2022.

ALVES, M. S. + h Microencapsulação de bactérias lácticas com potencial probiótico para produção de pasta de azeitona Orientador : Professora Doutora Ana Lúcia Monteiro Tecnologia Química e Biológica. 2013.

ANAL, A. K.; SINGH, H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, n. 5, p. 240–251, 2007.

ANTUNES, A. E. C. et al. Probióticos: agentes promotores de saúde. **Brazilian Food Nutrition**, v. 32, n. 3, p. 103–122, 2007.

ARAUJO FERREIRA, A. et al. Papel Do Sistema Imune E Atuação Dos Probióticos Na Doença De Crohn. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 14, n. 2, p. 171–177, 2010.

BAHRAMI, A. et al. Nanoencapsulated nisin: An engineered natural antimicrobial system for the food industry. **Trends in Food Science & Technology**, v. 94, p. 20–31, 2019.

BAJAGAI, Y. S. et al. **Probiotics in animal nutrition: production, impact and regulation**. 2016.

BALLUS, C. A. et al. Aspectos científicos e tecnológicos do emprego de culturas probióticas na elaboração de produtos lácteos fermentados: Revisão. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 85–96, 2010.

BARBOSA, F. H. F. et al. O GÊNERO Bifidobacterium: DOMINÂNCIA À FAVOR DA VIDA. 2011.

BASTOS, G. A.; PAULO, E. M.; CHIARADIA, A. C. N. Aceitabilidade de barra de cereais potencialmente probiótica/Acceptability of potentially probiotic cereal bars. **Revista brasileira de tecnologia de alimentos**, v. 17, n. 2, p. 113, 2014.

BIRCH, C. S.; BONWICK, G. A. Title: Ensuring the Future of Functional Foods Running Title: Ensuring the Future of Functional Foods Author Names. **Ensuring the Future of Functional Foods Journal: International Journal of Food Science and Technology Manuscript ID IJFST**, 2018.

BOOYENS, J.; LABUSCHAGNE, M. C.; THANTSHA, M. S. In Vitro Antibacterial Mechanism of Action of Crude Garlic (Allium sativum) Clove Extract on Selected Probiotic Bifidobacterium Species as Revealed by SEM, TEM, and SDS-PAGE Analysis. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 6, n. 2, p. 82–87, 2014.

BRASIL. Instrução Normativa - IN Nº 76, de 5 de novembro de 2020. Dispõe sobre a

atualização das listas de constituintes, de limites de uso, de alegações e de rotulagem complementar dos suplementos alimentares. [*S. l.*], 11 nov. 2020. Disponível em: https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-76-de-5-de-novembro-de-2020-287508490. Acesso em: 5 jul. 2022.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Probióticos: construção da lista de linhagens probióticas. **Anvisa**, p. 1–14, 2017.

BRASIL. **Resolução RDC Nº 241, de 26 de julho de 2018**. Dispõe sobre os requisitos para comprovação da segurança e dos benefícios à saúde dos probióticos para uso em alimentos. [*S. l.*], 27 jul. 2018. Disponível em: https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/34379910/do1-2018-07-27-resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-241-de-26-de-julho-de-2018-34379900. Acesso em: 3 jul. 2022.

BREUKINK, E.; DE KRUIJFF, B. Lipid II as a target for antibiotics. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 5, n. 4, p. 321–323, 2006.

BROECKX, G. et al. Drying techniques of probiotic bacteria as an important step towards the development of novel pharmabiotics. **International journal of pharmaceutics**, v. 505, n. 1–2, p. 303–318, maio 2016.

BURGAIN, J. et al. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. **Journal of Food Engineering**, v. 104, n. 4, p. 467–483, 2011.

BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Bactérias do grupo Lactobacillus casei: Caracterização, viabilidade como probióticos em alimentos e sua importância para a saúde humana. Archivos Latinoamericanos de Nutricion, dez. 2007.

CARDOSO, R. S. et al. Effects of Bifidobacterium animalis subsp. lactis HN019 on ligature-induced periodontitis in rats with experimental rheumatoid arthritis. **Beneficial Microbes**. v.11, n.1, p.33-46. 2020.

CARLSON, J. L. et al. Health effects and sources of prebiotic dietary fiber. **Current Developments in Nutrition**, v. 2, n. 3, p. 1–8, 2018.

CASTAÑEDA GUILLOT, C. Probiotics: An update. **Revista Cubana de Pediatria**, v. 90, n. 2, p. 286–298, 2018.

CHAMPAGNE, C. P.; FUSTIER, P. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 18, n. 2, p. 184–190, 2007.

CLOUD, J.; KELLY, C. P. Update on Clostridium difficile associated disease. Current Opinion in Gastroenterology, v. 23, n. 1, 2007.

COANA. **Alteração na microbiota intestinal em pacientes com doença celíaca**, [s. l.], 14 maio 2021. Disponível em: https://coana.com.br/tag/doenca-celiaca/+&cd=1&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br. Acesso em: 18 maio 2022.

COOK, M. T. et al. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 162, n. 1, p. 56–67, 2012.

CRUZ, A. G. DA et al. Processamento de produtos lácteos: queijos, leites fermentados,

bebidas lácteas, sorvete, manteiga, creme de leite, doce de leite, soro em pó e lácteos funcionais. Elsevier, , 2017.

CUI, H. et al. Improving anti-listeria activity of cheese packaging via nanofiber containing nisin-loaded nanoparticles. **LWT - Food Science and Technology**, v. 81, p. 233–242, 2017.

DA SILVA GUEDES, J. et al. Protective effects of β -glucan extracted from spent brewer yeast during freeze-drying, storage and exposure to simulated gastrointestinal conditions of probiotic lactobacilli. **LWT**, v. 116, p. 108496, 2019.

DENIPOTE, F. G.; TRINDADE, E. B. S. DE M.; BURINI, R. C. [Probiotics and prebiotics in primary care for colon cancer]. **Arquivos de gastroenterologia**, v. 47, n. 1, p. 93–8, 2010.

ETCHEPARE, M. DE A. et al. Effect of resistant starch (Hi-maize) on the survival of Lactobacillus acidophilus microencapsulated with sodium alginate. **Journal of Functional Foods**, v. 21, p. 321–329, 2016.

FARIAS, T. G. DE. Viabilidade de Lactobacillus rhamnosus E Lactobacillus casei encapsulados em sorvete de cajá. **Psikologi Perkembangan**, p. 1–74, 2017.

FIJAN, S. Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. **International journal of environmental research and public health**, v. 11, n. 5, p. 4745–4767, maio 2014.

FLESCH, A. G. T.; POZIOMYCK, A. K.; DAMIN, D. D. C. O uso terapêutico dos simbióticos. **ABCD Arq Bras Cir Dig**, v. 27, n. 3, p. 206–209, 2014.

FRIEDRICH, J. A. C. V.; FARIÑA, L. O. DE. Uso de probióticos em doenças autoimunes gastrointestinais: Uma revisão sistemática / The use of probiotics in gastrointestinal autoimmune diseases: A systematic review. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 6, p. 17872–17893, 2020.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **The Journal of applied bacteriology**, v. 66, n. 5, p. 365–378, maio 1989.

FERNANDES, Gabriela Rocha. Aplicações Tecnológicas Atuais E Potenciais No Mercado Para Alimentos Probióticos. p. 43, 2013.

GONÇALVES, M. Desenvolvimento e caracterização de queijo tipo quark simbiótico. 2009.

HASSAN, M. et al. Natural antimicrobial peptides from bacteria: Characteristics and potential applications to fight against antibiotic resistance. **Journal of Applied Microbiology**, v. 113, n. 4, p. 723–736, 2012.

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

HUANG, S. et al. Spray drying of probiotics and other food-grade bacteria: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 63, p. 1–17, 2017.

JACOBY, J. T. et al. Uso De Pré, Pró E Simbióticos Como Coadjuvantes No Tratamento Do Câncer Colorretal. **Clinical & Biomedical Research**, v. 37, n. 3, p. 232–246, 2017.

- JUNIOR, H.; SOUZA, B. D. E. HUGO JUNIOR BARBOZA DE SOUZA DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS SIMBIÓTICAS EM QUEIJO TIPO MINAS PADRÃO: EFEITO DA INULINA NA VIABILIDADE DE LACTOBACILUS ACIDOPHILUS LAVRAS MG. 2020.
- KRASAEKOOPT, W.; BHANDARI, B.; DEETH, H. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. **International Dairy Journal**, v. 13, n. 1, p. 3–13, 2003.
- KURITZA, L. N.; WESTPHAL, P.; SANTIN, E. Probióticos na avicultura. **Ciencia Rural**, v. 44, n. 8, p. 975–979, 2014.
- LAGES, P. C.; GENEROSO, S. V; CORREIA, M. I. T. D. Postoperative symbiotic in patients with head and neck cancer: a double-blind randomised trial. **The British journal of nutrition**, v. 119, n. 2, p. 190–195, jan. 2018.
- LEW, L. C.; CHOI, S. B. Effects of ultrasonication on the production of hyaluronic acid by lactobacilli EFFECTS OF ULTRASONICATION ON THE PRODUCTION OF HYALURONIC ACID BY LACTOBACILLI. n. July 2017, 2014.
- LI, Y. O.; DIOSADY, L. L.; WESLEY, A. S. Iodine stability in iodized salt dual fortified with microencapsulated ferrous fumarate made by an extrusion-based encapsulation process. **Journal of Food Engineering**, v. 99, n. 2, p. 232–238, 2010.
- LILLY, D. M.; STILLWELL, R. H. PROBIOTICS: GROWTH-PROMOTING FACTORS PRODUCED BY MICROORGANISMS. **Science** (**New York, N.Y.**), v. 147, n. 3659, p. 747–748, fev. 1965.
- LISERRE, A. M.; RÉ, M. I.; FRANCO, B. D. G. M. Microencapsulation of Bifidobacterium animalis subsp. lactis in Modified Alginate-chitosan Beads and Evaluation of Survival in Simulated Gastrointestinal Conditions. **Food Biotechnology**, v. 21, n. 1, p. 1–16, 6 mar. 2007.
- LIU, X. D. et al. Characterization of structure and diffusion behaviour of Ca-alginate beads prepared with external or internal calcium sources. **Journal of Microencapsulation**, v. 19, n. 6, p. 775–782, 1 jan. 2002.
- MEDEIROS, K. M. G. DE; TAVARES, R. L. Probióticos Como Coadjuvante Na Prevenção E/Ou No Tratamento Do Câncer Colorretal. **Revista Diálogos em Saúde**, v. 1, n. 2, p. 1689–1699, 2018.
- MENEZES, C. R. DE; DURRANT, L. R. Xilooligossacarídeos : produção, aplicações e efeitos na saúde humana. p. 587–592, 2008.
- MORAES, F. P. Alimentos Funcionais E Nutracêuticos: Definições, Legislação E Benefícios À Saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 109–122, 2007.
- MOTA, R. A. et al. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresitência bacteriana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 42, n. 6, p. 465, 2005.
- NAISSINGER DA SILVA, M.; TAGLIAPIETRA, B. L.; RICHARDS, N. S. P. DOS S. Encapsulation, storage viability, and consumer acceptance of probiotic butter. **Lwt**, v. 139, n. August 2020, p. 110536, 2021.

NATH, A. et al. Biological activities of lactose-based prebiotics and symbiosis with probiotics on controlling osteoporosis, blood-lipid and glucose levels. **Medicina (Lithuania)**, v. 54, n. 6, 2018.

OLIVEIRA, J. L. DE; ALMEIDA, C. DE; BOMFIM, N. DA S. a Importância Do Uso De Probióticos Na Saúde Humana. **Unoesc & Ciência - ACBS**, v. 8, n. 1, p. 7–12, 2017.

OLIVEIRA, M. N. DE et al. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 1, p. 1–21, 2002.

PAPIZADEH, M. et al. Probiotic characters of Bifidobacterium and Lactobacillus are a result of the ongoing gene acquisition and genome minimization evolutionary trends. **Microbial pathogenesis**, v. 111, p. 118–131, out. 2017.

PATEL, R. P.; PATEL, M. P.; SUTHAR, A. M. Spray drying technology: An overview. **Indian Journal of Science and Technology**, v. 2, p. 44–47, 1 jan. 2009.

PEREIRA, M. M. C. et al. Principais Mecanismos De Ação De Aditivos Probióticos Na Suinocultura. p. 289–301, 2021.

PERRICONE, M. et al. Challenges for the production of probiotic fruit juices. **Beverages**, v. 1, n. 2, p. 95–103, 2015.

PIMENTEL, T. C.; GARCIA, S.; PRUDENCIO, S. H. De Frutanos Tipo Inulina. p. 103–118, 2012.

POSSER SIMEONI, C. et al. MICROENCAPSULAÇÃO DE PROBIÓTICOS: INOVAÇÃO TECNOLÓGICA NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS Microencapsulation of probiotics: technological innovation in the food industry. **Ed. Especial Mai**, p. 66–75, 2014.

PROTIC, M. et al. Mechanism of diarrhea in microscopic colitis. **World Journal of Gastroenterology**, v. 11, n. 35, p. 5535–5539, 2005.

QUEIROZ, L. et al. Microencapsulação de probióticos : avanços e perspectivas. p. 1309–1316, 2013.

RAFTER, J. Probiotics and colon cancer. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 17, n. 5, p. 849–859, 2003.

RAIZEL, R. et al. Efeitos do consumo de probióticos, prebióticos e simbióticos para o organismo humano = Effects of probiotics, prebiotics and synbiotics consumption on the human organism. **Ciência & Saúde**, v. 4, n. 2, p. 66–74, 2011.

RAUCH, M.; LYNCH, S. V. The potential for probiotic manipulation of the gastrointestinal microbiome. **Current opinion in biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 192–201, abr. 2012.

REIS, J. A. DOS [UNESP]. Bebidas lácteas fermentadas: evolução da microbiota durante a fabricação, identificação de fungos leveduriformes e ação de culturas probióticas sobre os leveduriformes. **Aleph**, p. 155 f.: il., 2012.

RIBAS BARRETO, A. et al. Materiais de revestimento utilizados na microencapsulação de probióticos. **Ciência e Natura**, v. 37, p. 164, 2015.

- RONDANELLI, M. et al. Using probiotics in clinical practice: Where are we now? A review of existing meta-analyses. **Gut microbes**, v. 8, n. 6, p. 521–543, nov. 2017.
- SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 1, p. 1–16, 2006.
- SALGADO, J. P. P.-S. P. Alimentos funcionais. Oficina de Textos, , 2017.
- SALMINEN, S. et al. Demonstration of safety of probiotics a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 44, n. 1, p. 93–106, 1998.
- SCHUCK, P. et al. Recent advances in spray drying relevant to the dairy industry: A comprehensive critical review. **Drying Technology**, v. 34, n. 15, p. 1773–1790, 17 nov. 2016.
- SHEN, Z. H. et al. Relationship between intestinal microbiota and ulcerative colitis: Mechanisms and clinical application of probiotics and fecal microbiota transplantation. **World Journal of Gastroenterology**, v. 24, n. 1, p. 5–14, 2018.
- SILVA, K. C. G. et al. Symbiotic microencapsulation to enhance Lactobacillus acidophilus survival. **LWT Food Science and Technology**, v. 89, n. October 2017, p. 503–509, 2018.
- SOUZA, F. S. et al. Prebióticos, probióticos e simbióticos na prevenção e tratamento das doenças alérgicas. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 28, n. 1, p. 86–97, 2010.
- TALBOT, G. H. β-Lactam antimicrobials: what have you done for me lately? **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1277, p. 76–83, jan. 2013.
- TD, H.; PL, L. Viabilidade De Lactobacillus Casei Em Alimento Probiótico Infantil Relacionada a Vida-De-Prateleira Lactobacillus Casei Viability in Child Probiotic Food Related To Shelf-Life. **Revista Saúde**, v. 3, n. 3, p. 10–15, 2009.
- SILVEIRA, Ericka Oliveira da. Desenvolvimento de bebida láctea achocolatada de cabra contendo Bifidobacterium lactis, inulina e frutooligossacarídeos. Tecnologia, C. D. E. 2014.
- TRIPATHI, M. K.; GIRI, S. K. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. **Journal of Functional Foods**, v. 9, p. 225–241, 2014.
- VIEIRA, Mirisneide Ladislau. **Sugestão de protocolo para controle de qualidade microbiológico em alimentos contendo Lactobacillus acidophillus e Bifidobacterium bifidum**. 2011. 1-62 p. Monografias de Especialização (Especialização em Microbiologia) Universidade Federal de Minas Gerais, [S. l.], 2011. Disponível em: http://hdl.handle.net/1843/BUOS-99UJRS. Acesso em: 18 maio 2022
- VONDRUSKOVA, H. et al. Alternatives to antibiotic growth promoters in prevention of diarrhoea in weaned piglets: A review. **Veterinarni Medicina**, v. 55, n. 5, p. 199–224, 2010.
- WOLLHERR, D. Probióticos E a Indústria De Alimentos: Uma Visão Geral. **Structure**, v. 1, n. 2, p. 1–14, 2019.
- YAO, M. et al. Enhanced viability of probiotics (Pediococcus pentosaceus Li05) by encapsulation in microgels doped with inorganic nanoparticles. **Food Hydrocolloids**, v. 83, n. April, p. 246–252, 2018.

ZHANG, L.; LOU, Y.; SCHUTYSER, M. A. I. 3D printing of cereal-based food structures containing probiotics. **Food Structure**, v. 18, p. 14–22, 2018.