DOI: 10.53934/202411.23

Capítulo 23

PARAPROBIÓTICOS E PÓS-BIÓTICOS: TENDÊNCIA EMERGENTE PARA A INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

Elaine Bernardo Pacheco[1]; Nathalia Lanchin Barreiro[1] ; Priscila Renata da Costa[1]; Rafael Henrique de Almeida Ferreira[1]; Weder Garcia Aneres[2] ; Nataly de Almeida Costa[3] ; Maurilio Lopes Martins[3]

[1]Mestres em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais (IF Sudeste MG), campus Rio Pomba
[2]Mestrando em Ciência e Tecnologia de Alimentos do IF Sudeste MG, campus Rio Pomba
[3]Professores do IF Sudeste MG, campus Rio Pomba
Weder Garcia Aneres - E-mail: weder.garcia12@gmail.com

RESUMO

Devido às novas tendências alimentares e a busca por saudabilidade, os alimentos funcionais têm sido alvo de estudos e de desenvolvimento de novos produtos. Assim, os probióticos têm sido muito discutidos. Um alimento probiótico deve conter células microbianas viáveis desde a produção até o consumo e as mesmas devem resistir e colonizar o trato gastrointestinal dos consumidores. Entretanto, a qualidade desses alimentos pode ser afetada em função da atividade metabólica dos probióticos que podem levar a alterações físico-químicas e sensoriais. Além disso, questionamentos são realizados em relação ao uso seguro dos alimentos probióticos em pessoas com sistema imunológico debilitado. Assim, novas alternativas para contornar esses problemas estão sendo estudadas como o uso de paraprobióticos e pós-bióticos em alimentos. Os paraprobióticos, também chamados de probióticos fantasmas, são células microbianas não viáveis ou extratos celulares brutos que, quando administrado em quantidades adequadas, conferem benefícios ao organismo humano ou animal. Por outro lado, os pós-bióticos são constituídos por metabólitos secretados por bactérias viáveis ou liberados após a lise bacteriana. Vários estudos pré-clínicos e clínicos demonstraram que células microbianas não viáveis podem ser tão eficazes quanto às células microbianas viáveis, além de destacarem várias respostas biológicas, incluindo efeitos anti-inflamatórios, atenuação da colite, estimulação do sistema imunológico intestinal, entre outros. No geral, as evidências desses estudos demonstram, dependendo do mecanismo de ação, que os efeitos dos probióticos não dependem da viabilidade celular, sugerindo um amplo uso de células probióticas não viáveis na indústria de alimentos, considerando maior segurança e vida útil prolongada como vantagens para o uso de paraprobióticos e pós-bióticos.

Palavras-chave: Alimentos, Nutrição, Saúde, Viabilidade.

ABSTRACT

Due to new food trends and the search for healthiness, functional foods have been the target of studies and the development of new products. Thus, probiotics have been much discussed. A probiotic food must contain viable microbial cells from production to consumption and they must resist and colonize the gastrointestinal tract of consumers. However, the quality of these foods can be affected due to the metabolic activity of probiotics, which can lead to physicochemical and sensory changes. Furthermore, questions are raised regarding the safe use of probiotic foods in people with weakened immune systems. Therefore, new alternatives to overcome these problems are being studied, such as the use of paraprobiotics and postbiotics in foods. Paraprobiotics, also called ghost probiotics, are non-viable microbial cells or crude cell extracts that, when administered in adequate quantities, confer benefits to the human or animal organism. On the other hand, postbiotics are made up of metabolites secreted by viable bacteria or released after bacterial lysis. Several preclinical and clinical studies have demonstrated that non-viable microbial cells can be as effective as viable microbial cells, in addition to highlighting several biological responses, including anti-inflammatory effects, attenuation of colitis, stimulation of the intestinal immune system, among others. Overall, the evidence from these studies demonstrates, depending on the mechanism of action, that the effects of probiotics do not depend on cell viability, suggesting a wide use of non-viable probiotic cells in the food industry, considering greater safety and prolonged shelf life as advantages for the use of paraprobiotics and postbiotics.

Keywords: Food, Nutrition, Health, Viability.

INTRODUÇÃO

As novas tendências alimentares induzem as indústrias a reduzirem o uso de conservantes, estabilizantes entre outros aditivos artificiais, uma vez que os consumidores têm buscado alimentos que além de nutrir possam proporcionar algum benefício extra à saúde. Dessa forma, os alimentos funcionais são comercializados com alegações de saúde, uma vez que podem ser fonte de nutrientes com propriedades fisiológicas positivas, além de conterem substâncias naturais que podem ser ingeridas diariamente para regular e melhorar o trato gastrointestinal. Nessa vertente, os probióticos têm sido muito discutidos (1).

Os probióticos são, atualmente, definidos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro (2). Por essa definição, um alimento probiótico deve conter células microbianas viáveis. No entanto, vários fatores podem afetar a qualidade dos probióticos durante o armazenamento até o consumo (3), além de questionamentos e preocupações sobre seu uso seguro em pessoas com sistema imunológico debilitado. Assim, surgiram algumas alternativas como o estudo de paraprobióticos e pós-bióticos, que proporcionaram uma ampla extensão para o conceito de probióticos (4).

Paraprobióticos são definidos como probióticos inativos ou células microbianas não viáveis (intactas ou frações celulares) que, administradas em quantidades e frequência adequadas, proporcionam benefícios ao hospedeiro. Por outro lado, pós-bióticos são produtos ou subprodutos metabólicos secretados por bactérias viáveis ou liberados após a lise bacteriana (5, 4, 6). Assim, o emprego de paraprobióticos ou de pós-bióticos pode gerar interação positiva com a indústria de alimentos, uma vez que as exigências impostas quanto à viabilidade celular bacteriana, para exercer os seus efeitos biológicos sobre a saúde, são reduzidas (7, 8). A Tabela 1 apresenta algumas estirpes paraprobióticas e pós-bióticas, correlacionando-as com sua função e aplicação para o hospedeiro e/ou indústria.

Tabela 1 - Função e aplicação de algumas estirpes paraprobióticas e pós-bióticas para o consumidor e indústria

Estipe	Função e aplicação no hospedeiro e/ou indústria	Referência
Lactobacillus gasseri CP2305	Regulação intestinal, alívio dos sintomas relacionados ao estresse, melhora do sono, recuperação da fadiga, alívio da ansiedade e humor depressivo	(9) (10) (11) (12)
Lactobacillus plantarum K8	Aumento da atividade hidratante da pele em queratinócitos humanos, podendo ser utilizado na indústria de cosméticos e produtos hidratantes	(13) (14) (15)
Lactobacillus plantarum	Aumento da imunidade e resistência a doenças em peixes e crustáceos, podendo ser utilizado na agricultura	(16) (17)
Lactobacillus plantarum (I-UL4, TL1, RS5, RI11, RG11 e RG14)	Atividade citotóxica seletiva via efeito antiproliferativo e indução de apoptose contra células cancerosas malignas de maneira específica	(18)

Bacillus amyloliquefaciens FPTB16	Aumento da imunidade em peixes (Catla), podendo ser utilizado na agricultura	(19)
Lactobacillus reuteri	Prevenção do desenvolvimento e tratamento da periodontite	(20)
Lactobacillus reuteri PTCC 1655	Ação inibitória em células-tronco de câncer de cólon (células HT29-ShE) mediados pela redução da invasão e aumento da apoptose	(21)
L. rhamnosus GG	Diminui os mediadores pró-inflamatórios induzidos por LPS e aumenta os mediadores anti-inflamatórios	(22) (23)
Enterococcus faecalis (EC-12)	Prevenção da colonização de enterococos resistentes à vancomicina no ceco de pintinhos recém-nascidos	(24)
Lactobacillus acidophilus LA5 *Lactobacillus casei* 431 *Lactobacillus salivarius*	Atividade antimicrobiana para *Listeria monocytogenes* em modelos de alimentos (carne moída e leite integral)	(25)

PARAPROBIÓTICO

Jansen; Waaij (26) englobaram na definição de probióticos células microbianas mortas, incluindo seus metabólitos. Salminen et al. (27) corroboraram quando incluíram componentes celulares microbianos na definição de probióticos, desde que tenham efeito benéfico na saúde e no bem estar do hospedeiro. Porém, atualmente, a definição de probióticos mais aceita é restrita a produtos que contenham microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro (2).

Consequentemente, surgiu a necessidade de uma nova terminologia que definisse o uso de microrganismos não viáveis ou suas frações que afetam a saúde de forma positiva. Taverniti; Guglielmetti (5) propuseram o termo paraprobiótico, ou probiótico fantasma, sendo o mesmo definido como células microbianas não viáveis (intactas ou danificadas) ou extratos celulares brutos, ou seja, com composição química complexa. Os paraprobióticos têm a vantagem de serem mais seguros para indivíduos vulneráveis, reduzindo o risco de desenvolvimento de infecções por microrganismos oportunistas, aquisição de virulência ou genes de resistência a antibióticos e translocação bacteriana (28).

Desta forma, mesmo que diversos métodos de inativação tenham sido utilizados, a seleção do mais apropriado dependerá constantemente do microrganismo e do benefício clínico almejado. Cada método pode atingir os componentes estruturais celulares de diferentes formas e atuar na sua atividade imunomoduladora. Então, criteriosamente, deve-se adotar aquele que além de inativar, seja capaz de conservar os efeitos benéficos inicialmente ofertados pelos probióticos (5, 29).

OBTENÇÃO DOS PARABIÓTICOS

Para a obtenção de paraprobióticos há necessidade de inativação de probióticos, que pode acontecer por variados processos: tratamento térmico (pasteurização, esterilização e tindalização), raios ultravioleta ou gama, alta-pressão, sonicação, liofilização, substâncias químicas (formaldeído, formalina) e ozonização. Entre os tratamentos citados, a aplicação de calor tem sido o mais recorrente para obtenção de estirpes paraprobióticas (30, 5, 31).

A tecnologia utilizada para a sua obtenção tem como objetivo induzir a perda de viabilidade do microrganismo. Isso ocorre após a exposição a elementos que alteram a natureza da célula microbiana (clivagem de DNA) e/ou alteração em suas funções fisiológicas (inativação de enzimas ou da seletividade de membrana) (7) sem romper a membrana bacteriana e a parede celular necessária para manter a estrutura intacta da célula (4).

Desta forma, mesmo que diversos métodos de inativação tenham sido utilizados, a seleção do mais apropriado dependerá constantemente do microrganismo e do benefício clínico almejado. Cada método pode atingir os componentes estruturais celulares de diferentes formas e atuar na sua atividade imunomoduladora. Então, criteriosamente, deve-se adotar aquele que além de inativar, seja capaz de conservar os efeitos benéficos inicialmente ofertados pelos probióticos (5, 29).

A técnica de contagem em placas tem sido utilizada como método para avaliar a viabilidade celular paraprobiótica. Porém, este método quantifica o número de células capazes de multiplicar e formar colônias visíveis em meios de cultura, mas não dispõe de informações sobre a integridade da membrana celular e as funções fisiológicas das células bacterianas não cultiváveis. Para descrição da viabilidade bacteriana a técnica de citometria de fluxo é um método que permite obter informações em relação às propriedades estruturais, metabólicas e genéticas das células bacterianas (32, 33, 34).

Portanto, informações que possam auxiliar na escolha dos processos e condições de inativação considerando o grau de lesão e mecanismo de ação das estirpes paraprobióticas devem ser estudadas (29).

VANTAGENS TECNOLÓGICAS DOS PARAPROBIÓTICOS

Para o desenvolvimento de um produto adicionado de probiótico, algumas exigências são impostas quanto à viabilidade celular bacteriana para exercer os seus efeitos biológicos sobre a saúde. Porém, existem diversos fatores que cooperam para a redução da viabilidade probiótica como componentes da matriz alimentar, o processo de fabricação e o armazenamento a longo prazo (8). Assim, os paraprobióticos são mais efetivos e possuem maior segurança para as aplicações alimentícias que os microrganismos viáveis, porque sua viabilidade não é exigida durante o consumo ou na produção industrial (29).

As vantagens da aplicação dos paraprobióticos em alimentos estão relacionadas com a vida útil estendida sem alterações sensoriais do produto, pois não há interações dos microrganismos com os compostos da matriz alimentar ou ingredientes (7).

Os paraprobióticos podem manter-se estáveis em ampla faixa de pH e de temperatura, o que permite o acréscimo dos mesmos em alimentos mais ácidos e antes do tratamento térmico, o que minimiza as chances de contaminação pós-processamento, economia durante o armazenamento e transporte, pois dependendo do produto, não há necessidade de cadeia de frio (7, 4).

PÓS-BIÓTICO

A definição do termo pós-biótico tem sido razão de discordância entre pesquisadores e vem sendo discutida e atualizada à medida em que os estudos e descobertas avançam (36).

Os pós-bióticos, de forma geral, são subprodutos (metabólitos) dos probióticos e podem ser encontrados naturalmente em alimentos fermentados (37, 29). Como exemplo, tem-se o ácido lático, peptídeos secundários e muitos outros metabólitos produzidos na fermentação do leite pelas bactérias do ácido lático, que apresentaram relação com a promoção de saúde (36, 34, 27).

Os pós-bióticos apresentam uma série de ações fisiológicas benéficas no organismos como: anti-inflamatório, antioxidante, anti-hipertensivo, antiproliferativo, antimicrobiano, hipocolesterolêmico e imunomoduladora (37, 29), sendo as mesmas dependentes da estirpe usada na sua obtenção.

Para sua obtenção comercial é necessário a utilização de métodos que causem a ruptura celular microbiana, como os tratamentos térmicos e enzimáticos, seguido de etapas de extração e limpeza (29).

As tecnologias atualmente desenvolvidas para a produção de pós-bióticos são baseadas em provocar a destruição de células de probióticos, utilizando técnicas de ionização, radiação, extração por solvente, tratamentos térmicos, radiação ultravioleta, alta pressão isostática, tratamentos enzimáticos, sonicação, centrifugação, purificação em coluna e liofilização (38).

Alguns estudos têm avaliado a utilização de pós-bióticos em alimentos como uma estratégia para o biocontrole, visando impedir ou pelo menos retardar o crescimento de microrganismos patogênicos ou deterioradores, devido às suas propriedades antimicrobianas. Os principais mecanismos antimicrobianos dos pós-bióticos estão relacionados com a acidificação do citoplasma celular e à formação de poros nas membranas celulares e os antimicrobianos conhecidos são ácidos orgânicos, bacteriocinas, peptídeos, ácidos graxos e compostos de peróxido de hidrogênio (38).

CONCLUSÕES

O desenvolvimento de um produto probiótico deve estar de acordo com as exigências preconizadas quanto à viabilidade celular bacteriana a fim de exercer os seus efeitos biológicos sobre a saúde humana. Além disso, existem estudos científicos que expressam a eficácia tecnológica e os efeitos profiláticos dos probióticos, paraprobióticos e pós-bióticos em distúrbios ou doenças, incluindo a redução dos sintomas gastrointestinais, prevenção e controle da obesidade, diabetes e alguns tipos de câncer.

Entretanto, até o momento nenhuma agência reguladora regulamentou o uso de paraprobióticos e pós-bióticos ou determinou parâmetros para alimentos ou suplementos alimentares contendo os mesmos. Entretanto, em alguns países existe algum avanço para formulações pós-bióticas para uso em aplicações médicas ou farmacêuticas. De forma geral, as evidências de estudos pré-clínicos e clínicos demonstram que em diversas situações, dependendo do mecanismo de ação, os efeitos dos probióticos não dependem da viabilidade celular, sugerindo um amplo uso de células probióticas não viáveis (paraprobióticos) ou de pós-bióticos na indústria de alimentos, considerando como vantagens maior segurança e vida útil mais longa dos produtos obtidos. Porém a falta de legislação que estabeleça os parâmetros dificulta a produção e comercialização no Brasil. Além disso, os termos paraprobióticos e pós-bióticos são recentes, sendo necessários mais estudos relacionados aos mesmos.

REFERÊNCIAS

1. Lopez EM, Corona NR, Malo AL. Advances in probiotic incorporation into cereal-based baked foods: Strategies, viability and effects: a review. Applied Food Research. 2023, v.e, n.2, p.100330.
2. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, Sanders ME. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology. 2014, 11(8), 506-514.
3. Ayichew T, Belete A, Alebachew T, Tsehaye H, Berhanu H, Minwuyelet A. Bacterial probiotics, their importances and limitations: A review. Journal of Nutrition and Health Sciences. 2017, 4, 202-209.
4. Toalá JEA, Garcia HA, Montoya MCE, Garcia HS, Cordoba BV, Cordova AFG, Mendoza AH. Efeito modulador do conteúdo intracelular de Lactobacillus casei CRL 431 contra o estresse oxidativo induzido por a flatoxina B1 em ratos. Probióticos e proteínas antimicrobianas. 2018, 11 (2), 470-477.
5. Taverniti V, Guglielmetti S. The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: Proposal of paraprobiotic concept). Genes and Nutrition. 2011, v. 6, p. 261-274.
6. Zendeboodi F, Khorshidian N, Mortazavian AM, Cruz AG. Probiotic: conceptualization from a new approach. Current Opinion on Food Science. 2020.
7. De Almada CN, Almada CN, Martinez, RCR, Sant'Ana AS. Paraprobiotics: Evidence on their ability to modify biological responses, inactivation methods and perspectives on their application in foods. Trends in Food Science and Technology. 2016. 58, 96–114.
8. Sarkar S. Whether viable and dead probiotics are equally efficacious?. Nutrition and Food Science. 2018. v.48, p. 285-300.
9. Sawada D, Sugawara, T, Nishida Y, Aihara K, Aoki Y, Takehara I, Takano K, Fujiwara S. Effect of continuous ingestion of a beverage prepared with *Lactobacillus gasseri* CP2305 inactivated by heat treatment on the regulation of intestinal function. Food Res Int. 2016. v. 79, p. 33-39.
10. Sugawara T, Sawada D, Ishida Y, Aihara K, Aoki Y, Takehara I, Takano K, Fujiwara S. Regulatory effect of paraprobiotic *Lactobacillus gasseri* CP2305 on gut environment and function.Microb Ecol Health Dis. 2016. v. 27, p.30259.
11. Nishida K, Sawada D, Kawai T, Kuwano Y, Fujiwara S, Rokutan K. Para-psychobiotic *Lactobacillus gasseri* CP2305 ameliorates stress-related symptoms and sleep quality. J Appl Microbiol. 2017. v. 123, p.1561-1570.
12. Sawada D, Kuwano Y, Tanaka H, Hara S, Uchiyama Y, Sugawa T, Fujiwara S, Rokutan K, Nishida K. Daily intake of *Lactobacillus gasseri* CP2305 relieves fatigue and stress-related symptoms in male university Ekiden runners: a double-blind, randomized, and placebo-controlled clinical trial. J Funct Foods. 2019. v.57, p. 465-476.

13. Kim H, Kim HR, Jeong BJ, Lee SS, Kim TR, Jeong JH, Chung DK. Effects of oral intake of kimchi-derived *Lactobacillus plantarum* K8 lysates on skin moisturizing. Journal of Microbiology and Biotechnology. 2015a. v.25, p.74-80.
14. Kim H, Kim HR, Kim NR, Jeong BJ, Lee JS, Jang S, Chung DK. Oral administration of *Lactobacillus plantarum* lysates attenuates the development of atopic dermatitis lesions in mouse models. 2014b. v.53, p.47-52.
15. Kim H, Jeon B, Kim WJ, Chung DK. Effect of paraprobiotic prepared from Kimchi-derived *Lactobacillus plantarum* K8 on skin moisturizing activity in human keratinocyte. 2020. v.75, p.104244.
16. Dash G, Raman NP, Prasad K, Makesh M, Pradeep MA, Sen S. Evaluation of paraprobiotic applicability of *Lactobacillus plantarum* in improving the immune response and disease protection in giant freshwater prawn, Macrobrachium rosenbergii. Fish & Shellfish Immunology. 2015. v.43, p.167-174.
17. Zheng X, Duan Y, Dong H, Zhang J. The effect of *Lactobacillus plantarum* administration on the intestinal microbiota of whiteleg shrimp Penaeus vannamei. Aquaculture. 2015. v.43, p.167-174.
18. Chuah LO, Foo HL, Loh TC, Alitheen NBM, Yeap SK, Mutalib NEA, Yusoff K. Os metabólitos pós-bióticos produzidos por cepas de Lactobacillus plantarum exercem efeitos seletivos de citotoxicidade nas células cancerosas. Medicina complementar e alternativa BMC. 2019. v.19, p.114.
19. Singh ST, Kamilya D, Kheti B, Bordoloi B, Parji H. Paraprobiotic preparation from *Bacillus* amyloliquefaciens FPTB16 modulates immune response and immune relevant gene expression in Catla catla. Fish & Shellfish Immunology. 2017. v.66, p. 35-42.
20. Moraes RM, Lescura CM, Milhan NVM, Ribeiro JL, Silva FA, Anbinder AL. Live and heat-killed *Lactobacillus* reuteri reduce alveolar bone loss on induced periodontitis in rats. Archives of Oral Biology. 2020. v.1, p. 103894.
21. Maghsood F, Johari B, Rohani M, Madanchi H, Saltanapour Z, Kadivar M. NI, M.; MADANCHI, H.; SALTANATPOUR, Z.; KADIVAR, M. Anti-proliferative and Anti-metastatic Potential of High Molecular Weight Secretory Molecules from Probiotic Lactobacillus Reuteri Cell-Free Supernatant Against Human Colon Cancer Stem-Like Cells (HT29-ShE). Internation Journal Of Pepide Research and Therapeutics, 2020. v. 1, p. 1-13.
22. Li N, Russell WM, Douglas-Escobar M, Hauser N, Lopez M, Neu J. Live and heat-killed Lactobacillus rhamnosus GG: Effects on proinflammatory and anti-inflammatory cytokines/chemokines in gastrostomy-fed infant rats. Pediatr. Res. 2009. v.66, p. 203-207.
23. Bloise E, Torricelli EM, Novembro R, Borges LE, Carrarelli P, Reis FM, Petraglia F. . Heat-killed Lactobacillus rhamnosus GG modulates urocortin and cytokine release in primary trophoblast cells. Placenta, 2010. v. 31, p.867-872.
24. Sakai Y, Tsukahara T, Bukawa W, Matsubara N, Ushida K. Cell preparation of Enterococcus faecalis strain EC-12 prevents vancomycin-resistant enterococci colonization in the cecum of newly hatched chicks. Poult. Sci. 2006. v.85, p. 273-277.
25. Moradi M, Mardani K, Tajik H. Characterization and application of postbiotics of Lactobacillus spp. on Listeria monocytogenes in vitro and in food models. LWT. 2019. v.111, p. 457-464.

26. Janser GJ, Waaij DVD. Prospects of use in opportunistic infections Review of the internal discussion. Germany, 1995.
27. Salminen S, Ouwehand A, Lee YK. The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology. 2021. p. 1-19.
28. Barros CP, Grom LC, Guimarães JT, Balthazar CF, Rocha RS, Silva R, Almada CN, Pimentel TC, Venâncio EL, Junior IC, Maciel PM, Freitas MQ, Esmerino EA, Silva MC, Duarte MCKH, Sant'Ana AS, Criz, AG. Paraprobiotic obtained by ohmic heating added in whey-grape juice drink is effective to control postprandial glycemia in healthy adults. Food Research International. 2021. v. 140, p. 109905.
29. Barros CP, Guimarâes JT, Esmerino, EA, Duarte MCKH, Silva MC. Paraprobiotics and postbiotics: concepts and potential applications in dairy products.Current Opinion in Food Science. 2020. v. 32, p. 1-8.
30. Safari MS, Keyhanfar M, Shafiei R. Investigating the antibacterial effects of some Lactobacillus, Bifidobacterium and acetobacter strains killed by different methods on Streptococcus mutans and Escherichia coli. Mol Biol Res Commun. 2019. 8(3):103-111.
31. Piqué N, Berlanga M, Miñana-Galbis D. Benefícios de saúde de probióticos mortos pelo calor (Tyndallized): Uma visão geral. *Int J Mol Sci*. 2019. 20(10):2534.
32. Ananta E, Knorr D. Comparação de vias de inativação de Lactobacillus rhamnosus inativado térmico ou de alta pressão ATCC 53103 por análise de citometria de fluxo. Microbiol de Alimentos. 2009; 26(5):542-546.
33. Wilkinson MG. Flow cytometry as a potential method of measuring bacterial viability in probiotic products: A review**.** 2010. Trends in Food Science and Technology. v. 78, p.1- 10.
34. Vinderola G, Reinheimer J, Salminen S. The enumeration of probiotic issues: from unavailable standardized culture media to a recommended procedure?. International Dairy Journal. 2019. v. 96, p. 58-65.
35. Sarkar A, Mackie AR. Engineering oral delivery of hydrophobic bioactives in real-world scenarios. Curr Opin Colloid Interface Sci. 2020;48:40–52.
36. Collado MC, Vinderola G, Salminen S. Postbiotics: fatos e questões em aberto. Um documento de posição sobre a necessidade de uma definição de consenso. *Micróbios de Benef*. 2019; 10(7):711-719.
37. Abd El-Ghany WA. Paraprobiotics and postbiotics: Contemporary and promising natural antibiotics alternatives and their applications in the poultry field. Open Vet J. 2020;10(3):323-330.
38. Rad AH, Maleki LA, Kafil HS, Abbasi A. Postbiotics: A novel strategy in food allergy treatment. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2021;61(3):492-499.