
Probióticos: inovações no desenvolvimento de formulações de alimentos funcionais não convencionais

Fernanda Weber Bordini, Júlia Cristina Fernandes, Viviane Livia Carvalho Souza, Elaine Cristina Galhardo, Moysés Estevão de Souza Freitas Pehrson, Ismael Maciel de Mancilha.

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-84548-09-1.c4>

Resumo

Alimentos funcionais probióticos são alvo constante de estudos, visto a significância de seus benefícios à saúde humana e dos animais domésticos. Entretanto, a necessidade de se relacionar os respectivos efeitos benéficos a viabilidade celular destes microrganismos tem sido questionada, surgindo então novos termos como os para-probióticos e pós-bióticos. Sabe-se ainda que a matriz láctea é a mais promissora para o desenvolvimento de alimentos probióticos, como leites fermentados, iogurtes, queijos e até mesmo colostro. Porém novas matrizes não-lácteas têm sido exploradas como os derivados cárneos e vegetais, propiciando a geração de alimentos probióticos adequados à população que não pode consumir alimentos de origem láctea, especificamente aqueles indivíduos que apresentam intolerância a lactose ou alergia à proteína do leite de vaca, bem como os veganos, entre outros. Assim, uma vasta gama de alimentos tem sido desenvolvida em diferentes matrizes tendo como um dos desafios a manutenção da viabilidade celular das respectivas cepas com vistas a se atingir a concentração celular mínima preconizada pela legislação a fim de se observar os respectivos efeitos à saúde do hospedeiro. Neste contexto, a técnica de microencapsulação apresenta-se como alternativa para contornar tais desafios. Assim, a escolha da técnica, bem como os materiais encapsulantes são essenciais para o sucesso deste desenvolvimento.

Palavras-chave: alimentos funcionais não convencionais, lácteos, não lácteos, probióticos, microencapsulação.

1. Introdução

De acordo com a FAO/WHO (2002) probióticos são considerados como "*microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro*". Tal definição foi referendada e

mantida, em 2013, por nutricionistas, microbiologistas e fisiologistas, membros da Associação Científica Internacional para Probióticos e Prebióticos (ISAPP), que também reavaliaram os termos prebiótico em 2017 (GIBSON *et al.*, 2017) e simbióticos em 2020 (SWANSON *et al.*, 2020), assim como, o termo prebiótico, que é considerado como *“um composto que é utilizado seletivamente por microrganismos hospedeiros que conferem benefícios à saúde”*. Neste contexto, simbiótico foi definido como *“uma mistura compreendendo microrganismos vivos e substrato(s) seletivamente utilizados por microrganismos hospedeiros que conferem um benefício à saúde do hospedeiro”*, o que equivale a uma associação de probióticos e prebióticos (SWANSON *et al.* 2020).

Entretanto, os avanços da ciência associados às novas descobertas, trouxeram a tona novos termos como “paraprobióticos ou probióticos inativados”, bem como “probióticos fantasmas”, os quais foram definidos por Taverniti; Guglielmetti (2011) como *“células microbianas não viáveis (intactas ou rompidas) ou extratos celulares brutos (com composição química complexa), que quando administrados (oralmente ou topicamente) em quantidades adequadas, conferem benefícios ao consumidor humano ou animal”*, quebrando, assim, o paradigma que apenas células vivas eram capazes de exercer efeito benéfico sobre o hospedeiro. Neste contexto, surgiu o termo “pós-bióticos” que correspondem aos metabólitos resultantes da atividade metabólica desses microrganismos. O termo posbióticos foi cunhado por Tsilingiri *et al.* (2012) e Tsilingiri; Rescigno (2013) como *“Metabólitos solúveis produzidos por microrganismos probióticos capazes de beneficiar a saúde independentemente da presença de células viáveis”*. Já o termo psicobiótico proposto por Dinan; Stanton; Cryan (2013), corresponde a *“micro-organismos vivos que quando ingeridos em quantidades adequadas produzem benefícios à saúde de pacientes acometidos por doenças psiquiátricas”*, sendo considerado como uma subcategoria de probióticos. Adicionalmente, o termo “psicobiótico” relaciona os respectivos benefícios a metabólitos neuroativos como ácido gama-aminobutírico (GABA) e serotonina produzidos pelos microrganismos probióticos viáveis no TGI, os quais interferem positivamente no funcionamento do eixo intestino-cérebro (DINAN, STANTON e CRYAN, 2013; LI *et al.*, 2009; TAKEDA *et al.*, 2011; BISWAS *et al.*, 2013; HSIEH *et al.*, 2016; JANG *et al.*, 2018; MAEHATA *et al.*, 2021; TRAN *et al.*, 2022). Após anos de discussão na

comunidade científica em torno desta terminologia, Salminen *et al.* (2021a) em conjunto com membros da ISAPP (*International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics*) propuseram a junção dos termos “paraprobióticos”, “probióticos fantasmas”, “metabióticos”, “lisados bacterianos”, e “parapsicobióticos” em um único termo, “pósbióticos”, com objetivo de se evitar o emprego de número excessivo de terminologias para produtos essencialmente similares. Enfatizaram ainda que estes termos deveriam consistir de preparações complexas compostas de células inativadas e/ou seus componentes e metabólitos, e não de metabólitos solúveis purificados, sem a presença de biomassa celular como álcoois, proteínas, cetonas, ácidos orgânicos, exopolissacarídeos e compostos quimicamente sintetizados. Para estes metabólitos, purificados ou parcialmente modificados, deveria se adotar a nomenclatura de substâncias químicas envolvidas e, então, removidos da categoria dos “posbióticos”. Outra alteração proposta pelos autores, consiste na eliminação do requisito referente à necessidade de que os respectivos fragmentos ou componentes celulares fossem originários de cepas reconhecidamente probióticas.

A evolução nos conhecimentos sobre os efeitos da microbiota na saúde do hospedeiro está sustentada principalmente no processo de fermentação espontânea, que desde a antiguidade era amplamente utilizado, a princípio, para a conservação de alimentos. Para atingir este objetivo, as condições físico-químicas dos alimentos eram empiricamente modificadas (atividade de água, anaerobiose, temperatura, adição de sal, entre outras) para que espécies microbianas naturalmente presentes nos mesmos se desenvolvem numa sequência natural de crescimento, que por sua vez promoviam novas modificações físico químicas tornando o alimento um meio progressivamente seletivo. Estas modificações realizadas pela microbiota eram resultantes da produção de ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio, bacteriocinas e outras substâncias, garantindo a extensão do período de conservação destes alimentos ao inibir o crescimento de microrganismos indesejáveis.

Dentre os alimentos de origem vegetal destacam-se chucrute, pickles, kimchi, kombucha, natto, kvass, kefir de água, cerveja, vinho, dentre outros. Em relação aos alimentos de origem animal encontram-se kefir de leite, coalhada “natural”, queijos artesanais, hidromel, salame entre outros. (DIMIDI *et al.*, 2019).

Estes alimentos se enquadram na categoria dos alimentos funcionais, os quais, além do seu valor nutricional desempenham papel fundamental na promoção da saúde do consumidor. Esta propriedade está sustentada na diversidade de espécies microbianas, principalmente bactérias e leveduras, presentes nos alimentos in natura, que se encontram em equilíbrio e por meio dos seus metabolitos interferem no desenvolvimento das espécies patogênicas e/ou oportunistas. Assim, dentre as espécies benéficas encontram-se aquelas consideradas probióticas, as quais, se consumidas em quantidades adequadas e com frequência conferem benefícios à saúde incluindo a melhoria do funcionamento do organismo e a prevenção de diversas doenças, tendo como consequência a melhoria na qualidade de vida. Sustentada nestes conhecimentos, a Biotecnologia tem contribuído para o desenvolvimento de novas formulações de produtos probióticos, bem como para a descoberta e avaliação de novas cepas microbianas.

No tocante aos alimentos cárneos probióticos, observa-se que estes ainda são pouco explorados, tendo em vista as dificuldades de se conciliar questões tecnológicas, como equipamentos e protocolos de processamento, aos parâmetros de qualidade, segurança e funcionalidade do alimento formulado. Assim, a manutenção da viabilidade dos microrganismos probióticos em um produto cárneo ao longo das etapas de processamento e armazenamento exige o emprego de técnicas específicas, como a imobilização ou encapsulamento dos mesmos em diferentes matrizes. Destaca-se ainda a necessidade de se conhecer o comportamento dos microrganismos probióticos em meios contendo diferentes concentrações de sal, nitrato, nitrito, condimentos, entre outros (TRABELSI *et al.* 2019). Assim, o desenvolvimento de novos produtos cárneos probióticos tem se destacado no segmento dos alimentos funcionais, com ênfase para a inoculação de cepas de *Lactobacillus* sp na fabricação de salsichas com a função de inibir espécies patogênicas como *Salmonella* sp e *Listeria* sp. Neste caso, enzimas redutases sintetizadas pela referida cepa probiótica auxiliam na degradação do nitrito sem alterar as condições de conservação deste alimento. Dessa forma, a inoculação de microrganismos probióticos, especialmente na forma encapsulada, no processamento de produtos cárneos é uma inovação relevante no campo dos alimentos funcionais.

Atualmente o mercado de alimentos probióticos é representado principalmente por produtos lácteos, sendo que 36,6% é ocupado pelos leites fermentados, tendo em vista suas características como elevada aceitação sensorial, valor nutritivo e a possibilidade de veicular microrganismos com propriedades específicas (MARKETS AND MARKETS, 2022) Neste contexto, o leite e seus derivados, devido às suas características físico químicas, são considerados meios adequados para o desenvolvimento de novas formulações de alimentos funcionais. Ademais, a composição destes meios contribui para a sobrevivência dos microrganismos probióticos na presença do suco gástrico, particularmente por seu efeito tamponante e protetor, além de auxiliar a colonização das cepas probióticas no trato gastrointestinal do hospedeiro.

Dentre as diversas inovações avaliadas neste segmento, destaca-se a técnica de microencapsulação de cepas probióticas, que consiste em revestir as células em material protetor com o objetivo de manter a viabilidade celular exigida para que um alimento seja caracterizado como probiótico durante o período de validade do produto. Esta inovação permite criar condições de proteção destes microrganismos quando sujeitos a condições adversas observadas nas diferentes etapas do processamento, bem como durante o armazenamento e a passagem pelo trato gastrointestinal. Assim, a seleção dos materiais para compor a matriz é dependente da técnica de encapsulação empregada, bem como o tamanho das cápsulas, os quais são fatores que interferem no nível de proteção da cepa probiótica (NUNES *et al.* 2018; ROSOLEN *et al.*2019).

2. Probióticos em diferentes matrizes

2.1. Matriz láctea

Na antiguidade, o excedente da produção diária de leite era submetido a algum tipo de processamento para gerar derivados com maior vida de prateleira. Além disso, o leite é um alimento acessível a maior parte da população e é um meio propício para o crescimento de micro-organismos em geral devido às suas características nutricionais diversificadas. Estas características favorecem a elaboração de formulações de derivados lácteos enriquecidos com microrganismos probióticos, como iogurtes, leites fermentados, queijos, requeijão, dentre outros.

De acordo com Fox *et al.* (2017), queijo é o termo genérico atribuído a um grupo de produtos fermentados de leite, obtidos após a coagulação (ácida ou enzimática), precipitação e separação da principal proteína do leite, a caseína. Este composto tem como origem etimológica a palavra “*casèu*”, que significa queijo em latim. Historicamente estes alimentos foram produzidos de maneira acidental na tentativa de reduzir o excesso de umidade de leites fermentados e assim preservar seus nutrientes por mais tempo. Os primeiros queijos que se tem evidência eram produzidos por coagulação ácida, obtidos a partir do leite fermentado de forma espontânea ou natural. Neste processo a microbiota autóctone metaboliza a lactose gerando ácidos orgânicos, em especial ácido láctico, resultando no abaixamento do pH até atingir o ponto isoelétrico da caseína tendo como consequência sua coagulação. Na sequência, com a continuidade do abaixamento do pH, observa-se a precipitação da caseína que, posteriormente, será separada do soro, dando origem à massa de caseína que, devidamente processada, dará origem aos diferentes tipos de queijos.

Tendo em vista inovações tecnológicas implementadas nas últimas décadas, na atualidade é dispensável a utilização de microrganismos para promover a coagulação da caseína, uma vez que este fenômeno é resultante da utilização de enzimas e ácidos orgânicos, adicionados ao leite pasteurizado, os quais são produzidos por processos fermentativos. Assim, cepas específicas de microrganismos, adquiridas na forma de culturas pré-ativadas (“starter”), são empregadas com vistas a conferir características sensoriais específicas, obtidas ao longo do processo de maturação. Neste contexto, destaca-se ainda a utilização da técnica de “backslapping”, também conhecida como soro fermento, pingo ou fermento endógeno, que consiste na utilização do soro no processo de fabricação de queijo do dia anterior, o qual é constituído de cepas específicas de microrganismos naturalmente selecionadas, bem como a utilização da “rala” (porção de queijos maturados “que deram certo” ralados e adicionados ao leite no início do processo) (OLIVEIRA *et al.*, 2018). Destaca-se que esta técnica é comumente empregada na fabricação dos diferentes tipos de queijos artesanais, os quais são produzidos a partir de leite cru em conformidade com as legislações regionais pertinentes. Assim, essa microbiota natural, ao longo do processo de maturação, por meio de inúmeras reações bioquímicas, gera compostos que conferem características sensoriais específicas de cada tipo de queijo. Ademais,

criam condições que conferem estabilidade microbiológica e são inadequadas para o crescimento de cepas de microrganismos deteriorantes, toxigênicos e patogênicos, garantido a segurança do consumidor (FOX *et al.* 2015).

Alimentos fermentados tradicionais, como kefir e queijos artesanais, podem ser considerados como reservatórios naturais de espécies de microrganismos que apresentam propriedades probióticas. O isolamento e caracterização destas espécies, a partir destes alimentos, reduz a necessidade de extensivas avaliações no que se refere à segurança alimentar, tendo em vista que estes alimentos têm sido utilizados na alimentação humana há muitos anos sem prejuízos à saúde do consumidor. Neste contexto, diversas pesquisas (ZAGO *et al.*, 2011; JERONYMO-CENEVIVA *et al.*, 2014; JABBARI *et al.*, 2017; CASAROTTI *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2020; MARGALHO *et al.*, 2021) têm sido realizadas com sucesso tendo como objetivo isolar cepas de microrganismos que apresentam propriedades probióticas a partir de diferentes tipos de queijo artesanal. Este procedimento demonstra que queijos artesanais consistem de uma matriz adequada para o crescimento de microrganismos probióticos, podendo ser, portanto, utilizados como veículo para espécies probióticas isoladas de outras fontes.

Homayouni *et al.* (2020) afirmam que tanto queijos frescos quanto maturados apresentam características adequadas para atuarem como veículos para a administração de microrganismos probióticos. Os primeiros apresentam características físico-químicas que consistem, principalmente, de elevado teor de umidade, pH entre 5.00 e 6.00 e reduzido teor de sal. Estas características favorecem sua utilização como veículo para espécies probióticas e, associado a refrigeração, retarda a produção de metabólitos oriundos da fermentação que poderiam alterar negativamente as propriedades sensoriais do produto. Por outro lado, devem ser produzidos a partir de leite pasteurizado, mantidos sob refrigeração e apresentam vida de prateleira menor em relação aos queijos maturados. No tocante aos queijos maturados, observa-se que estes apresentam características físico-químicas (menor atividade de água, maior teor de sal e pH entre 4.00 e 5.00) mais inóspitas, que impedem o desenvolvimento de espécies de microrganismos oportunistas, mas que também podem inibir o desenvolvimento de algumas espécies de microrganismos probióticos. Desta forma, estas características devem ser consideradas dentre os critérios de

seleção de cepas probióticas para que possam ser veiculadas neste alimento, além de sua interferência nas propriedades sensoriais do produto (HOMAYOUNI *et al.* 2020). Por outro lado, os queijos maturados apresentam vantagens como maior vida de prateleira e por consistir de uma matriz que oferece maior proteção aos microrganismos probióticos durante a passagem pelo TGI. Esta propriedade se deve à presença de substâncias capazes de tamponar o pH estomacal, como aminoácidos livres resultantes das reações de proteólise parcial observadas durante as etapas de coagulação e maturação.

Neste contexto, Stanton *et al.* (1998) demonstraram que queijo do tipo cheddar com 35-36% de umidade, 1,7-1,8% NaCl e pH de 5,20, pode ser manufaturado para carrear *Lactobacillus paracasei* NFBC 338, podendo sustentar entre 10^7 e 10^8 UFC/g de queijo durante um período de maturação de 200 dias. Abbas *et al.* (2022) desenvolveram queijo cheddar probiótico que apresenta um pH relativamente elevado e alto teor de gordura, o que permite observar um efeito tampão, o qual interfere na ação do ácido láctico produzido pelos micro-organismos probióticos, interferindo na viabilidade das respectivas cepas. Leeuwendaal *et al.* (2022) avaliaram queijo cheddar e leite fermentado (controle) como matriz para o desenvolvimento de uma cepa de *Lactobacillus*, considerando como resposta a resistência da referida cepa ao trato gastrointestinal simulado. Os resultados demonstraram que o queijo cheddar conferiu proteção à referida cepa resultando em valor de sobrevivência dez vezes superior em relação ao controle, atingindo níveis que variaram entre 10^7 – 10^8 UFC/g de queijo. Este efeito foi atribuído à presença dos referidos aminoácidos livres resultantes da ação proteolítica da microbiota do leite, bem como do agente coagulante.

Langa *et al.*, (2021) avaliaram a incorporação de preparações probióticas compostas por diferentes combinações de *L. lactis* INIA 650 pT1-aFP, *L. paracasei* INIA P272 e *B. breve* INIA PP734, em queijo de baixa umidade elaborado a partir de leite de ovelha, avaliando como resposta a sobrevivência das referidas cepas, bem como a produção, *in situ* e *in vitro*, de nisina pela cepa *L. lactis* INIA 650 pT1-aFP. Verificaram que as cepas avaliadas mantiveram concentrações acima de 10^7 UFC/g durante os 28 dias de maturação, com destaque para *L. lactis* (produtora de nisina) que apresentou uma população de 10^9 UFC/g durante este período. Observaram também a produção de

quantidades significativas de nisina a partir de 24h da manufatura dos queijos até o final da etapa de maturação, assim como durante o período de exposição ao trato intestinal simulado. Estes resultados demonstraram a viabilidade técnica de se produzir queijos probióticos contendo cepas bacteriocinogênicas, visando à produção da bacteriocina *in situ*, contribuindo para a estabilidade microbiológica do produto, tendo como consequência a segurança do consumidor, bem como favorecendo a modulação da microbiota intestinal.

O emprego de culturas probióticas na fabricação de queijos argentinos de média umidade foi avaliado por Bergamini *et al.* (2005), sendo reportado que a incorporação de culturas probióticas na forma liofilizada no início do processo se mostrou mais viável quando comparado ao uso da cultura industrial ativada em leite. Os resultados mostraram que as populações foram semelhantes após a etapa de maturação e, também, que o emprego da cultura industrial pré-cultivada em leite resultou em queijos com pH mais baixo, de textura menos cremosa e sabor mais ácido, resultando em menor aceitação por parte dos provadores.

A presença de microrganismos probióticos viáveis em queijos confere proteção e contribui para a conservação destes alimentos, tendo em vista que as condições impostas por estas cepas interferem no desenvolvimento de espécies patogênicas, toxigênicas e deteriorantes. Assim, Pehrson *et al.* (2020) estudaram o efeito da inoculação de cepas probióticas no leite cru empregado no processo de fabricação de queijo tipo parmesão da mantiqueira (Minas Gerais), tendo como controle o leite cru inoculado com fermento endógeno (pingo). Avaliaram ainda o efeito deste procedimento em três estações do ano considerando como indicador a composição da microbiota dos queijos ao longo de 45 dias de maturação. Os resultados revelaram que a microbiota dos queijos maturados apresentou populações significativamente menores de coliformes termotolerantes viáveis, *Staphylococcus aureus* coagulase positiva e espécies da família *Enterobacteriaceae* quando o leite cru foi inoculado com as cepas probióticas. Constataram ainda que os queijos com probióticos apresentaram parâmetros microbiológicos compatíveis com os padrões estabelecidos pela legislação desde o início do período de maturação. A carga microbiana de *Enterobacteriaceae* variou nas diferentes estações do ano, aparentando estar positivamente correlacionada às estações chuvosas e quentes, nas quais a

manutenção de condições apropriadas de higiene é mais difícil em pequenas propriedades rurais.

“Queijos tradicionais avançados” foram conceituados por Fusco *et al.* (2019) que desenvolveram uma tecnologia de produção de queijos maturados que consistiu da inoculação de cepas autóctones, selecionadas dentre a microbiota do inóculo endógeno de queijos tradicionais italianos (Giuncata e Caciotta Leccese). As cepas autóctones foram selecionadas considerando como critérios positivos a produção de exopolissacarídeos, metabolismo de citrato (associado à produção de compostos de aroma), potencial de acidificação, atividades lipolíticas e proteolíticas, bem como a capacidade de inibir patógenos. Dentre as espécies isoladas destacam-se *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus delbrueckii* e *Streptococcus macedonicus* a qual foi utilizada como cultura starter para produção do queijo. A segunda estratégia empregada foi o enriquecimento destes queijos com a cepa probiótica *Lactocaseibacillus rhamnosus* DSM 16605 (antes classificada como *Lactobacillus rhamnosus*) isolada do trato gastrointestinal humano. Os resultados revelaram que a cepa probiótica (*Lb. rhamnosus* LR04) foi capaz de sobreviver às condições das diferentes etapas do processo de produção, bem como à passagem pelo TGI, tendo sido recuperada nas fezes de voluntários saudáveis após uma semana de consumo regular dos queijos. Adicionalmente, os autores concluíram que a combinação da inoculação de cepas selecionadas do fermento endógeno associada a respectiva cepa probiótica contribuiu positivamente para as características sensoriais dos queijos. Os autores reportaram ainda que as cepas autóctones selecionadas sobreviveram ao processo produtivo, bem como ao período de maturação de 60 dias e que a associação das cepas autóctones selecionadas à cepa probiótica gerou melhorias nas características sensoriais dos queijos, sendo melhor avaliadas pelos provadores experientes.

A incorporação de preparações probióticas na fabricação de queijos, elaborados ou não com leite cru, representa um procedimento relevante no segmento de alimentos funcionais. Essa técnica permite a agregação de valor, além de conferir propriedades nutricionais e funcionais em um alimento que é amplamente aceito e consumido em âmbito mundial. Inovações neste segmento consiste no desenvolvimento de procedimentos de bioprospecção de novas

cepas probióticas, entendimento dos respectivos mecanismos de ação e conhecimento das características fermentativas das cepas selecionadas. Acrescenta-se ainda a adequação de tecnologias de produção, bem como divulgação dos potenciais benefícios do consumo regular de alimentos probióticos para a saúde, embasados em evidências científicas. Além destas, o emprego de cepas probióticas selecionadas como adjunto na fabricação de queijos artesanais pode contribuir para acelerar a estabilização da microbiota deste alimento evitando, assim, a formação de off-flavours e assegurando o atendimento aos padrões de qualidade, microbiológico e toxicológico, estabelecidos na legislação como a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 331/2019 e a Instrução Normativa (IN) 60/2019.

Outros tipos de laticínios têm sido utilizados como matriz na confecção de alimentos funcionais como requeijão cremoso, que consiste de um produto genuinamente brasileiro com características adequadas para veicular cepas de microrganismos probióticos. Neste contexto, Drunkler (2009) inovou com vistas a produção de uma formulação de requeijão cremoso simbiótico por meio da inoculação de *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* Bb-12 e compostos prebióticos como inulina e oligofrutose. Os resultados revelaram uma população de células viáveis em torno de 10^6 UFC.g⁻¹ após 60 dias de armazenamento sob refrigeração. Ainda neste segmento, Souza *et al.*, (2020a), avaliaram o desenvolvimento de formulações de requeijão cremoso probiótico inoculando um “pool” de espécies de *Lactobacillus* (10^{10} a 10^{13} UFC. g⁻¹) Os resultados revelaram que após 65 dias a 5°C, as formulações avaliadas apresentaram redução nos níveis de células viáveis no máximo a três ciclos logarítmicos, além de apresentar características físico químicas e microbiológicas em conformidade com os padrões preconizados pela ANVISA (BRASIL, 2019). Resultados semelhantes foram reportados por Speranza *et al.* (2018), em uma formulação de *cream cheese* inoculada com *Bifidobacterium. animalis* subsp. *lactis* DSM 10140 e *L. reuteri* DSM 20016, armazenada por 28 dias sob refrigeração. De forma similar, Teixeira (2012), estudando requeijão cremoso inoculado com *L. acidophilus* e *B. bifidum*, verificou que as cepas utilizadas mantiveram a viabilidade celular estável após o período de armazenamento por 15 dias a 10 °C. Após esse período, foi observada uma redução na viabilidade da população

de *Lactobacillus* equivalente a dois ciclos logarítmicos, atingindo uma população de $4,0 \times 10^7$ UFC.g⁻¹ e $2,0 \times 10^8$ UFC.g⁻¹ de *B. bifidum*.

Estes resultados reforçam o potencial destes derivados lácteos como matriz adequada para carrear microrganismos probióticos. Drunkler (2009) e Souza *et al.*, (2020a) demonstraram, por meio de caracterizações físico químicas e sensoriais, que as alterações resultantes do metabolismo das cepas probióticas não foram significativas o suficiente para descaracterizar as formulações desenvolvidas, as quais se mantiveram em conformidade com os padrões de qualidade estabelecidos pela legislação em vigor (BRASIL, 2019).

Considerando outros tipos de alimentos, relata-se o desenvolvimento de estudos envolvendo a incorporação de *L. acidophilus* e *B. lactis*, em sorvete confeccionado com leite de cabra conforme reportado por Akalin *et al.*, (2018), bem como chocolates contendo *L. paracasei* e *L. acidophilus* acrescido de inulina (KONAR *et al.*, 2018); queijo Minas Frescal contendo *L. acidophilus* LA 14 e *B. longum* BL 05 (LOLLO *et al.*, 2015), “cream cheese” contendo *B. animalis* subsp. *Lactis* DSM 10140 e *L. reuteri* DSM 20016 (SPERANZA *et al.*, 2017). Konar *et al.* (2018) estudaram como matriz chocolate branco sem açúcar inoculado com 10^9 UFC.g⁻¹ de uma cepa de *L. paracasei* na etapa final do processo de fabricação e observaram nenhuma diminuição na viabilidade do probiótico durante 90 dias de armazenamento. Nestes trabalhos, os autores destacaram os respectivos alimentos como matrizes adequadas para incorporação e manutenção das culturas probióticas.

Dentre as principais cepas comerciais empregadas no desenvolvimento e produção de alimentos probióticos destacam-se espécies de bactérias lácticas dos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, bem como espécies de leveduras como *Saccharomyces cerevisiae*, oriundas dos processos de fermentação alcoólica nas usinas alcooleiras e cervejarias, a qual tem sido explorada como substituto de antibióticos na confecção de ração para as diferentes espécies de animais domésticos. Em atenção a *Saccharomyces boulardii*, originalmente isolada de lichia e *Kluyveromyces fragilis*, com destaque para a cepa BO 399 - Turval (TABANELLI *et al.* 2016), vale salientar suas propriedades funcionais específicas, principalmente, no controle de diarreias, bem como no sistema imunológico humano conforme reportado por Smith *et al.* (2016) e Homayouni-Rad *et al.*, (2020), que concluíram que *K. marxianus* pode ser considerada uma

espécie probiótica promissora para ser explorada na confecção de preparações comerciais com aplicações nas áreas médica e alimentícia. Neste contexto, vários suplementos, contendo esta cepa probiótica, estão disponibilizados pela Turval Laboratories (<https://turval.com/company>) nos mercados norte-americanos e europeus, sendo algumas premiadas por inúmeras instituições.

De acordo com Oliveira *et al.* (2022), os sorvetes são considerados um alimento adequado para veicular cepas probióticas, tendo em vista suas características nutricionais aliadas à aceitação por parte da população das diferentes faixas etárias. Trabalhos envolvendo sorvetes probióticos têm sido reportados. Abghari *et al.* (2011), avaliaram a formulação de um sorvete não fermentado contendo *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus rhamnosus*, cujos resultados revelaram uma taxa de sobrevivência adequada das cepas avaliadas, bem como propriedades físico-químicas aceitáveis. Demonstram ainda que as propriedades probióticas das cepas avaliadas, como resistência à bile e ácidos, é dependente das condições de processamento e armazenamento do sorvete.

Prata *et al.*, (2018) avaliaram a viabilidade celular de *Lactobacillus casei* veiculadas em sorvetes a base de leite sem lactose, além da variação do pH, proteína bruta e sólidos solúveis, bem como avaliação sensorial, tendo como controle sorvete sem inoculação. Os resultados revelaram que a contagem de células se manteve constante em 5,49 USF/g após os 45 dias de estocagem e não houve diferença significativa nos demais parâmetros avaliados quando comparados ao controle. A avaliação sensorial revelou uma boa aceitação tendo como respostas “gostei muito” e “gostei moderadamente” comprovando que o sorvete sem lactose apresenta potencial como veículo de culturas probióticas.

Uma outra formulação de sorvete foi avaliada por Silva *et al.* (2020) onde empregou-se como base leite fermentado com grãos de kefir por 24 horas, sendo incorporado na formulação geleia de frutas e pectina como espessante. A avaliação sensorial deste sorvete revelou que o emprego do kefir não conferiu características indesejáveis ao sorvete e que este pode ser comercializado como sorvete com propriedades probióticas. Ainda neste segmento, Leite (2021) avaliou a influência da matriz láctea para confecção de gelados comestíveis a base de leite fermentado ou não, com ou sem lactose. As 4 formulações desenvolvidas foram inoculadas com a cultura ABT-5 (*Lactobacillus acidophilus* La-5, *Bifidobacterium animalis* Bb-12 e *Streptococcus thermophilus*). Verificou-

se que, nas formulações avaliadas, a viabilidade celular se manteve acima de 6,0 log UFC/g para as cepas probióticas durante o período de armazenamento. No tocante à resistência ao trato gastrointestinal simulado, verificou-se que *L. acidophilus* La-5 não resistiu às condições estudadas. Por outro lado, *Bifidobacterium animalis* Bb-12 apresentou maior resistência nas formulações contendo lactose. Em relação a avaliação sensorial observou-se que não houve diferenças significativas entre as 4 formulações. Carneiro (2020) também desenvolveu uma formulação de sorvete probiótico com a proposta de utilizar co-produtos agroindustriais utilizando cascas do abacaxi, como ingrediente rico em fibras, no desenvolvimento de sorvete contendo *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 como agente probiótico. Verificou-se que a população de *L. rhamnosus* após 90 dias a -18° C foi de 10⁸ log UFC/mL para a formulação controle e de 10⁹ log UFC/mL para a formulação contendo a farinha da casca de abacaxi, demonstrando, assim, sua contribuição na manutenção da viabilidade celular. A análise sensorial revelou níveis de aceitação correspondentes a “gostei muito” e “gostei moderadamente”.

Um outro alimento com potencial probiótico é o colostro bovino. O colostro é a primeira secreção produzida pelas glândulas mamárias após o parto e apresenta níveis nutricionais superiores em comparação aos encontrados no leite (GOMES, 2021; MARTINS *et al.*, 2021). Durante os primeiros dias após o parto, observa-se uma variação significativa na composição do colostro no tocante ao valor nutritivo e propriedades funcionais. Este derivado é caracterizado como “leite de transição” (GUIMARÃES *et al.*, 2018) e apresenta alto teor de sólidos não gordurosos como proteínas, carboidratos, vitaminas e minerais (MARTINS *et al.*, 2021). Entre os nutrientes do colostro, pode-se destacar as imunoglobulinas, classe de proteínas que representa de 70 a 80% das proteínas totais de sua composição. As imunoglobulinas atuam como sinalizadores das células do sistema imunológico e dessa forma, auxiliam no combate às infecções e nas respostas inflamatórias. Outras proteínas encontradas no colostro são a lisozima, lactoferrina e lactoperoxidase, que apresentam ação bactericida e bacteriostática, com a finalidade de proteger o trato gastrointestinal do neonato (PUPPEL *et al.*, 2019). A inclusão de colostro bovino como suplemento na alimentação humana tem sido avaliada por Arslan *et al.* (2021), com o objetivo de promover melhor desempenho de atletas, devido

à concentração elevada de imunoglobulinas. Outros possíveis benefícios, segundo os autores, são a recuperação de quadros clínicos de enterocolites e diarreia.

A utilização de colostro bovino e do leite de transição na alimentação humana é pouco explorada no Brasil devido à rápida deterioração de seus nutrientes, à regulamentação e às dificuldades tecnológicas no processo de coleta e armazenamento (GALDINO, 2021). Nesse sentido, dentre as técnicas de conservação que permitem a manutenção de suas características, está a “ensilagem” do colostro, que consiste na fermentação espontânea do colostro por 21 dias em temperatura ambiente, conforme descrito por Saafeld *et al.* (2013). Este processo permite a obtenção de um derivado rico em espécies de *Lactobacillus sp.* viáveis, sendo algumas com propriedades probióticas, mantendo os demais constituintes como proteínas, matéria seca e gordura semelhantes às do colostro *in natura*. Tendo em vista a ação da microbiota presente naturalmente no colostro, observa-se queda do pH e consequente inibição das espécies de microrganismos oportunistas (SAALFELD *et al.*, 2016). Para comprovar a ação anti-patogênica do colostro fermentado, os autores inocularam o colostro bovino fresco com cepas patogênicas, a saber, *B. abortus*, *E. coli*, *L. interrogans*, *M. bovis*, *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e *S. aureus*. Reportaram que o processo fermentativo ocorreu por 30 dias e que, após 7 dias, não foi observado crescimento das cepas *B. abortus*, *L. interrogans* e *M. bovis* e, após 14 dias de fermentação, não foi verificado crescimento de *E. coli*, *S. aureus*, *S. enteritidis* e *S. Typhimurium*. Relataram ainda que após 30 dias de fermentação foi verificado o desenvolvimento de *B. cereus* e bactérias lácticas, o que demonstra a eficácia da fermentação espontânea como técnica de conservação das propriedades funcionais do colostro.

A partir do colostro bovino fermentado naturalmente Vitola *et al.* (2018) isolaram e caracterizaram a cepa *Lactobacillus casei* CSL3, que posteriormente teve seu desempenho avaliado quando imobilizada em grãos de soja. Os resultados revelaram um aumento na população da referida cepa de 6,23 log UFC/g para 6,71 log UFC/g após 30 dias de armazenamento a 25°C. Assim, concluíram que a soja apresenta características adequadas para ser utilizada como suporte para imobilização de células, bem como apresenta em sua

composição substâncias com propriedades prebióticas, o que contribui para as suas propriedades funcionais.

O colostro bovino submetido ao processo de fermentação espontânea, pode ser utilizado para introduzir propriedades funcionais em derivados de leite. Neste contexto, Cardoso *et al.* (2019), inovaram ao introduzir colostro fermentado por 21 dias em 25°C no processo de fabricação de manteiga, coalhada e ricota. A análise sensorial destes derivados demonstrou boa aceitação com notas acima de 7 para as características de odor, textura e sabor. A utilização de colostro fermentado tem sido avaliada em outros alimentos como biscoitos salgados (ALVES *et al.*, 2013), queijos frescos e maturados (BARBOSA, 2020), iogurte simbiótico (SOUZA, 2015a) e balas de goma (BARTKIENE *et al.*, 2018).

Considerando as propriedades funcionais do colostro bovino, Pacini e Ruggiero (2017) idealizaram uma formulação de leite fermentado à base de culturas de kefir acrescentado de colostro. Neste processo verificaram a formação de compostos bioativos, com destaque para GcMAF (Glycoprotein Macrophage Activating Factor), que apresenta propriedades funcionais relevantes sobre o sistema imune em indivíduos acometidos por uma séria anormalidade. Assim, o efeito positivo da ação de GcMAF tem sido reportado em diversas situações conforme descrito por Pacini *et. al* (2011), Albrachat (2022), Pacini e Ruggiero (2019, 2020), Blythe e Pacini (2017). Considerando o sucesso apresentado pela formulação de leite fermentado a base de kefir e colostro, Pacini e Ruggiero criaram um kit que é comercializado como BRAVO.

Entretanto, desafios ainda são enfrentados pelo setor de lácteos fermentados, onde o incremento da acidez ao longo da vida de prateleira destes derivados é um fator limitante para estender a vida útil destes alimentos funcionais. Nesse contexto, a inclusão de prebióticos pode ser uma alternativa, conforme descrito por Buran *et al.* (2021), que avaliaram as características sensoriais e a viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum* em um produto simbiótico desenvolvido em meio a base de leite de vaca, cabra e fruto-oligosacarídeos (FOS). Os autores reportaram que a viabilidade das referidas cepas após 28 dias de armazenamento foi superior quando se empregou leite de cabra e enfatizaram que a adição de FOS contribuiu de forma

significativa sobre a consistência do produto, bem como na viabilidade das referidas cepas.

Outro aspecto polêmico consiste na necessidade destas cepas estarem viáveis para propiciar benefícios à saúde do consumidor. Neste contexto, Vinderola; Sanders; Salminen (2022), têm demonstrado que a administração de preparações constituídas por células inativas de microrganismos, bem como alguns de seus constituintes celulares ou metabólitos, é capaz de conferir benefícios à saúde do hospedeiro. Assim, destaca-se que preparações probióticas disponíveis para consumo são constituídas de metabólitos, células ativas e células mortas, sendo que algumas das células ativas serão inativadas quando da passagem pelo TGI, desta forma, todos estes constituintes poderão conferir efeitos benéficos ao hospedeiro, os quais têm sido objeto de estudos visando elucidar os respectivos mecanismos de ação para explicar fisiologicamente e em nível humoral e celular a manifestação destes efeitos.

Em atenção ao critério proposto por Salminen *et al.* (2021b) no tocante a origem dos posbióticos, o estudo conduzido por Cardona *et al.* (2016) realizado em ratos e o estudo de Montané *et al.*, (2017) realizado em humanos, demonstraram que a administração por via oral de uma preparação composta por células de *Mycobacterium manresensis*, térmicamente inativadas, conferiu efeitos positivos no que se refere ao impedimento da progressão inflamatória precursora da tuberculose ativa. Ambos Cardona *et al.* (2016) Montané *et al.*, (2017) verificaram que a administração de células inativadas de *M. manresensis* acarretou em aumento significativo nas populações de células T efectoras e de memória específicas no combate de *Mycobacterium tuberculosis*, tanto em indivíduos acometidos por tuberculose latente quanto em indivíduos saudáveis.

2.2. Matrizes não-lácteas

Conforme mencionado anteriormente, matrizes lácteas, são matrizes adequadas para o desenvolvimento, bem como para incorporação de cepas probióticas, entretanto o mercado atual busca por alimentos funcionais confeccionados a partir de matrizes de origem não-láctea. Este comportamento está sustentado na crescente demanda por parte da população que não pode consumir derivados lácteos, seja por intolerâncias, alergias, estilo de vida

(veganos) entre outros. Assim, destaca-se neste segmento o desenvolvimento de formulações probióticas a partir de derivados cárneos e vegetais.

Sustentados nos respectivos conhecimentos e nos benefícios conferidos por preparações probióticas de base não láctea, principalmente no que se refere aos efeitos imunomoduladores, anti inflamatório e anti câncer (Zamberi *et al.*, 2016), Pacini; Ruggiero (2017) apresentaram um novo conceito de probiótico com vistas a modulação do sistema imunológico e propuseram o desenvolvimento de uma formulação probiótica de base não láctea, a qual encontra-se disponibilizada no mercado Europeu. Esta formulação consistiu da dissolução de 5 gramas de Sulfato de Condroitina Sódica (grau alimentar) em um litro de água acrescido de maltodextrina (prebiótico), 18 g de sacarose orgânica, 17 mL de suco de limão e 15 g de ameixa seca. Este meio foi inoculado com uma cultura de Bifidobacteria (80×10^9 células) e cepas de *Lactobacilos*, incluindo *L. rhamnosus*, seguido de incubação de 22°C por 24 h. Os resultados demonstraram elevada concentração celular das cepas probióticas e leveduras (*Kluyveromyces marxianus*) associada a uma população de cepas patogênicas em conformidade com os limites estabelecidos pela legislação. Assim, os autores concluíram que esta bebida pode ser considerada como um novo conceito de probiótico tendo em vista que as cepas empregadas normalmente não são encontradas em formulações não lácteas. Ressaltaram ainda o potencial que glicosaminoglicano e sulfato de condroitina como suplemento alimentar que, além de atuarem como prebiótico, apresentam propriedades funcionais relevantes à saúde humana.

Dentre os alimentos não-lácteos podemos destacar os cárneos, visto que as carnes cruas são ricas em nutrientes e apresentam micro-organismos naturalmente encontrados no ambiente e nos animais, incluindo micro-organismos potencialmente patogênicos, como *E. coli* e *Salmonella sp.* Esses micro-organismos migram da pele, linfonodos ou intestinos do animal abatido durante o manuseio da carcaça no abatedouro ou entre as peças nas “casas de carne” (FELIX, 2020). Apesar dos cuidados e das boas práticas de manuseio e fabricação, a carne crua não é um alimento biologicamente seguro. Por esse motivo, o processo de fermentação de carnes foi empregado por diversas culturas na conservação do alimento por meio da acidificação. A adição de probióticos no processamento de derivados cárneos pode auxiliar na

manutenção da estabilidade físico, química e microbiológica durante o armazenamento, conforme reportado por Trabelsi *et al.* (2019). Estes autores inocularam cepas de *L. plantarum* à carne bovina moída e avaliaram a oxidação de lipídios e degradação de proteínas em amostras armazenadas durante 10 dias a 4 °C. Os resultados apontaram que a cepa probiótica agiu como agente bioprotetor, pois as amostras que receberam a cepa de *L. plantarum* apresentaram textura e cor preservadas após 10 dias de refrigeração.

Dentre as técnicas de preparo e armazenamento de carnes destaca-se a “marinada”, que consiste em manter a carne em uma solução contendo sal, agente acidulante e condimentos, com vistas a melhorar as características sensoriais da carne. Neste sentido Gargi; Sengun (2021), avaliaram a influência de cepas *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus* sobre as propriedades sensoriais de carne bovina marinada por 48 h a 4°C. Os resultados revelaram melhoras nas propriedades sensoriais da carne, e redução de até 50% da viabilidade de bactérias potencialmente patogênicas como *Listeria monocytogenes* e *Salmonella Typhimurium* que comumente estão presentes na carne crua. Estes resultados se devem à ação das cepas probióticas avaliadas por meio da produção de ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio e bacteriocinas.

O nitrito é um aditivo responsável por inibir o crescimento de patógenos e conferir cor avermelhada aos derivados cárneos embutidos. Sua adição é regulada de forma rígida pois é uma substância com potencial carcinogênico (OLIVEIRA *et al.*, 2021). Dessa forma, na busca por substitutos e considerando a capacidade de *L. plantarum* de produzir as enzimas nitrato redutase e nitrito redutase, Sirini *et al.* (2021) e Zhu; Guo; Yang (2020) avaliaram o desempenho de cepas de *L. plantarum* em baixos níveis de nitrito na fabricação de salsichas e outros embutidos e sugeriram que essas cepas probióticas podem ser importantes ferramentas para o desenvolvimento de formulações com menores níveis de nitrito.

Uma outra alternativa, no tocante às matrizes não lácteas, consiste no desenvolvimento de formulações probióticas em base vegetal. Assim, a fermentação para conservação de vegetais é uma prática antiga e incorporada por diversas culturas, gerando produtos como chucrute, pickles, dentre outros. De acordo com Campos *et al.* (2020), esses produtos são uma importante forma de incorporar probióticos na alimentação humana, graças à interação simbiótica de

microrganismos com as estruturas vegetais, especialmente com aquelas denominadas prebióticos. Prebióticos são fibras que suportam o desenvolvimento de microrganismos presentes no intestino, favorecendo a atividade metabólica dos mesmos. Segundo Cosme; Inês; Vilela (2021), os prebióticos geralmente são carboidratos não digeríveis de baixa massa molecular, intermediários entre açúcares simples e polissacarídeos. Os Frutooligossacarídeos (FOS) e Galacto-oligossacarídeos (GOS) são os principais prebióticos de origem vegetal; no entanto, alguns outros compostos foram descritos como prebióticos, como o amido resistente, inulina e manano-oligossacarídeos (MOS), sendo este isolado da parede celular de leveduras.

As leveduras são amplamente utilizadas na fermentação de uma gama enorme de bebidas, com ênfase para cerveja. Assim, com o objetivo de produzir cerveja probiótica, Mendonça (2021) descreveu a elaboração de cerveja artesanal formulada com emprego da levedura *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. Observou-se que a fermentação ocorreu de forma mais lenta quando comparada à fermentação convencional com *S. pastorianus*, no entanto, a cerveja apresentou células viáveis de *S. cerevisiae* var. *boulardii* após 20 dias de estocagem sob refrigeração. Resultados semelhantes foram reportados por De Paula *et al.* (2021), que observaram que, após 60 dias de armazenamento em 0°C, a cerveja apresentou uma população de células viáveis equivalente a 6 milhões UFC/mL. Concluíram que novos estudos são necessários para otimizar as condições de fermentação e armazenagem com a finalidade de garantir a viabilidade das cepas probióticas.

Com o objetivo de avaliar a ação de probióticos em chá, Wang *et al.* (2022) inocularam cepas de *S. boulardii* e *L. plantarum* em infusões da planta *Camellia sinensis*, conhecida como “chá da Índia”. Após dois dias de fermentação em 31°C, os autores descreveram que a bebida fermentada apresentou aromas frutais e mentolados realçados, sugerindo que a interação entre a levedura e a bactéria láctica produz compostos aromáticos capazes de conferir características agradáveis ao chá probiótico.

Outra linha de produtos de base não-láctea consiste no desenvolvimento de formulações de sorvetes a base de extrato solúvel de soja. Neste contexto, Fernandez (2015) desenvolveu formulações de sorvete à base de extrato solúvel de soja de diferentes origens, nas quais foram avaliadas as cepas *Lactobacillus*

delbrueckii UFV H2B20, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, *Lactobacillus casei* ATCC 7469, *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338 e *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014. A formulação utilizando *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2B20 apresentou melhor desempenho na produção de ácido láctico comparado às demais cepas e em relação às células viáveis apresentou alta concentração inicial (10^9 UFC/mL), a qual apresentou uma queda inferior a um ciclo logarítmico após 150 dias de armazenamento. Esta formulação também apresentou boa aceitação por parte dos provadores. Estes resultados demonstram que derivados de soja são uma opção viável para substituir o leite na confecção de alimentos como sorvetes e outros alimentos funcionais. Alves (2022) avaliou os fatores que influenciam na escolha entre sorvete e picolé e concluiu que o sorvete é o alimento gelado preferido pelos entrevistados, sendo, portanto, um ótimo veículo para incorporar cepas probióticas.

Entretanto, entre os desafios para se incorporar cepas probióticas em alimentos, especialmente aqueles de base não-láctea, consiste na manutenção da viabilidade celular para que o mesmo possa ser caracterizado como probiótico. Desta forma, técnica como a encapsulação surge na área dos probióticos como uma alternativa para melhorar as suas características no que se refere a resistência a condições adversas como passagem pelo trato gastrointestinal, tempo de armazenamento, resistência térmica entre outros (REQUE; BRANDELLI, 2021; RODRIGUES *et al.*, 2020). Diversas técnicas são utilizadas visando proteger estes microrganismos por meio do seu envolvimento em um ou mais materiais encapsulantes também denominados de material de parede. Estes permitem a formação de uma “cápsula” capaz de proteger os microrganismos contidos em seu interior, as condições estomacais, e promover a sua liberação, no caso de probióticos, no intestino. O sucesso desta técnica depende de fatores como o objetivo de proteção, presença de estresse térmico, longo tempo de armazenamento, bem como a passagem pelo trato gastrointestinal. Assim, pode se variar tamanho da cápsula (3 a 800 μ m) ou até mesmo nanocápsulas (10 a 1000 nm) e também seu poder protetor que vai depender do tipo de material encapsulante e demais parâmetros técnicos (REQUE; BRANDELLI, 2021; SARAÓ; ARORA, 2017).

Alguns autores classificam a técnica de microencapsulação em três categorias (extrusão, emulsão e desidratação), compreendendo três etapas,

sendo primeiramente a incorporação do material ativo a ser encapsulado a uma matriz sólida. Nesta etapa ocorrem fenômenos como aglomeração ou adsorção e no caso de a incorporação ocorrer em matriz líquida observa-se a emulsão e desidratação. Na segunda etapa esta matriz envolvendo o microrganismo e o material encapsulante é pulverizada (matriz sólida) ou dispersa (matriz líquida) e por fim na terceira etapa ocorre a estabilização do sistema por meio de um processo podendo ser físico (evaporação, solidificação ou coalescência) ou químico (polimerização) ou ainda físico-químico (gelificação), (CASSANI; GOMEZ-ZAVAGLIA; SIMAL-GANDARA, 2020; REQUE; BRANDELLI, 2021).

A escolha da técnica é importante, mas a escolha dos materiais encapsulantes tem total influência no sucesso do processo, pois irá interferir em várias características como tamanho de partícula, nível de proteção oferecido entre outros. Muitos estudos utilizam a combinação de vários materiais e até mesmo utilizam técnicas de multicamadas combinados por um ou mais técnicas diferentes envolvidos, por exemplo, emulsão e *spray drying* (DE ARAÚJO ETCHEPARE *et al.*, 2020; PITIGRAISORN *et al.*, 2017). Sendo estas escolhas pautadas no objetivo geral da microencapsulação de probióticos que é proteger e propiciar viabilidade celular para que os benefícios sejam alcançados (TRIPATHI; GIRI, 2014).

Tabela 1. Microencapsulação de cepas probióticas por diferentes técnicas e material encapsulante para diferentes finalidades.

Cepa	Técnica	Material	Finalidade	Referência
<i>L. lactis</i> R7	Spray drying	Soro de queijo e inulina	Armazenamento, TGI e térmico	(ROSOLEN <i>et al.</i> , 2019)
<i>L. acidophilus</i>	Extrusão/gelificação iônica externa	Alginato de cálcio e proteínas do soro de queijo	Armazenamento, TGI e térmico	(DE ARAÚJO ETCHEPARE <i>et al.</i> , 2020)
<i>L. paracasei</i> KS-199	Eletrofiação	Alginato	TGI	(YILMAZ <i>et al.</i> , 2020)
<i>L. plantarum</i> TISTR	Extrusão	Alginato de sódio e proteína isolada de soja	Térmico	(PRAEPANITC HAI <i>et al.</i> , 2019)

<i>L. acidophilus</i> NRRL B-4495 e <i>L. plantarum</i> ATCC-14917	Emulsão	Goma de tragacanto e amido de sagu	Cozimento e armazenamento	(GHASEMI <i>et al.</i> , 2022)
<i>L. acidophilus</i> PTCC 1643 e <i>B. bifidum</i> PTCC 1644	Gelificação interna	Alginato de sódio	Armazenamento	(MOKHTARI; JAFARI; KHOMEIRI, 2019)
<i>L. acidophilus</i> La-5	Spray drying	Inulina, hi-maize e trealose	Armazenamento, térmico e TGI	(NUNES <i>et al.</i> , 2018)
<i>L. plantarum</i> CECT 220	Coacervação seguida de spray drying	Proteína isolada de soja	TGI	(GONZÁLEZ-FERRERO <i>et al.</i> , 2020)
<i>B. longum</i> BL-05	Extrusão e gelificação iônica	Proteína de soro e pectina	Armazenamento e TGI	(YASMIN <i>et al.</i> , 2019)
<i>L. plantarum</i> PTCC 1896™	Eletrospray	Ca-alginato/quitosana e inulina ou amido resistente	Armazenamento	(ZAEIM <i>et al.</i> , 2020)
<i>L. rhamnosus</i> HN001	Spray drying	Goma arábica e maltodextrina	TGI	(BARAJAS-ÁLVAREZ; GONZÁLEZ-ÁVILA; ESPINOSA-ANDREWS, 2022)
<i>L. rhamnosus</i> , <i>L. casei</i> e <i>L. plantarum</i>	Spray drying	Suco de acerola e ceriguela	Eficiência de encapsulação	(SOUZA <i>et al.</i> , 2020b)
<i>L. delbrueckii</i> UFV H2B20	Emulsificação e gelificação ionotrópica	Alginato e farinhas de banana verde, maracujá, feijão branco, maçã e laranja	Eficiência de encapsulação e TGI	(SOUZA, 2015b)

Dentre as técnicas utilizadas para a microencapsulação de probióticos, a técnica de *spray drying* ou atomização, que consiste em desidratar uma solução contendo a cepa probiótica e o material encapsulante. Esta por sua vez é injetada no *spray dryer*, equipamento composto por uma câmara principal com temperatura de entrada, fluxo de ar e fluxo de injeção da solução controlados. Esta temperatura geralmente é de pelo menos 100°C para que ocorra a

desidratação do produto em questão, levando a evaporação da água e obtenção dos sólidos em pó que será coletado em uma segunda câmara (NUNES; MARQUES; HOLKEM, 2015). A principal vantagem da atomização é seu baixo custo quando comparado a outras técnicas como a liofilização e como desvantagem pode-se citar o emprego de altas temperaturas, o qual pode levar a morte do microrganismo (ECKERT *et al.*, 2017; MARTÍN *et al.*, 2015).

A escolha do material de parede ou encapsulante é fundamental para promover a proteção desejada, pois pode proporcionar o acúmulo de nutrientes para o microrganismo como aminoácidos e carboidratos que compensam a redução da atividade de água e pressão osmótica que ocorrem durante o processo de secagem, minimizando os danos celulares (HUANG *et al.*, 2017). Rosolen *et al.* (2019) utilizaram a combinação de um material proteico (soro de queijo) e prebiótico (inulina) para microencapsular células de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* R7 por atomização. A combinação do prebiótico e probiótico na microcápsula rendeu o status de simbiótica a microcápsula produzida neste estudo, que demonstrou ótimos resultados nos testes *in vitro* como passagem simulada ao trato gastrointestinal, resistência térmica (60, 65 e 70°C), armazenamento (180 dias) e uma eficiência de encapsulação de 94%. Os autores relataram que a combinação avaliada é adequada para aplicação em alimentos. Assim, Rosolen *et al.* (2022) avaliaram a aplicação desta microcápsula em três diferentes matrizes alimentares (leite, creme de leite e suco de mirtilo) observando que a viabilidade das células probióticas foi mantida no armazenamento por 28 dias em 4°C.

Independente da técnica, o parâmetro eficiência de encapsulação (EE%) é fundamental e deve ser avaliado, pois se baseia na determinação da viabilidade celular antes e após o processo, demonstrando o grau de sucesso da escolha de técnica/parâmetros/material. Souza (2015b) obteve 80% de eficiência de encapsulação utilizando a técnica de emulsificação em alginato e diferentes tipos de farinhas (banana verde, maracujá, feijão branco, maçã e laranja) para microencapsular *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2B20. Entretanto, uma boa eficiência não é garantia de sucesso nos testes como passagem pelo trato gastrintestinal (TGI) ou ao armazenamento. Assim, embora o autor tenha obtido 80% de EE% com todas as farinhas avaliadas, obteve viabilidade mínima probiótica no teste relativo ao trato gastrintestinal simulado apenas quando

utilizou as farinhas de maracujá e banana verde (>77% de sobrevivência) como material encapsulante. Estas foram escolhidas para prosseguir a pesquisa sendo combinadas a inulina, que por sua vez não demonstrou incremento da viabilidade celular a passagem pelo trato gastrointestinal, mas propiciou sobrevivência >90% quando armazenadas a 4°C e >96% quando adicionadas em sorvete (-18°C).

A aplicação destas microcápsulas em alimentos deve atender a vários critérios, como status GRAS (Geralmente Seguro para o Uso) do microrganismo e dos materiais de parede, tamanho da microcápsula para que não ocorra interferência negativa nas características sensoriais do alimento, além do custo, local de liberação direcionado e aplicabilidade (ABD EL KADER; ABU HASHISH, 2020; ILHA *et al.*, 2015; ROSOLEN *et al.*, 2019).

3. Conclusão

É sabido que a manutenção de uma microbiota equilibrada é fator preponderante para garantir uma qualidade de vida saudável, tendo em vista os diferentes mecanismos de ação das cepas probióticas. Neste contexto, destaca-se a importância destas espécies na manutenção do sistema imunológico, além de desempenhar papel fundamental no eixo cérebro-intestino e demais funções que conferem benefícios à saúde do hospedeiro. Assim, para a manutenção de uma microbiota equilibrada é fundamental o consumo de alimentos funcionais, cujas inovações nas técnicas de obtenção foram focadas neste capítulo, com ênfase para os alimentos funcionais não convencionais.

4. Referências

ABBAS, M. S.; SAEED, F.; AFZAAL, M.; JIANFENG, L.; HUSSAIN, M.; IKRAM, A.; JABEEN, A. Recent trends in encapsulation of probiotics in dairy and beverage: A review. **Journal of Food Processing and Preservation**, n. December 2021, p. 1–16, 2022. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16689>

ABD EL KADER, A. E.; ABU HASHISH, H. M. Encapsulation Techniques of Food Bioproduct. **Egyptian Journal of Chemistry**, [s. l.], v. 63, n. 5, p. 1881–1909, 2020. <https://doi.org/10.21608/ejchem.2019.16269.1993>

ABGHARI, Ali e SHEIKH-ZEINODDIN, Mahmoud e SOLEIMANIAN-ZAD, Sabihe. Nonfermented ice cream as a carrier for *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus rhamnosus*. **International Journal of Food Science and**

Technology, v. 46, p. 84–92, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02453.x>.

AKALIN, A. S. et al. Enrichment of probiotic ice cream with different dietary fibers: Structural characteristics and culture viability. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 1, p. 37-46, 2018. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13468>

ALVES, Arthur Maurício Souza. **Análise de perfil dos consumidores de sorvetes e picolés profile analysis of ice cream and popsicle**. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal de Uberlândia p. 1–15, 2022.

ALVES, Mariane I. G. et al. **Características nutricionais, microbiológicas e de aceitação de biscoito salgado à base de silagem de colostro**. In: Anais do XXII Congresso de Iniciação Científica - Universidade Federal de Pelotas, 2013. p. 3–6. Disponível em: https://cti.ufpel.edu.br/siepe/arquivos/2013/CA_02615.pdf. Acesso em 02 jun. 2022

ALBRACHAT, S P I Immunotherapy with GcMAF revisited - A critical overview of the research Nobuto Yamamoto. **Cancer Treatment and Research Communications**, v.3, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ctarc.2022.100537>

ARSLAN, Ayşenur et al. Bovine colostrum and Its potential for human health and nutrition. **Frontiers in Nutrition**, p. 350, 2021. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.651721>

BARAJAS-ÁLVAREZ, P.; GONZÁLEZ-ÁVILA, M.; ESPINOSA-ANDREWS, H. Microencapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* HN001 by spray drying and its evaluation under gastrointestinal and storage conditions. **LWT**, [s. l.], v. 153, p. 112485, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112485>

BARBOSA, Idiana de Macedo. **Utilização do colostro bovino na produção de queijos**. Dissertação de Mestrado. Macaíba: Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 2020.

BARTKIENE, E. et al. Development of antimicrobial gummy candies with addition of bovine colostrum, essential oils and probiotics. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 5, p. 1227–1235, 2018. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13701>

BERGAMINI, C. V. et al. Probiotic bacteria as adjunct starters: influence of the addition methodology on their survival in a semi-hard Argentinean cheese. **Food Research International**, v.38, n.5, p.597-604, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.11.013>

BISWAS, G. et al. Cytokine responses in the Japanese pufferfish (*Takifugu rubripes*) head kidney cells induced with heat-killed probiotics isolated from the Mongolian dairy products. **Fish & Shellfish Immunology**, v.34, n.5, p.1170-1177, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.01.024>

Blythe J and Pacini S. Case report: intermittent fasting and probiotic yogurt consumption are associated with reduction of serum alpha-

N-acetylgalactosaminidase and increased urinary excretion of lipophilic toxicants, 2017. <https://doi.org/10.1101/177774>

BRASIL (2019a). Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 60, DE 23 DE DEZEMBRO DE 2019. **Padrões microbiológicos para alimentos.** Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/instrucao-normativa-n-60-de-23-de-dezembro-de-2019-235332356>

BRASIL (2019b). Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 31, de 26 de dezembro de 2019, dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF

BURAN, İ.; AKAL, C.; OZTURKOGLU-BUDAK, S.; YETISEMIYEN, A. Rheological, sensorial and volatile profiles of synbiotic kefir produced from cow and goat milk containing varied probiotics in combination with fructooligosaccharide. **Lwt**, v. 148, n. April, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111591>.

CAMPOS, Priscilla Araújo et al. CAPÍTULO 3-PRODUTOS DE ORIGEM VEGETAL CONTENDO BACTÉRIAS PROBIÓTICAS COM ÊNFASE EM VEGETAIS FERMENTADOS. **Contribuições para a Área de Alimentos: Experiências do Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campus Rio Pomba**, p. 37. ISBN: 978-65-87185-11-8

CASSANI, L.; GOMEZ-ZAVAGLIA, A.; SIMAL-GANDARA, J. Technological strategies ensuring the safe arrival of beneficial microorganisms to the gut: From food processing and storage to their passage through the gastrointestinal tract. **Food Research International**, [s. l.], v. 129, n. August 2019, p. 108852, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108852>.

CASAROTTI, S. N. et al. In vitro assessment of safety and probiotic potential characteristics of *Lactobacillus strains* isolated from water buffalo mozzarella cheese. **Annals of Microbiology**, v.67, n.1, p.289-301, 2017. <https://doi.org/10.1007/s13213-017-1258-2>.

CARDONA, P. et al. Oral administration of heat-killed *Mycobacterium manresensis* delays progression toward active tuberculosis in C3HeB/FeJ mice. **Frontiers in microbiology**, v.6, n.1, p.4-7, 2016. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01482>

CARDOSO, G. H. M. et al. PRODUÇÃO DE SILAGEM DE COLOSTRO BOVINO E AS POTENCIALIDADES DE SEU USO EM DIFERENTES RECEITAS. **Tekne e Logos**, v. 10, n. 3, p. 36-44, 2019. Disponível em: <<http://www.tjyybjb.ac.cn/CN/article/downloadArticleFile.do?attachType=PDF&id=9987>>.

CARNEIRO, Walkeane dos Dantos Felismino Rocha. **Aproveitamento da farinha de casca de abacaxi Ananas comosus (L.) Merrill para elaboração de sorvete funcional probiótico.** 2020. 85 f. 2020.

COSME, F.; INÊS, A.; VILELA, A. Aceitabilidade do consumidor e consciência de saúde de probióticos e prebióticos de produtos não lácteos. **Food Research International**, v. 151, p. 110842, 2022.

DE ARAÚJO ETCHEPARE, M. *et al.* Improvement of the viability of encapsulated probiotics using whey proteins. **Lwt**, [s. l.], v. 117, n. September 2019, p. 108601, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108601>.

DE PAULA, Breno Pereira *et al.* Technological features of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* for potential probiotic wheat beer development. **LWT**, v. 135, p. 110233, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110233>

DIMIDI, E. *et al.* Fermented foods: Definitions and characteristics, impact on the gut microbiota and effects on gastrointestinal health and disease. **Nutrients**, v.11, n.8, 1806, 2019. <https://doi.org/10.3390/n11081806>

DINAN, T. G.; STANTON, C.; CRYAN, J. F. Psychobiotics: A novel class of psychotropic. **Biological Psychiatry**, v.74, n.10, p.720-726, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.05.001>

DRUNKLER, D. A. (2009). **Produção de requeijão cremoso simbiótico**. (Tese Doutorado em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil). Obtido em <http://www.posalim.ufpr.br/Pesquisa/pdf/DeisyADrunkler.pdf>

ECKERT, C. *et al.* Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 through spray drying and using dairy whey as wall materials. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 82, p. 176–183, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2017.04.045>.

FELIX, D. C. **Ocorrência de contaminação em carcaças bovinas durante o processamento em abatedouro frigorífico**. Dissertação, Universidade Estadual de Goiás, 2020. Disponível em: <https://www.bdttd.ueg.br/handle/tede/664>

FERNANDEZ, L. C. **Desenvolvimento de sorvetes probióticos à base de extrato solúvel de soja**. Dissertação - Unversidade de São Paulo, 2015.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS AND WHO WORKING GROUP. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. [s. l.], p. 1–11, 2002. Disponível em: <http://www.fao.org/es/ESN/Probio/probio.htm>

FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M.; MCSWEENEY, P. L. H. **Fundamentals of cheese science**. 2nd ed. New York: Springer. 2017. 799p. <https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9>

FOX, P. F.; UNIACKE-LOWE, T.; MCSWEENEY, P. L. H.; O'MAHONY, J. A. Chemistry and Biochemistry of Cheese. In: FOX, P. F.; UNIACKE-LOWE, T.; MCSWEENEY, P. L. H.; O'MAHONY, J. A. **Dairy Chemistry and Biochemistry**. 2nd ed. Switzerland: Springer International Publishing. 2015. 499-546. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-14892-2>

FUSCO, V. *et al.* Autochthonous and probiotic lactic acid bacteria employed for production of “Advanced Traditional Cheeses”. **Foods**, v.8, n.9, p.1-17, 2019 <https://doi.org/10.3390%2Ffoods8090412>

GALDINO, A. B. S. **Inserção do colostro bovino e seus derivados na alimentação humana: benefícios para a saúde, desafios e elaboração de um produto.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2021.

GARGI, A.; SENGUN, I. Y. Marination liquids enriched with probiotics and their inactivation effects against food-borne pathogens inoculated on meat. **Meat Science**, v. 182, n. July, p. 108624, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108624>>.

GHASEMI, L. *et al.* The effects of encapsulated probiotic bacteria on the physicochemical properties, staling, and viability of probiotic bacteria in gluten-free bread. **Journal of Food Processing and Preservation**, [s. l.], v. 46, n. 3, p. e16359, 2022. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jfpp.16359>.

GIBSON, G. R. *et al.* Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v.14, n.1, p.491-502, 2017. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>

GOMES, R. D. S. **Perfil de ácidos graxos em colostro bovino de diferentes ordenhas e iogurtes do tipo grego formulados com colostro.** 2021. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

GONZÁLEZ-FERRERO, C. *et al.* Encapsulation of probiotics in soybean protein-based microparticles preserves viable cell concentration in foods all along the production and storage processes. **Journal of Microencapsulation**, [s. l.], v. 37, n. 3, p. 242–253, 2020.

GUIMARÃES, F. *et al.* Seleção de bactérias lácticas com potencial probiótico provenientes do leite de transição bovino fermentado. **Interciência**, v. 43, n. 2, p. 132–136, 2018.

HOMAYOUNI, A. *et al.* Cheese as a potential food carrier to deliver probiotic microorganisms into the human gut: A review. **Current Nutrition & Food Science**, v.16, n.1, p.15-28, 2020. DOI: 10.2174/1573401314666180817101526

HOMAYOUNI-RAD, A. *et al.* Kluyveromyces marxianus as a probiotic yeast: A mini-review. **Current Nutrition & Food Science**, v. 16, n. 8, p. 1163-1169, 2020. <https://doi.org/10.2174/1573401316666200217113230>

HUANG, S. *et al.* Spray drying of probiotics and other food-grade bacteria: A review. **Trends in Food Science and Technology**, [s. l.], v. 63, p. 1–17, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.02.007>

HSIEH, F. *et al.* Heat-killed and live *Lactobacillus reuteri* GMNL-263 exhibit similar effects on improving metabolic functions in high-fat diet-induced obese rats. **Food and Function**, v.7, n.1, p.2374-2388, 2016. <https://doi.org/10.1039/C5FO01396H>

ILHA, E. C. *et al.* *Lactobacillus paracasei* isolated from grape sourdough: acid, bile, salt, and heat tolerance after spray drying with skim milk and cheese whey. **European Food Research and Technology**, [s. l.], v. 240, n. 5, p. 977–984, 2015. <https://doi.org/10.1007/s00217-014-2402-x>

JABBARI, V. *et al.* *Lactobacillus plantarum* as a probiotic potential from Kouzeh cheese (traditional iranian cheese) and Its antimicrobial activity. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v.9, n.1, p.189-193, 2017. <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9255-0>

JANG, H. J. Antioxidant effects of live and heat-killed probiotic *Lactobacillus plantarum* Ln1 isolated from kimchi. **Journal of Food Science and Technology**, v.55, n.1, p.3174-3180, 2018. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3245-4>

JERONYMO-CENEVIVA, A. B. *et al.* Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from water-buffalo mozzarella cheese. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v.6, n.1, p.141-156, 2014. <https://doi.org/10.1007/s12602-014-9166-2>

KONAR, N. *et al.* Conventional and sugar-free probiotic white chocolate: Effect of inulin DP on various quality properties and viability of probiotics. **Journal of Functional Foods**, v. 43, p. 206-213, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.02.016>

LANGA, S. *et al.* Development of multi-strain probiotic cheese: Nisin production in food and gut. **LWT**, v.148, n.1, p.1-8, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111706>

LEEUWENDAAL, N. K. *et al.* Protection of candidate probiotic lactobacilli by Cheddar cheese matrix during simulated gastrointestinal digestion. **Journal of Functional Foods**, v.92, n.1, p.1-9, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105042>

LEITE, M. S. **Influência da matriz de gelado comestível sobre o comportamento e a sobrevivência de cepas probióticas a condições do trato gastrointestinal simuladas in vitro.** 2021. Universidade de São Paulo, 2021.

LI, N. *et al.* Live and heat-killed *Lactobacillus rhamnosus* GG: Effects on proinflammatory and anti-inflammatory cytokines/chemokines in gastrostomy-fed infant rats. **Pediatric Research**, v.66, n.1, p.203-207, 2009. <https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e3181aabd4f>

LOLLO, P. C.B *et al.* Hypertension parameters are attenuated by the continuous consumption of probiotic Minas cheese. **Food Research International**, v. 76, p. 611-617, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.015>

MAEHATA, H. *et al.* Immuno-modulation by heat-killed *Lactocaseibacillus paracasei* MCC1849 and its application to food products. **International Journal of Immunopathology and Pharmacology**, v35, n.1, 2021. <https://doi.org/10.1177/20587384211008291>

MARGALHO, L. P. *et al.* Biopreservation and probiotic potential of a large set of lactic acid bacteria isolated from Brazilian artisanal cheeses: From screening to in product approach. **Microbiological Research**, v.242, n.1, p.1-12, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126622>

MARTÍN, M. J. *et al.* Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [s. l.], v. 27, p. 15–25, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2014.09.010>.

MARTINS, Fernanda Antunes *et al.* **Características físico-químicas e perfil microbiano do leite de transição bovino in natura e fermentado em diferentes períodos**. Medicina Veterinária (UFRPE), v. 15, n. 4, p. 388-395, 2021.

MENDONÇA, A. **Emprego de *Saccharomyces cerevisiae* var. *bouardii* no processo de elaboração de cervejas com potencial probiótico**. Monografia. Bento Gonçalves: Universidade Estadual do Rio Grande do Sul; 2021.

MOKHTARI, S.; JAFARI, S. M.; KHOMEIRI, M. Survival of encapsulated probiotics in pasteurized grape juice and evaluation of their properties during storage. **Food Science and Technology International**, [s. l.], v. 25, n. 2, p. 120–129, 2019. <https://doi.org/10.1177/1082013218801113>

MONTANÉ, E. *et al.* Pilot, double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial of the supplement food Nyaditum resae® in adults with or without latent TB infection: Safety and immunogenicity. **PLOS One**, v12, n.2, p.1-20, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171294>.

NUNES, G. L. *et al.* Inulin, hi-maize, and trehalose as thermal protectants for increasing viability of *Lactobacillus acidophilus* encapsulated by spray drying. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 89, n. October 2017, p. 128–133, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.032>

NUNES, G. L.; MARQUES, T.; HOLKEM, A. T. Microencapsulation of probiotic cultures: principles of spray drying method. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, p. 132–141, 2015. <https://doi.org/10.33263/briac114.1122111232>

OLIVEIRA, M. A. R. S. *et al.* Sorvetes Probióticos: Tecnologia, Importância E Perspectivas Para O Futuro. Recima21 - Revista Científica Multidisciplinar ISSN 2675-6218, p. 1–15, 2022. Disponível em: <<https://www.recima21.com.br/index.php/recima21/article/view/778/685>>.

OLIVEIRA, W. A. *et al.* Potentially probiotic or postbiotic pre-converted nitrite from celery produced by an axenic culture system with probiotic lacticaseibacilli strain. **Meat Science**, v. 174, n. October 2020, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108408>

OLIVEIRA, S. P. P. Características físico-químicas de queijo minas artesanal do serro fabricados com pingo e com rala. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.73, n.4, p.235-244, 2018. <https://doi.org/10.14295/2238-6416.v73i4.717>.

PACINI, S., T. PUNZI, G. MORUCCI; M. RUGGIERO. Macrophages of the Mucosa-Associated Lymphoid Tissue (MALT) as key elements of the immune response to vitamin D binding protein-macrophage activating factor. *Ital. J. Anat. Embryol.*, 116: 136-136, 2011. <https://doi.org/10.13128/IJAE-10160>

PACINI S.; RUGGIERO, M. Description of a Novel Probiotic Concept: Implications for the Modulation of the Immune System. **American Journal of Immunology**, 2017. <https://doi.org/10.3844/ajisp.2017.107.113>

PACINI S.; RUGGIERO M. Natural Plasmids in a Swiss Fermented Milk and Colostrum Product assessed by Microbiome Array. **Madridge J Immunol**. ISSN: 2638-2024 Volume 3 • Issue 2 • 1000123. 2019

PACINI S AND RUGGIERO M. Phage composition of a fermented and colostrum product assessed by microbiome array; putative role of open reading frames in referencetocell signaling and neurological development. 2020. <https://doi.org/10.1101/714154>

PEHRSON, M. E. S. F. et al. Incorporation of multi-strain probiotic preparation in a traditional. Brazilian cheese: effects on microbiological safety and bacterial community, **Journal of Food Research**, n.9, v.1, p.1-10. 2020. <https://doi.org/10.5539/jfr.v9n1p1>

PITIGRAISORN, P. *et al.* Encapsulation of *Lactobacillus acidophilus* in moist-heat-resistant multilayered microcapsules. **Journal of Food Engineering**, [s. l.], v. 192, p. 11–18, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.07.022>.

PRAEPANITCHAI, O. A. *et al.* Survival and Behavior of Encapsulated Probiotics (*Lactobacillus plantarum*) in Calcium-Alginate-Soy Protein Isolate-Based Hydrogel Beads in Different Processing Conditions (pH and Temperature) and in Pasteurized Mango Juice. **BioMed Research International**, [s. l.], v. 2019, n. 3, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/9768152>

PRATA, Bianca Mendonça; e colab. **Viabilidade de Lactobacillus casei em sorvete sem lactose e avaliação das características físico-químicas e sensoriais**. Revista Brasileira de ciencias, tecnologia e Inovação, v. 3, p. 69–78, 2018.

Probiotics Market by Application (Functional Food & Beverages (Dairy Products, Non-dairy Beverages, Infant Formula, Cereals), Dietary Supplements, Feed), Ingredient (Bacteria, Yeast), Form (Dry, Liquid), End User, & Region - Global Forecast to 2026. **Markets and Markets**, 2022. Disponível em: <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/probiotic-market-advanced-technologies-and-global-market-69.html>. (Acesso em 10 jun. 2022).

PUPPEL, Kamila et al. Composição e fatores que afetam a qualidade do colostro bovino: uma revisão. **Animais**, v. 9, n. 12, pág. 1070, 2019.

REQUE, P. M.; BRANDELLI, A. Encapsulation of probiotics and nutraceuticals: Applications in functional food industry. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 114, p. 1–10, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.05.022>

RODRIGUES, F. J. et al. Encapsulated probiotic cells: Relevant techniques, natural sources as encapsulating materials and food applications – A narrative review. **Food Research International**, [s. l.], v. 137, p. 109682, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109682>

ROSOLEN, M. D. et al. Survival of Microencapsulated *Lactococcus lactis* Subsp. *lactis* R7 Applied in Different Food Matrices. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [s. l.], v. 194, n. 5, p. 2135–2150, 2022. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1038341/v1>

ROSOLEN, M. D. et al. Symbiotic microencapsulation of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* R7 using whey and inulin by spray drying. **Lwt**, v. 115, n. January, p. 108411, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108411>.

SAALFELD, M. H. et al. Effect of anaerobic bovine colostrum fermentation on bacteria growth inhibition. **Ciencia Rural**, v. 46, n. 12, p. 2152–2157, 2016. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20160393>

SALMINEN, S. et al. The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v.18, n.1, p.649-667, 2021a. <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00440-6>

SALMINEN, S. et al. Reply to: Postbiotics — when simplification fails to clarify. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v.18, n.1, p.827-828, 2021b. <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00522-5>

SARAO, L. K.; ARORA, M. Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [s. l.], v. 57, n. 2, p. 344–371, 2017. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.887055>

SILVA, Morhana Santos e colab. **Sorvete de kefir saborizado com geléia de maracujá**. Alimentos: Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente, v. 1, n. 6, p. 122–133, 2020.

SMITH, I.M.; et al. *Kluyveromyces marxianus* and *Saccharomyces boulardii* Induce Distinct Levels of Dendritic Cell Cytokine Secretion and Significantly Different T Cell Responses In Vitro. **Plos One**, v.11, n.11, 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167410>.

SIRINI, N.; FRIZZO, L. S.; ALEU, G.; SOTO, L. P.; ROSMINI, M. R. Use of probiotic microorganisms in the formulation of healthy meat products. **Current Opinion in Food Science**, v. 38, p. 141–146, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.11.007>.

SPERANZA, B. et al. Functional cream cheese supplemented with *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* DSM 10140 and *Lactobacillus reuteri* DSM 20016 and prebiotics. **Food microbiology**, v. 72, p. 16-22, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.11.001>.

SOUZA, C. **Aplicação do colostro bovino no desenvolvimento de um iogurte potencialmente simbiótico**. 2015a. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

SOUZA, V. L. C. et al. Development of Probiotic “creamy requeijão” Formulations Containing Lactobacillus Strains, **Journal of Food Research**, n.9, v.1, p.1-10. 2020a. <https://doi.org/10.5539/jfr.v8n3p86>.

SOUZA, A. F. de. **Estudo da viabilidade de microrganismos probióticos encapsulados em matriz polimérica natural contendo ingredientes prebióticos e fibras alimentares**. Tese, Universidade de São Paulo [s. l.], 2015b.

SOUZA, M. et al. Microencapsulation by spray drying of a functional product with mixed juice of acerola and ciriguela fruits containing three probiotic lactobacilli. <https://doi.org/10.1080/07373937.2020.1862182>, [s. l.], v. 40, n. 6, p. 1185–1195, 2020b.

STANTON, C. et al. Probiotic cheese. **International Dairy Journal**, v.8, n.5-6, p.491-496, 1998. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(98\)00080-6](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(98)00080-6).

SWANSON, K. S. et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v.17, n.1, p.687-701, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0344-2>.

TABANELLI, G V. et al., Survival of the functional yeast *Kluyveromyces marxianus* B0399 in fermented milk with added sorbic acid. **J. Dairy Sci.** 99:120–12, 2016. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-10084>.

TAKEDA, S. et al. Efficacy of oral administration of heat-killed probiotics from Mongolian dairy products against influenza infection in mice: Alleviation of influenza infection by its immunomodulatory activity through intestinal immunity. **International Immunopharmacology**, v.11, n.12, p.1976-1983, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2011.08.007>.

TAVERNITI, V.; GUGLIELMETTI, S. The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: proposal of paraprobiotic concept). **Genes & Nutrition**, v.6, n.3, p. 261-274, 2011. <https://doi.org/10.1007/s12263-011-0218-x>.

TEIXEIRA, G.L.S.B. **Qualidade e Viabilidade de Requeijão Cremoso Adicionado de Lactobacillus Acidophilus e Bifidobacterium Bifidum**. 2012. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

Trabelsi, I., et al. (2019). Incorporation of probiotic strain in raw minced beef meat: Study of textural modification, lipid and protein oxidation and color parameters

during refrigerated storage. **Meat Science**, 154, 29–36. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2019.04.005>.

TRAN, N. T. et al. Application of heat-killed probiotics in aquaculture. **Aquaculture**, v.548, n.5, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737700>.

TRIPATHI, M. K.; GIRI, S. K. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 225–241, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.030>.

TSILINGIRI, K. et al. Probiotic and postbiotic activity in health and disease: comparison on a novel polarised ex-vivo organ culture model. **Gut**, v.61, n.1, p.1007-1015, 2012. <https://doi.org/10.1136/gfutjnl-2011-300971>.

TSILINGIRI, K.; RESCIGNO, M. Postbiotics: what else? **Beneficial Microbes**, v.4, n.1, p.101-107, 2013. <https://doi.org/10.3920/bm2012.0046>.

VINDEROLA, G., SANDERS, M. E., & SALMINEN, S. (2022). The Concept of Postbiotics. **Foods**, 11(8). <https://doi.org/10.3390/FOODS11081077>.

VITOLA, H. R. S. et al. Probiotic potential of *Lactobacillus casei* CSL3 isolated from bovine colostrum silage and its viability capacity immobilized in soybean. **Process Biochemistry**, v. 75, p. 22-30, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.09.011>.

YASMIN, I. et al. Development of Whey Protein Concentrate-Pectin-Alginate Based Delivery System to Improve Survival of *B. longum* BL-05 in Simulated Gastrointestinal Conditions. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 413–426, 2019. <https://doi.org/10.1007/s12602-018-9407-x>.

YILMAZ, M. T. et al. An alternative way to encapsulate probiotics within electrospun alginate nanofibers as monitored under simulated gastrointestinal conditions and in kefir. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 244, p. 116447, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116447>.

ZAEIM, D. et al. Microencapsulation of probiotics in multi-polysaccharide microcapsules by electro-hydrodynamic atomization and incorporation into ice-cream formulation. **Food Structure**, [s. l.], v. 25, p. 100147, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2020.100147>.

ZAGO, M. et al. Characterization and probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from cheeses. **Food Microbiology**, v.28, n.5, p.1033-1040. 2011. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.02.009>.

ZHANG, X. et al. Probiotic characteristics of *Lactobacillus* strains isolated from cheese and their antibacterial properties against gastrointestinal tract pathogens. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.27, n.12, p.3505-3513, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.022>.

ZHU, Y.; GUO, L.; YANG, Q. Partial replacement of nitrite with a novel probiotic *Lactobacillus plantarum* on nitrate, color, biogenic amines and gel properties of

Chinese fermented sausages. **Food Research International**, v. 137, n. January, p. 109351, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109351>.

Zamberi, N.R. et al. The antimetastatic and antiangiogenesis effects of kefir water on murine breast cancer cells. **Integrative Cancer Therapies**, v.15, p.53-66, 2016. <https://doi.org/10.1177/1534735416642862>.

WANG, R. et al. Green tea fermentation with *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 and *Lactiplantibacillus plantarum* 299V. **LWT**, v. 157, p. 113081, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113081>.

Autores

Fernanda Weber Bordini¹, Júlia Cristina Fernandes¹, Viviane Lívia Carvalho Souza¹, Elaine Cristina Galhardo¹, Moysés Estevão de Souza Freitas Pehrson², Ismael Maciel de Mancilha¹

1. Departamento de Biotecnologia - Escola de Engenharia de Lorena - Universidade de São Paulo, Estrada Municipal do Campinho s/n, 12602810, Lorena, Brasil.
2. Coordenação de Laboratórios Multidisciplinares, Centro Universitário de Barra Mansa - SOBEU - Associação Barramansense de Ensino Superior, Rua Vereador Pinho de Carvalho, 267, 27330-550, Barra Mansa, Brasil.

* Autor para correspondência: mancilha@usp.br