

FACULDADE DE ENFERMAGEM NOVA ESPERANÇA DE MOSSORÓ
CURSO BACHARELADO EM NUTRIÇÃO

SAMANTHA JAMILLY SILVA REBOUÇAS

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA SABOR GOIABA À BASE DE
SORO DO LEITE ENRIQUECIDA COM PROBIÓTICOS: UMA POSSÍVEL
ALIADA NA DISBIOSE EM PRATICANTES DE EXERCÍCIO FÍSICO
EXTENUANTE**

MOSSORÓ/RN
2022

SAMANTHA JAMILLY SILVA REBOUÇAS

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA SABOR GOIABA À BASE DE
SORO DO LEITE E ENRIQUECIDA COM PROBIÓTICOS: UMA POSSÍVEL
ALIADA NA DISBIOSE EM PRATICANTES DE EXERCÍCIO FÍSICO
EXTENUANTE**

Monografia apresentada à Faculdade Nova Esperança de Mossoró – FACENE/RN como requisito obrigatório para obtenção do título de bacharel em Nutrição.

Orientadora: Profa. Me. Lidiane Pinto de Mendonça.

MOSSORÓ/RN
2022

Faculdade de Enfermagem Nova Esperança de Mossoró/RN – FACENE/RN.
Catalogação da Publicação na Fonte. FACENE/RN – Biblioteca Sant'Ana.

R292d Rebouças, Samantha Jamilly Silva.

Desenvolvimento de bebida láctea sabor goiaba à base de soro do leite enriquecida com probióticos: uma possível aliada na disbiose em praticantes de exercício físico extenuante / Samantha Jamilly Silva Rebouças. – Mossoró, 2022.

60 f. : il.

Orientador: Profa. Me. Lidiane Pinto Mendonça.

Monografia (Graduação em Nutrição) – Faculdade de Enfermagem Nova Esperança de Mossoró.

1. Microbiota intestinal. 2. Derivados lacteos. 3. Exercícios físicos. 4. *Lactobacillus*. I. Mendonça, Lidiane Pinto. II. Título.

CDU 613.2:637.1

SAMANTHA JAMILLY SILVA REBOUÇAS

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA SABOR GOIABA À BASE DE
SORO DO LEITE ENRIQUECIDA COM PROBIÓTICOS: UMA POSSÍVEL
ALIADA NA DISBIOSE EM PRATICANTES DE EXERCÍCIO FÍSICO
EXTENUANTE**

Monografia apresentada à Faculdade Nova Esperança de Mossoró – FACENE/RN como requisito obrigatório para obtenção do título de bacharel em Nutrição.

Aprovado em 01 de 06 de 2022.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Ma. Lidiane Pinto de Mendonça – (FACENE/RN)
Presidente e Orientador

Prof. Dr. Rosueti Diógenes de Oliveira Filho – (FACENE/RN)
Membro

Profa. Dra. Jovilma Maria Soares de Medeiros – (FACENE/RN)
Membro

Dedico este trabalho a minha amada mãe,
Lucilene, que sempre esteve comigo, me
apoiou incondicionalmente e caminhou ao
meu lado por toda minha vida.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, a mim mesma por nunca ter desistido apesar de todas as dificuldades ao longo desses 1580 dias de graduação que me fizeram chegar até aqui.

A minha amada mãe, Lucilene e ao meu pai Odailson por todo o apoio e confiança incondicional ao longo dessa trajetória.

A minha querida professora, orientadora e amiga Lidiane Mendonça por sempre acreditar no meu potencial, mais do que eu mesma acreditei e por toda dedicação aos meus projetos.

Ao meu amigo e colega de curso Leonardo Augusto, por toda a parceria, choros e alegrias compartilhados que me permitiram crescer.

Aos professores Dr. Rosueti e Dra. Jovilma por aceitarem estar presentes na minha banca avaliadora.

A todos aqueles que de certa forma, direta ou indiretamente, me apoiaram verdadeiramente, muito obrigada.

“A fé na vitória tem que ser inabalável”
Marcelo Falcão

RESUMO

A microbiota intestinal adulta contém cerca de 100 trilhões de microrganismos e situações como estresse, consumo de álcool, dieta e exercício físico atuam como moduladores dessa comunidade, sendo a prática de exercícios extenuantes um fator que pode provocar a disbiose intestinal. Nessa perspectiva, a suplementação de probióticos surge no contexto esportivo como uma estratégia para assistir atletas e praticantes de exercício físico na melhora de sintomas associados à disbiose. O objetivo do presente trabalho foi desenvolver e avaliar uma bebida láctea à base de soro do leite sabor goiaba enriquecida com probióticos e correlacioná-la com os possíveis benefícios na disbiose intestinal em praticantes de atividade física extenuante. Para isso, foi desenvolvida uma bebida láctea sabor goiaba à base de soro do leite com proporção de 60,6 % de soro e adicionada de cepas probióticas *Lactobacillus plantarum* ($3,15 \times 10^9$ UFC/g), *Lactobacillus acidophilus* (4×10^9 UFC/g) e ambas em conjunto ($7,15 \times 10^9$ UFC/g). Em seguida, a bebida passou por análises de pH e visuais no dia 0 e 7 do experimento e, análise sensorial, índice de aceitabilidade e de intenção de compra. As bebidas apresentaram diminuição do pH no dia 0, aumento de pH do dia 0 para o dia 7 e diferenças visuais após os dias de armazenamento refrigerado. A análise sensorial foi realizada com 31 provadores e os resultados demonstraram boa aceitação das formulações LALP (*Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus plantarum*) e LP (*Lactobacillus plantarum*), com médias equivalentes aos termos “gostei ligeiramente” e “gostei regularmente”, não havendo diferenças estatísticas entre os atributos analisados. As bebidas LALP e LP apresentaram ainda os maiores percentuais de aceitação total, índice de aceitabilidade > 70 % em todos os atributos e melhor intenção de compra entre os participantes com média equivalente ao termo hedônico “provavelmente compraria”. Dos participantes, 51,61 % relataram praticar algum tipo de atividade física, sendo a musculação e o futebol os mais recorrentes, dessa forma, visto que a bebida láctea probiótica sabor goiaba apresentou uma boa aceitação pelo público, a bebida se torna um produto promissor destinado ao público esportivo e contribuirá para a utilização do soro no desenvolvimento de novos produtos de alto valor nutricional agregado.

Palavras-Chaves: Microbiota intestinal; Derivados lácteos; exercício físico; *Lactobacillus*.

ABSTRACT

The adult intestinal microbiota contains about 100 trillion microorganisms and situations such as stress, alcohol consumption, diet and exercise act as modulators of this community, and situations such as strenuous exercise practice can lead to dysbiosis. In this perspective, the supplementation of probiotics appears in the sport context as a strategy to assist athletes and practitioners of physical exercise to improve symptoms associated with dysbiosis. The objective of the present work was to develop a milk drink based on whey flavor guava enriched with probiotics and to correlate it with the possible benefits in intestinal dysbiosis in practitioners of strenuous physical activity. For this, a guava flavored milk drink based on whey was developed with a proportion of 60.6% of whey and added of probiotic strains *Lactobacillus plantarum* ($3,15 \times 10^9$ CFU/g), *Lactobacillus acidophilus* ($4,10 \times 10^9$ CFU/ g) and both together ($7,15 \times 10^9$ CFU/g). Then, the drink underwent pH analysis and visual analysis on day 0 and 7 of the experiment and, finally, sensory analysis and purchase intent. The drinks showed an increase in pH from day 0 to day 7 and visual differences after the days of cold storage. Sensory analysis was performed with 31 tasters and the results showed good acceptance of the LALP and LP formulations, with averages equivalent to the terms "I liked it slightly" and "I liked it regularly", with no statistical differences between the attributes analyzed. LALP and LP beverages also showed the highest percentages of total acceptance, an acceptability index >70% in all attributes and better purchase intention among participants with an average equivalent to the hedonic term "probably would buy". Of the participants, 51.61% reported practicing some type of physical activity, with weight training and soccer being the most recurrent, thus, since the probiotic milk drink guava flavor showed good acceptance by the public, the drink becomes a promising product intended for the sports public and will contribute to the use of whey in the development of new products with high added nutritional value.

Key-words: gastrointestinal microbiome; dairy products; physical exercise; lactobacillus

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGCC – Ácido graxo de Cadeia Curta

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BC – Bebida Controle

CLA – Ácido Linoleico Conjugado

COI – Comitê Olímpico Internacional

CPS – Concentrado Proteico de Soro

IA – Índice de Aceitabilidade

ILSI Europe – International Life Sciences Institute

LA – Lactobacillus Acidophilus

LALP – Lactobacillus Acidophilus e Lactobacillus Plantarum

LP – Lactobacillus Plantarum

PAMPs – Padrões Moleculares Associados a Patógenos

SBRT – Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TGI – Trato Gastrintestinal

TMAO – N-óxido-trimetilamina

UFC – Unidade Formadora de Colônia

WGO – World Gastroenterology Organisation

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Densidade bacteriana do trato gastrintestinal humano.....	10
Figura 2. Síndrome do Intestino Permeável.....	14
Figura 3. Processo de obtenção do soro do queijo.....	28
Figura 4: Elaboração da bebida láctea sabor goiaba.....	30
Figura 5. Adição das cepas probióticas à bebida láctea.....	30
Figura 6. Relação entre o consumo de bebida lácteas e o sexo dos participantes.....	33
Figura 7. Avaliação de variáveis visuais da bebida láctea no dia 0.....	38
Figura 8. Análise visual das bebidas lácteas no dia 7.....	39
Figura 9. Exercícios físicos praticados pelos participantes da análise sensorial.....	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Ocorrência de sintomas gastrintestinais em atletas de elite.....	18
Tabela 2. Cepas/Espécies probióticas associadas ao aumento na performance atlética e/ou recuperação.....	21
Tabela 3. Tratamentos e composição básica (UFC/g) da bebida láctea por 100 g	28
Tabela 4. Médias aritméticas e desvios padrão dos aspectos sensoriais das bebidas lácteas probióticas.....	34
Tabela 5. Índice de aceitabilidade (IA) das bebidas lácteas.....	35
Tabela 6. Médias para intenção de compra das bebidas lácteas elaboradas com diferentes cepas probióticas.....	36
Tabela 7. Média aritmética resultado da aferição das amostras em quintuplicata.....	38
Tabela 8. Variáveis observadas durante análise visual no dia 0.....	39

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	REFERENCIAL TEÓRICO	22
2.1	COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL HUMANA	22
2.2	ALTERAÇÕES NA MICROBIOTA INTESTINAL	25
2.2.1	Disbiose intestinal	25
2.2.1.1	Padrões dietéticos	26
2.3	MICROBIOTA INTESTINAL E EXERCÍCIO FÍSICO	28
2.3.1	Alterações na microbiota intestinal em praticantes de exercício físico	29
2.4	PROBIÓTICOS	31
2.4.1	Probióticos e atividade física	32
2.5	PROBIÓTICO COMO COMPONENTE DE PRODUTOS LÁCTEOS	34
2.5.1	Produção de bebida láctea com soro do leite	36
2.5.2	Bebida láctea com soro do leite saborizada com goiaba	38
3	METODOLOGIA	39
3.1	ELABORAÇÃO DA BEBIDA LÁCTEA	41
3.2.1	Análise de pH	42
3.2.2	Análise visual	43
3.2.3	Análise Sensorial	43
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5	CONCLUSÃO	55
	REFERÊNCIAS	56
	APÊNDICES	62
	APÊNDICE A – FORMULÁRIO DE ANÁLISE SENSORIAL	62
	APÊNDICE B - FORMULÁRIO PRÁTICA DE ATIVIDADE FÍSICA	50
	APÊNDICE C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	63

1 INTRODUÇÃO

O trato gastrintestinal humano abriga uma população complexa e dinâmica de microrganismos, a microbiota intestinal, que exerce uma influência marcante no hospedeiro durante a homeostase e a doença (THURSBY; JUGE, 2017). A microbiota intestinal adulta contém cerca de 100 trilhões de microrganismos, incluindo pelo menos 1.000 espécies diferentes de bactérias, com mais de 3 milhões de genes (BERMON *et al.*, 2015). Estima-se que diferentes subespécies tornem esse número maior ultrapassando o genoma humano (GILBERT *et al.*, 2018), sendo que mais de 90 % de todos os tipos filogenéticos bacterianos pertencem aos filos Bacteroidetes e Firmicutes (TURNBAUGH *et al.*, 2007).

Situações como estresse, consumo de álcool, exercício físico e escolhas dietéticas atuam como moduladores da microbiota intestinal de adultos, além da idade, genética e da localização geográfica que também agem na colonização e diversidade microbiana intestinal (CHAN *et al.*, 2013; YANG *et al.*, 2020). Uma microbiota considerada normal não é simplesmente uma coleção de microrganismos, mas uma inter-relação de diferentes grupos que trabalham juntos para beneficiar o hospedeiro. Grandes mudanças na proporção entre os filos presentes do TGI ou a expansão de novos grupos bacterianos levam à promoção de doenças, o que é conhecido como disbiose (WEISS; HENNET, 2017).

Os padrões dietéticos são fatores moduladores da microbiota intestinal, a respeito disso, Martinez et al. (2017) falam que a estrutura e a função da microbiota intestinal são fortemente influenciadas pela dieta ocidental, caracterizada por gorduras saturadas e insaturadas, açúcares simples e poucas fibras. Uma alimentação rica em gordura induz a disbiose através da ativação da atividade antimicrobiana pela secreção da bile, afetando o crescimento e/ou sobrevivência de alguns micróbios (CHAN *et al.*, 2013).

O exercício físico desempenha um papel modulador benéfico na homeostase e regulação da microbiota intestinal, atuando como um agente externo com capacidade de mudar a diversidade da microbiota intestinal, tanto qualitativo como quantitativamente (BERMON *et al.*, 2015). Os treinos e exercícios regulares têm sido associados com o aumento de Ácidos Graxos de Cadeia Curta (MARTTINEN *et al.*, 2020), e esse aumento promove uma alteração benéfica na diversidade da microbiota intestinal (RINNINELLA *et al.*, 2019). Uma maior razão de *Firmicutes* para *Bacteroidetes* está associada com um maior VO²max, além disso, mulheres que praticam exercício físico pelo menos 3 horas

por semana têm maior abundância de *Akkermansia muciphila*, uma bactéria produtora de butirato (DIVELLA *et al.*, 2021).

No entanto, o exercício físico extenuante promove alterações como imunodepressão, estresse oxidativo e sintomas no trato respiratório superior e gastrointestinal (LEITE *et al.*, 2018). Essas disfuncionalidades podem estar associadas à mudança de fluxo sanguíneo, aumento da motilidade intestinal e dos saltos mecânicos e alteração neuroendócrina (PETERS *et al.*, 2001). Para Lamprecht e Frauwallner (2012), os sintomas estão associados a alterações na permeabilidade intestinal, diminuição da função de barreira e aumento na produção de catecolaminas durante o exercício físico, logo surge a hipótese de que a suplementação de probióticos apropriada poderia ter um potencial de neutralizar a disfunção da barreira intestinal induzida pelo exercício.

O Comitê Olímpico Internacional – COI, define probióticos como microrganismos que, quando administrados oralmente por várias semanas, pode aumentar o número de bactérias benéficas no intestino. Os probióticos podem melhorar as propriedades de barreira intestinal, o estado antioxidativo e atenuar respostas inflamatórias em roedores após exercício exaustivo (MARTTINEN *et al.*, 2020). Além disso, em esportes de força os probióticos podem contribuir para os processos de hipertrofia muscular (LEITE *et al.*, 2018).

Os produtos probióticos atualmente consistem principalmente em produtos lácteos devido à facilidade de incorporação e manutenção da cepa nesta matriz (PENA, 2019). Para Plessas e colaboradores (2012), os leites fermentados e os iogurtes são considerados boas fontes de vitaminas e minerais, ao mesmo tempo que fornecem bactérias ácido-láticas que podem exercer benefícios adicionais à saúde.

Dentro do viés da sustentabilidade, para Guedes e colaboradores (2013) a conversão do soro do queijo em outros produtos tem se mostrado uma boa alternativa para que o descarte no meio ambiente seja evitado, dessa forma, a produção de bebida láctea no Brasil tem se tornado uma das principais opções de aproveitamento do soro de leite a baixo custo. Um ponto forte na tendência do mercado é a busca por alimentos práticos e nutritivos e a bebida láctea se encaixa nessa procura por bem-estar, nutrição e auxílio no bom funcionamento do organismo, sendo essa passível de incorporação de nutrientes e sabores (DA SILVA; PANDOLFI, 2020).

Nessa perspectiva, a goiaba por ser uma fruta fonte de licopeno, antioxidantes, elevados níveis de vitamina C, além de possuir vitamina A, do complexo B, sais minerais,

cálcio, fósforo, ferro, como também taninos, flavonoides e óleos essenciais, é sugerida na prevenção de cânceres e na regulação da flora intestinal (HAIDA *et al.*, 2016).

A possibilidade da produção de uma bebida láctea probiótica sabor goiaba surge como uma proposta de um alimento funcional, nutritivo e que atende às demandas do mercado que busca produtos práticos, saudáveis e que auxiliem no funcionamento intestinal. Nesse sentido, o objetivo dessa pesquisa foi desenvolver e avaliar uma bebida láctea sabor goiaba à base do soro do leite enriquecida com probióticos e correlacioná-la como uma possível aliada na disbiose intestinal em praticantes de exercício físico extenuante.

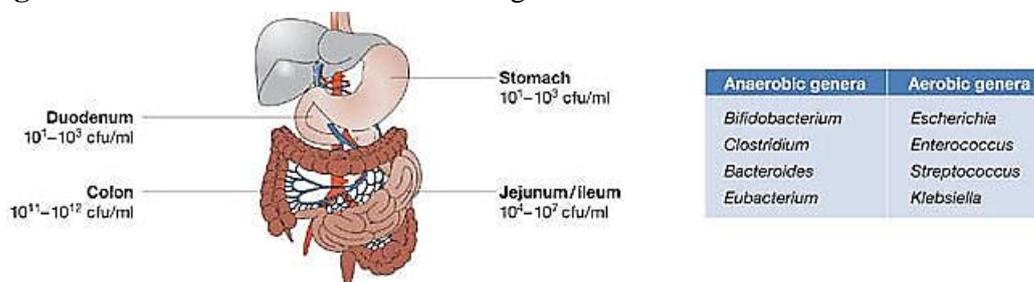
2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL HUMANA

O trato gastrointestinal (TGI) é colonizado por uma diversa comunidade de microrganismos que vivem ao longo desse órgão, formando a microbiota intestinal (LEITE *et al.*, 2019). A microbiota intestinal adulta contém cerca de 100 trilhões de microrganismos, incluindo pelo menos 1.000 espécies diferentes de bactérias, com mais de 3 milhões de genes (BERMON *et al.*, 2015). Além das bactérias, estão presentes ao longo do TGI outros microrganismos como vírus, fungos, leveduras, arqueas e fagos (CANI, 2018).

Em seu projeto de sequenciamento do genoma humano, Turnbaugh e colaboradores (2007) relatam que os micróbios que vivem dentro e sobre os humanos, ou seja, a microbiota, superam nossas células somáticas e germinativas em cerca de 10 vezes. Ainda segundo os autores, a grande maioria dos 10-100 trilhões de micróbios do trato gastrointestinal humano vive no cólon. A densidade das células bacterianas no cólon foi estimada em 10^{11} a 10^{12} por mililitro (Figura 1), o que torna o cólon um dos habitats microbianos mais densamente povoados na terra (RININNELLA *et al.*, 2019).

Figura 1. Densidade bacteriana do trato gastrointestinal humano



Fonte: Adaptado de O'hara e Shanahan (2006).

De acordo com Turnbaugh *et al.*, (2007), mais de 90 % de todos os tipos filogenéticos bacterianos pertencem a dois filos: Bacteroidetes e Firmicutes. Apesar de estes serem os mais dominantes no intestino humano, há também uma importante presença de Actinobactérias e Proteobactérias (HARMSEN e DE GOFFAU, 2016). O filo Firmicutes é composto por mais de 200 diferentes gêneros como *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus* e *Ruminococcus*. Já os Bacteroidetes têm como gêneros predominantes os *Bacteroides* e *Prevotella* (RININNELLA *et al.*, 2019).

Acredita-se que, em condições normais, o trato gastrintestinal fetal seja estéril ocorrendo a primeira exposição aos microrganismos durante a passagem pelo canal do parto (BELKAID e HAND, 2014). Entretanto, há evidências de que o DNA microbiano e até mesmo potenciais micróbios são expostos ao feto e ao intestino fetal através da placenta. Durante o nascimento, a colonização microbiana do trato gastrintestinal ocorre e se desenvolve rapidamente através dos micróbios maternos e ambientais (CHAN *et al.*, 2013).

Após a passagem através do canal do parto, as crianças são expostas a uma complexa população microbiana (SEKIROV *et al.*, 2009). Nesse sentido, Rinninella *et al.*, (2019), falam que crianças nascidas através de um parto vaginal apresentam uma microbiota com características da vagina materna, incluindo *Lactobacillus*, *Prevotella* e *Sneathia*. Já bebês que nasceram por parto cesáreo apresentam menos diversidade em termos de espécies bacterianas. Segundo Thursby e Juge (2017), a microbiota dessas crianças, é colonizada por bactérias anaeróbias facultativas como as espécies de *Clostridium*.

O período de amamentação exclusiva constitui uma rara oportunidade de manipular a microbiota intestinal em favor da saúde (GOLDSMITH *et al.*, 2015). O aleitamento materno oferece a primeira fonte de secreção imune mediada por anticorpos (LEITE *et al.*, 2019). Como falam Belkaid e Hand (2014), o colostro e o leite materno possuem micróbios vivos, metabólitos, IgA e células do sistema imunológico que moldam a microbiota do lactente e, conseqüentemente, a resposta do hospedeiro aos microrganismos. A amamentação exclusiva promove uma microbiota dominada por bifidobactérias, que é distinta daquela microbiota resultante de outras estratégias de alimentação infantil (GOLDSMITH *et al.*, 2015).

Nessa perspectiva, Hascoët *et al.*, (2011), mostraram em seu estudo que uma fórmula infantil mais próxima ao leite humano apresenta característica bifidogênica, promovendo um perfil de microbiota mais próximo àquele de crianças amamentadas. Os oligossacarídeos fucosilados presentes no leite materno podem ser utilizados por *Bifidobacterium longum* e várias espécies de *Bacteroidetes* permitindo que elas vençam outras bactérias por competição, tais como *E. coli* e *Clostridium perfringes* (THURSBY e JUGE 2017).

A introdução de alimentos sólidos e o fim da amamentação coincide com o período de maiores mudanças na microbiota intestinal (RINNINELLA *et al.*, 2019). No

primeiro ano de vida, cerca de 10^{13} a 10^{14} micróbios, cerca de 500 a 1.000 espécies colonizam o TGI e após o desmame a microbiota intestinal se torna firmemente estabilizada (GILBERT *et al.*, 2018). Segundo Rinninella *et al.*, (2019), até um ano de idade a composição da microbiota infantil tem uma abundante característica de *Akkermansia muciniphila*, Bacteroidetes, *Veillonella* e *Clostridium coccooides* spp. Nesse seguimento, Leite e colaboradores (2019) afirmam que a mudança na diversidade microbiana ocorre até os 3 anos, sendo a partir de então, estabelecida uma microbiota semelhante à do adulto.

O microbioma intestinal humano é altamente dinâmico durante o desenvolvimento dos vários estágios da vida e tem sido implicado em uma variedade de condições de saúde e doença. Nesse sentido, diversos fatores intrínsecos e extrínsecos são capazes de modular a colonização e diversidade da microbiota intestinal (YANG *et al.*, 2020). Situações como estresse, consumo de álcool, exercício físico e escolhas dietéticas atuam como moduladores da microbiota intestinal de adultos, além da idade, genética e localização geográfica que também agem na colonização e diversidade microbiana intestinal (CHAN *et al.*, 2013; YANG *et al.*, 2020).

A microbiota intestinal tem um papel crucial na função imune contra a colonização de bactérias patogênicas inibindo seu crescimento, consumindo nutrientes disponíveis e/ou produzindo bacteriocinas (RINNINELLA *et al.*, 2019). Nesse sentido, Belkaid e Hand (2014) falam que a alteração da composição e função da microbiota transformou a população microbiana em potenciais passivos. Portanto, uma microbiota saudável é definida pela alta diversidade e habilidade de resistir às mudanças sob estresse fisiológico (CHAN *et al.*, 2013).

A microbiota intestinal de cada indivíduo é caracterizada por uma combinação específica de espécies bacterianas devido a variações interindividuais e intraindividuais ao longo da vida (RINNINELLA *et al.*, 2019). De acordo com Divella *et al.*, (2021), a microbiota intestinal é mais saudável quando a diversidade bacteriana é maior. Nesse sentido, o Instituto Internacional de Ciências da Vida – ILSI Europe, afirma que uma microbiota normal não é simplesmente uma coleção de microrganismos, mas uma inter-relação de diferentes grupos que trabalham juntos para beneficiar o hospedeiro. Nesse sentido, grandes mudanças na proporção entre os filos presentes do TGI ou a expansão de novos grupos bacterianos podem levar a disbiose intestinal (WEISS e HENNET, 2017).

2.2 ALTERAÇÕES NA MICROBIOTA INTESTINAL

Alterações indesejadas na microbiota intestinal promovem um desbalanço entre as bactérias protetivas e prejudiciais, resultando em disbiose. Uma microbiota associada à doença é definida pela baixa diversidade de espécies, poucos micróbios benéficos e/ou a presença de patobiontes (CHAN *et al.*, 2013).

2.2.1 Disbiose intestinal

Tomasello e colaboradores (2016) falam que qualquer alteração na eubiose intestinal ou na composição da microbiota é chamada de disbiose, esses distúrbios na composição da comunidade microbiana podem levar a efeitos deletérios na saúde do hospedeiro. A disbiose causa uma mudança na composição bacteriana intestinal em favor de microrganismos patogênicos, resultando em uma ativação de citocinas pró-inflamatórias e PAMPs – Padrões Moleculares Associados a Patógenos – o que pode estar ligado à inflamação e à falta de eficácia do sistema imunológico (DIVELLA *et al.*, 2021).

Como consequência, a disbiose intestinal causa alterações nas chamadas “tight junctions” ou junções apertadas/oclusivas, que são responsáveis por manter a integridade da mucosa intestinal e sua permeabilidade (TOMASELLO *et al.*, 2016). As “tight junctions” são as mais importantes estruturas proteicas de barreira física que permitem a passagem seletiva de íons e pequenas moléculas (LAMPRECHT e FRAUWALLNER, 2013). Para esses autores, a habilidade de controlar e balancear a invasão de conteúdo prejudicial do intestino para o lúmen é chamada de função de barreira intestinal. Segundo Allam-Ndoul *et al.* (2020), a regulação da permeabilidade do epitélio intestinal é alcançada pelas junções apertadas que ligam, mecanicamente, as células epiteliais umas às outras.

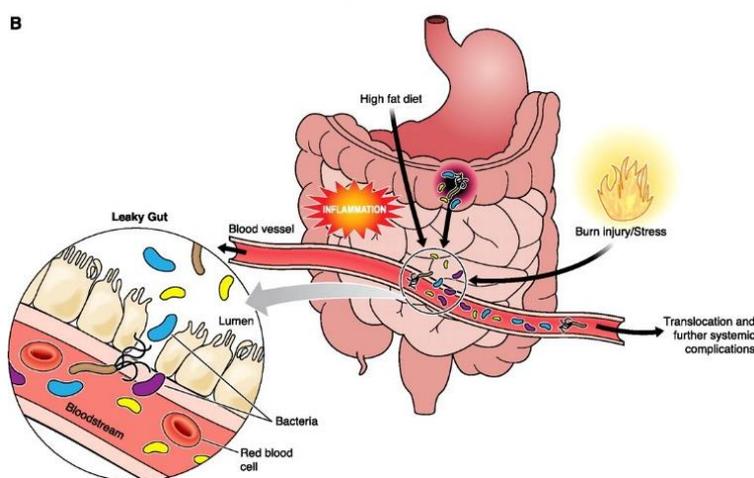
Allam-Ndoul e colaboradores (2020) relatam que as interações celulares entre as bactérias intestinais e o epitélio têm sido sugeridas como contribuintes chave para o remodelamento das “tight junctions” e também da permeabilidade intestinal. Segundo os autores, as junções apertadas são altamente dinâmicas e podem se adaptar às mudanças ambientais, entretanto, esses eventos podem romper parcial ou completamente a barreira intestinal, promovendo um aumento da permeabilidade intestinal e permitindo a entrada de componentes ambientais na circulação sistêmica.

A diminuição na competência das “tight junctions” leva a um “vazamento” na rota de absorção paracelular, o que permite a passagem de patógenos e toxinas do meio

intestinal, desafiando o sistema imune a produzir e melhorar as respostas imunológicas, esse evento é denominado endotoxemia (LAMPRECHT e FRAUWALLNER, 2013). Nessa perspectiva, a desregulação da homeostase da mucosa intestinal é chamada de síndrome “leaky gut” ou Síndrome do Intestino Permeável que resulta na translocação de bactérias ou de produtos bacterianos para a circulação sistêmica (SEKIROV *et al.*, 2010). Essa síndrome leva à endotoxemia e resulta em um aumento na suscetibilidade a infecções e doenças autoimunes (LAMPRECHT; FRAUWALLNER, 2013).

Segundo Sekirov *et al.*, 2010, a translocação bacteriana pode ser resultado tanto de causas internas, como microvilosidades com as funções prejudicadas, o que causa um super crescimento bacteriano (SIBO – Small Intestinal Bacterial Overgrowth), quanto de causas externas, tais como estresse, reações inflamatórias ou dietas não saudáveis o que causa a Síndrome do Intestino Permeável (figura 2).

Figura 2. Síndrome do Intestino Permeável



Fonte: Adaptado de Sekirov *et al.* 2010.

O desequilíbrio da microbiota intestinal (disbiose) está estreitamente associado à patogênese de diversas doenças que possuem como característica a permeabilidade intestinal, tais como Diabetes Mellitus tipo 2, Obesidade e Doenças Inflamatórias Intestinais, e esse desequilíbrio pode estar associado aos padrões dietético da população (CHAN *et al.*, 2013; HARMSSEN e DE GOFFAU, 2016; TOMASELLO *et al.*, 2016; ALLAM-NDOUL *et al.*, 2020).

2.2.1.1 Padrões dietéticos

A estrutura e a função da microbiota intestinal são fortemente influenciadas pela dieta ocidental, a qual é rica em gorduras saturadas e insaturadas, açúcares simples e baixa em fibras (MARTINEZ *et al.*, 2017). Nesse sentido, Chan *et al.* (2013) falam que a dieta ocidental mostrou um aumento de adiposidade como resultado da diminuição da razão de *Bacteroidetes/Firmicutes*. Os filos de *Bacteroidetes* estão possivelmente associados com perda de peso e magreza, enquanto *Firmicutes* e *Proteobacteria* são, geralmente, associados a dietas de baixa qualidade, obesidade e complicações metabólicas (ALLAM-NDOUL *et al.*, 2020).

Em seu estudo, David *et al.* (2014) mostraram que o consumo a curto prazo de dietas à base de plantas ou animais, alteraram a estrutura da comunidade microbiana. Os autores concluíram que a dieta à base de animais aumentou a abundância de *Bacteroides*, *Bilophila* e *Alistipes* – microrganismos tolerantes à bile – e diminuiu os níveis de microrganismos metabolizadores de polissacarídeos de plantas como *Roseburia*, *Eubacterium rectale* e *Ruminococcus bromii*. Segundo Rinninella e colaboradores (2019), alterações na microbiota intestinal causadas pela abundância de bactérias bile-tolerantes induz o aumento de TMAO – N-óxido-trimetilamina – componente com potencial pró-aterogênico que atua em doenças cardiovasculares. Os autores falam ainda que a fermentação de proteínas à base de plantas pode estar associada a um aumento da abundância de *Bifidobacterias* e *Lactobacillus*, estimulando a produção de Ácidos Graxos de Cadeia Curta.

A microbiota intestinal de cada indivíduo é caracterizada por grupos de bactérias, nomeada enterótipos (RINNINELLA *et al.*, 2019). Cada enterótipo representa um ecossistema de bactérias colonizadoras com distintas características funcionais e filogenéticas. A dieta ocidental está ligada a uma microbiota com predominância em *Bacteroides* (enterótipo 1) e é caracterizada por recuperar o máximo de energia através da fermentação de carboidratos e proteínas (DIVELLA *et al.*, 2021). Rinninella e colaboradores (2019) dizem que bactérias do enterótipo 1 utilizam primariamente as vias glicolíticas e pentose-fosfato, e que pessoas com o enterótipo 1 produzem mais biotina, riboflavina, ácido pantotênico e ácido ascórbico.

Segundo Chan *et al.* (2013), dietas que incluem o consumo de carnes vermelhas tendem a favorecer predominantemente um ecossistema intestinal rico em *Bacteroides*, enquanto *Prevotella* são espécies dominantes em vegetarianos. Para Divella *et al.* (2021), uma microbiota majoritariamente composta por *Prevotella* (enterótipo 2) está ligada ao

alto consumo de fibras e carboidratos e produz altos níveis de tiamina e ácido fólico. Já a preponderância em bactérias do gênero *Ruminococcus* (enterótipo 3) está ligada à propensão ao ganho de peso, pois apresenta facilidade na digestão de carboidratos simples e açúcares. De acordo com Rinninella e colaboradores (2019), os enterótipos 2 e 3 são capazes de degradar as glicoproteínas da mucina da camada mucosa intestinal.

Uma alimentação rica em gordura induz a disbiose através da ativação da atividade antimicrobiana pela bile, ou seja, a secreção da bile afeta o crescimento e/ou a sobrevivência de alguns micróbios (CHAN *et al.*, 2013). Nesse sentido, Weiss e Thierry (2017) falam que ácidos biliares não digeríveis criam um ambiente de baixo pH e com atividade fortemente antimicrobiana. Em países ocidentais, onde há alto consumo de proteína e gordura animal, uma microbiota intestinal saudável pode ser considerada aquela com uma composição amplamente dominada por *Clostridium* subtipo IV e XIVa, Bifidobactérias e pequenas quantidades de *Bacteroides* (HARMSSEN; DE GOFFAU, 2016).

Clarke *et al.*, (2014) relatam que a combinação da dieta e exercício impacta na diversidade microbiana do intestino, mais especificamente nos níveis de *Akkermansia muciniphilla*, bactéria degradadora de mucina e que foi correlacionada inversamente com a obesidade e distúrbios metabólicos. Nesse sentido, a prática de exercícios também pode promover efeitos fisiológicos bem conhecidos na fisiologia humana, sendo um agente externo com capacidade de mudar a diversidade da microbiota intestinal (BERMON *et al.*, 2015).

2.3 MICROBIOTA INTESTINAL E EXERCÍCIO FÍSICO

A composição e a atividade metabólica da microbiota intestinal podem ajudar na digestão de componentes dietéticos e promover energia durante o exercício, tal fato pode fornecer benefícios metabólicos para os atletas durante exercícios de alta intensidade e recuperação (MARTTINEN *et al.*, 2020). Essa habilidade de coletar energia, como citam Mohr e colaboradores (2020), pode modular o sistema imune e desempenhar um papel significativo na saúde, bem-estar e desempenho esportivo do atleta. Para esses autores, a microbiota intestinal tem uma influência indireta em vários índices de desempenho do exercício, tais como a sinalização através de miocinas e outras citocinas, modulando a ativação do eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal (HPA) e afetando as vias metabólicas associadas ao desempenho (MOHR *et al.*, 2020).

Uma maior razão de *Firmicutes* para *Bacteroidetes* está associada com maior VO²max e mulheres que praticaram exercício físico pelo menos 3 horas por semana tem maior abundância de *Akkermansia muciniphila*, bactéria produtora de butirato (DIVELLA *et al.*, 2021). O aumento nos exercícios pode melhorar o número de espécies benéficas e a microbiota se mostra responsiva à homeostase e variações fisiológicas devido ao exercício (MONDA *et al.*, 2017).

Em seu estudo, Estaki *et al.* (2016) analisaram a microbiota fecal de indivíduos com diferentes níveis de aptidão física e com dietas comparáveis e encontraram resultados que mostraram que a aptidão cardiorrespiratória está correlacionada com o aumento da diversidade microbiana em humanos saudáveis. Sujeitos com alta capacidade cardiorrespiratória mostraram uma microbiota com alta diversidade e relativa abundância de bactérias produtoras de butirato, o que é importante para a homeostase da microbiota intestinal (JANG *et al.*, 2019). Nesse sentido, Hughes e Holscher (2021) destacam que a microbiota intestinal pode influenciar na performance dos exercícios através da produção de AGCC, que são utilizados como combustível por colonócitos.

Os treinos e exercícios regulares têm sido associados ao aumento fecal de AGCC em humanos, e AGCC específicos têm sido associados com a melhora da performance física em estudos animais (MARTTINEN *et al.*, 2020). Rinninella *et al.* (2019), trazem que exercícios diários aumentam a diversidade da microbiota intestinal através da maior produção de AGCC, promovendo maior riqueza de *Firmicutes* como *Roseburia*, *Clostridiales*, *Lachnospiraceae* e *Erysipelotrichaceae*. Essa mudança proporciona maior expressão das “tight junctions” no colón, aumenta a resistência da barreira intestinal, reduz a permeabilidade da mucosa intestinal e inibe citocinas inflamatórias.

Resende e colaboradores (2021) investigaram o efeito de 10 semanas de exercício aeróbico moderado na composição da microbiota intestinal de homens não obesos e sedentários. Como resultado, os autores observaram uma redução de 47.67 % de *Proteobacteria* no grupo exercitado, o que pode ter sido uma regulação causada pelo exercício aeróbico moderado. Nessa perspectiva, fica claro que o exercício físico tem efeitos benéficos na microbiota intestinal, no entanto, quando realizado de forma extenuante pode ocasionar alterações na permeabilidade intestinal (LAMPRECHT; FRAUWALLNER, 2013).

2.3.1 Alterações na microbiota intestinal em praticantes de exercício físico

O exercício físico extenuante pode promover a imunodepressão, estresse oxidativo, sintomas no trato respiratório superior e no trato gastrointestinal (LEITE *et al.*, 2018). Corroborando essa informação, Peters *et al.* (2001) falam que sintomas como náuseas, azia, diarreia e sangramento gastrointestinal são comuns durante exercícios de longa distância como corrida e triátlon. Para Lamprecht e Frauwallner (2013), esses sintomas estão associados a alterações na permeabilidade intestinal e na diminuição da função de barreira, bem como a inflamação e estresse oxidativo.

O principal gatilho que leva a essa disfuncionalidade pode ser a mudança de fluxo sanguíneo que é desviado para a musculatura esquelética e coração (LAMPRECHT; FRAUWALLNER, 2013). Peters *et al.* (2001) relatam a diminuição do fluxo sanguíneo, o aumento da motilidade intestinal, o aumento dos saltos mecânicos e a alteração neuroendócrina como mecanismos que estão associados com a intensidade do exercício. Lamprecht e Frauwallner (2013) ressaltam que o aumento na produção de catecolaminas durante o exercício intenso e sua subsequente auto oxidação pode contribuir para o distúrbio no balanço redox mesentérico, além de situações como desidratação, osmolaridade alterada e modificação na motilidade intestinal.

Pugh e colaboradores (2017) verificaram sintomas gastrointestinais severos em 86% dos atletas de elite em sua pesquisa, e pelo menos um sintoma foi reportado como “moderadamente severo”. As mulheres reportaram mais sintomas de nível moderado como náusea, dor de fome, inchaço e evacuação incompleta. Na tabela 1 estão expressos alguns dos dados das principais ocorrências mencionadas no estudo.

Tabela 1. Ocorrência de sintomas gastrointestinais em atletas de elite

<i>Sintomas</i>	% de ocorrência
<i>Inchaço abdominal</i>	48 %
<i>Flatulência</i>	44 %
<i>Evacuação incompleta</i>	27 %
<i>Desconforto na parte superior do abdômen</i>	24 %
<i>Urgência de evacuação</i>	21 %

Fonte: Adaptado de Pugh *et al.*, (2017).

Nessa perspectiva segundo Hughes e Holscher (2021), embora os exercícios de intensidade baixa à moderada promovam a motilidade e diminuam o tempo de trânsito intestinal, exercícios prolongados (≥ 2 h) podem ter efeitos opostos, criando distúrbios

gastrintestinais. Monda *et al.* (2017) complementam dizendo que exercícios prolongados determinam um aumento na permeabilidade intestinal, comprometendo a função de barreira intestinal, resultando em translocação bacteriana do colón. Exercícios moderados estão associados à redução dos níveis de câncer de ceco, enquanto exercícios de *endurance* exaustivos têm sido associados a distúrbios no TGI devido aos efeitos de toxicidade induzidos pelo fluxo sanguíneo local e translocação bacteriana para a corrente sanguínea (BERMON *et al.*, 2015).

As adaptações intestinais induzidas pelo exercício afetam o ambiente microbiano de forma que podem selecionar quais microrganismos sobrevivem, levando a alterações na composição microbiana intestinal (RESENDE *et al.*, 2021). Em seu estudo, esses autores observaram que o pico de VO_2^{max} de sujeitos exercitados foi positivamente associado com índices de diversidade na microbiota intestinal.

Para Leite e colaboradores (2018), a suplementação de probióticos tem ganhado uma atenção especial devido a efeitos benéficos que podem indiretamente influenciar a performance de atletas prevenindo doenças que afetam negativamente o desempenho. Levando em consideração o fato de que a função da barreira intestinal é afetada pelo metabolismo da microbiota, surge a hipótese de que a suplementação de probióticos apropriada poderia ter potencial para neutralizar a disfunção da barreira intestinal induzida pelo exercício (LAMPRECHT; FRAUWALLNER, 2012).

2.4. PROBIÓTICOS

A Food and Agriculture Organization (FAO) e a World Health Organization (WHO), conceituam os probióticos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro. Segundo a World Gastroenterology Organisation (WGO), as espécies *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são as mais usadas como probióticos, porém *Saccharomyces boulardii*, *E. coli* e *Bacillus* também são utilizadas.

Em rigor, o termo “probiótico” deve ser reservado para os micróbios vivos que, em estudos humanos controlados, demonstraram produzir benefícios à saúde (WGO, 2017). Segundo Divella *et al.* (2021), os probióticos podem exercer efeitos no intestino delgado e no intestino grosso se eles sobreviverem ao ambiente gástrico ácido e à bile. Estudos pré-clínicos demonstraram que os probióticos podem melhorar as propriedades

de barreira intestinal, o estado antioxidativo e atenuar respostas inflamatórias em roedores após exercício exaustivo (MARTTINEN *et al.*, 2020).

Há mais de 100 anos, Elie Metchnikoff postulou que as bactérias ácido-láticas ofereciam benefícios à saúde e sugeriu que a ‘autointoxicação intestinal’ e o envelhecimento resultante poderiam ser suprimidos modificando a flora intestinal e utilizando micróbios úteis para substituir os proteolíticos (WGO, 2017).

Nessa perspectiva, Coqueiro e colaboradores (2017) afirmam que para atenuar ou até mesmo reverter os efeitos deletérios causados pelo exercício exaustivo, diversas intervenções nutricionais têm sido utilizadas, e o uso da suplementação de probióticos é uma delas.

2.4.1 Probióticos e atividade física

A suplementação de probióticos está atraindo a atenção da comunidade esportiva por promover benefício à saúde relacionado ao treinamento e desempenho de exercícios (PYNE *et al.*, 2014). A maioria dos estudos realizados com atletas tem mostrado bons resultados na melhora de sintomas gastrintestinais, principalmente em relação à severidade, episódios e duração (LEITE *et al.*, 2018).

Segundo Marttinen e colaboradores (2020), a associação entre probióticos e desempenho físico e mecanismos plausíveis subjacentes a essas ações foram abordados em estudos animais, sugerindo que a suplementação de probióticos protege contra mudanças fisiológicas indesejáveis que podem ser induzidas por exercícios extenuantes. A suplementação de probióticos em combinação com outras estratégias dietéticas pode assistir os atletas com um histórico de problemas intestinais (PYNE *et al.*, 2014). Além disso, em esportes de força, os probióticos podem contribuir para os processos de hipertrofia muscular (LEITE *et al.*, 2018).

De acordo com Pyne e colaboradores (2014), as espécies mais comuns estudadas em atletas e sujeitos ativos são *Lactobacillus casei*, *L. fermentum*, *L. acidophilus* e *L. rhamnosus*. Nesse sentido, Leite *et al.*, (2018) falam que espécies como *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* GG e *B. bifidum* parecem ser interessantes para melhorar os sintomas gastrintestinais induzidos pelo exercício. De acordo com Marttinen e colaboradores (2020), a suplementação de probióticos tem mostrado um aumento no tempo até a fadiga em estudos clínicos e pré-clínicos entre atletas e não atletas. Segundo esses autores, a

cepa *Lactobacillus plantarum* TWK10 está entre as mais estudadas em termos de resultados de desempenho físico.

A Sociedade Internacional de Nutrição Esportiva apresentou evidências que os probióticos podem promover alguns benefícios clínicos em atletas (Tabela 2).

Tabela 2. Cepas/Espécies probióticas associadas ao aumento na performance atlética e/ou recuperação.

Espécie/Cepa probiótica	Quantidade	Benefício associado
B. coagulans GBI-30, 6086 (BC30)	1 x 10 ⁹ UFC	Efeitos benéficos em combinação com proteínas na recuperação do exercício
B. breve BR03 + S. thermophilus FP4	5 x 10 ⁹ UFC	Cada uma tem efeitos benéficos na recuperação do exercício e no desempenho após exercícios que causam danos musculares
L. delbrueckii ssp. bulgaricus	1 x 10 ⁵ UFC	Pode aumentar o VO ² max e o poder aeróbico
L. acidophilus SSP, L. delbrueckii bulgaricus, B. bifidum, e S. salivarius thermophilus	4 x 10 ¹⁰ UFC	Administrado em forma de iogurte pode aumentar o VO ² max
L. plantarum TWK10	1 x 10 ¹⁰ UFC	Tem mostrado um aumento na performance endurance
L. acidophilus, L. rhamnosus, L. casei, L. plantarum, L. fermentum, B. lactis, B. breve, B. bifidum e S. thermophilus	4.5 x 10 ¹⁰ UFC	Pode aumentar o tempo de execução até a fadiga no calor

Fonte: Adaptado de JÄGER *et al.*, (2019).

Segundo Vitale e Getzin (2019), os benefícios promovidos pelos probióticos podem ajudar os atletas em termos de conforto e recuperação e, portanto, indiretamente desempenhar um papel na performance. Em um estudo conduzido por Martarelli *et al.*, (2011), foram analisados os efeitos da suplementação de *Lactobacillus rhamnosus* IMC 501[®] e *Lactobacillus paracasei* IMC 502[®] em atletas durante quatro semanas de atividade

física intensa. Os autores observaram que a suplementação de probióticos aumentou os níveis plasmáticos de antioxidantes, neutralizando as espécies reativas de oxigênio.

Os *Lactobacillus* são microrganismos gram-positivos, catalase negativos que produzem, principalmente, ácido lático como principal produto metabólico final da fermentação de carboidratos (POT *et al.*, 2014). Nesse sentido, em estudos de microbiota intestinal, *Lactobacillus* foi relatado como o probiótico mais proeminente do grupo de bactérias do ácido lático (AZAD *et al.*, 2018). Segundo Pot e colaboradores (2014), as espécies mais representativas do gênero *Lactobacillus* são conhecidas por sua aplicação na fermentação de alimentos e algumas cepas específicas têm sido reconhecidas com propriedades probióticas.

Tendo em vista esse fato, Huang *et al.* (2019) administraram cepas de *Lactobacillus plantarum* PS128 a 20 atletas de triatlo com pelo menos 5 anos de treinamento. Os autores observaram uma elevação significativa de AGCC no grupo que foi suplementado, o que pode melhorar o desempenho de *endurance*. Os resultados sugeriram que, por meio da suplementação, o *L. plantarum* PS128 contribuiu para a regulação da inflamação, oxidação e integridade gastrointestinal causada por exercícios de alta intensidade. Como conclusão observou-se o aumento, no grupo de atletas, de gêneros *Akkermansia*, *Bifidobacterium*, *Butyricimonas* e *Lactobacillus*, podendo a suplementação ser aplicada como potencial modulador da microbiota funcional.

Em estudo realizado por Clancy *et al.* (2006), atletas recreativos fadigados foram suplementados por 1 mês com cápsulas diárias de *Lactobacillus acidophilus* e como conclusão os pesquisadores observaram que após a suplementação houve um aumento na produção de IFN- γ pelas células T CD4, sugerindo que o estado imunológico pode ser modulado pela suplementação de probióticos. Em um ensaio clínico randomizado proposto por Salarkia e colaboradores (2013), os pesquisadores avaliaram os efeitos de um iogurte probiótico no desempenho de nadadoras. A bebida era composta por múltiplas cepas, dentre elas, *Lactobacillus acidophilus* e os autores obtiveram um achado importante que foi a redução de infecções respiratórias após o consumo do iogurte probiótico.

2.5 PROBIÓTICO COMO COMPONENTE DE PRODUTOS LÁCTEOS

De acordo com o Instituto Internacional de Ciências da Vida – ILSI Europe, para a aplicação em produtos alimentícios, os probióticos precisam ser capazes de sobreviver

até que tenham alcançado a parte do trato gastrintestinal em que exercerão seus supostos efeitos. Assim, os estudos de caracterização da linhagem devem mostrar que a linhagem resiste à passagem pelas principais barreiras químicas e biológicas do corpo e atinge o intestino na forma ativa (ANVISA, 2018). Nessa perspectiva, Kok e Hutkins (2018) falam que culturas de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* foram detectados em amostras de duodeno de indivíduos intubados dentro de 15 minutos após o consumo de iogurte fresco. Diante disso, a adição de um probiótico a alimentos ou suplementos será considerada uma indicação de saúde somente se houver benefícios documentados com base em estudos clínicos (ILSI, 2013).

Os probióticos estão disponíveis comercialmente em cápsulas ou comprimidos, sachês em pó ou em forma de líquidos e em comidas específicas como iogurtes ou barras nutricionais (JÄGER *et al.*, 2019). Nesse sentido, a RDC n° 241/2018 da ANVISA tem como princípios gerais que o uso de probióticos em alimentos requer a comprovação da sua segurança e benefícios à saúde. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, a linhagem probiótica deve ser segura para o uso pretendido, considerando a população-alvo e as condições de uso recomendadas. Um critério importante na seleção de um microrganismo probiótico é que ele seja de origem humana, uma vez que os produtos são, geralmente, destinados ao consumo humano e considera-se que os microrganismos funcionam melhor em um ambiente semelhante àquele onde foram isolados (PLESSAS *et al.*, 2012).

De acordo com a WGO (2017), a dose de probióticos necessária varia muito em função da cepa e do produto. Embora muitos produtos forneçam entre 1 – 10 bilhões de UFC/dose, alguns produtos demonstram ser eficazes em níveis mais baixos, enquanto outros requerem quantidades maiores (WGO, 2017). Nesse sentido, Plessas e colaboradores (2012) falam que números adequados de células viáveis de mais de 10^6 UFC/ml precisam ser consumidos regularmente para exercer benefícios probióticos para os consumidores. Os autores destacam ainda que microrganismos probióticos contribuem pouco para as características organolépticas dos produtos e crescem lentamente no leite (PLESSAS *et al.*, 2012).

Os produtos probióticos hoje consistem principalmente em produtos lácteos devido à facilidade de incorporação e manutenção da cepa nesta matriz (PENA, 2019). A popularidade de produtos lácteos fortificados com prebióticos e probióticos continua a crescer à medida que os consumidores desejam alimentos saborosos e que atendam às

suas necessidades de saúde (ALLGEYER *et al.*, 2010). Para Plessas e colaboradores (2012), os leites fermentados e os iogurtes são considerados boas fontes de vitaminas e minerais, ao mesmo tempo que fornecem bactérias ácido-láticas que podem exercer benefícios adicionais à saúde. Alguns dos microrganismos mais utilizados para iogurtes funcionais são *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacteria* ssp (ANTUNES, CAZETTO; BOLINI, 2004).

A importância do consumo de alimentos probióticos com uma mistura específica de bactérias tem sido amplamente estudada desde o início do século 20 e, de acordo com Azad e colaboradores (2018), o iogurte tem chamado a atenção para a manutenção da boa saúde por meio do desenvolvimento do sistema digestivo e da prevenção de várias doenças.

De acordo com a tradição e os vários padrões de identidade nacionais e internacionais, o iogurte é feito com uma cultura contendo cepas de *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* subsp *bulgaricus* (KOK; HUTKINS, 2018). Contudo, segundo esses mesmos autores, muitos produtos comerciais são suplementados com bactérias probióticas, em especial *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* para promover benefícios adicionais. Aliado a este fato, a produção de bebidas lácteas tem conquistado o mercado em razão de sua boa aceitação sensorial, elevado valor nutritivo, baixo custo de produção e simplificação do processo (DE PAULA *et al.*, 2012).

A utilização do soro de queijo na elaboração de produtos lácteos apresenta excelente valor nutritivo, além de constituir uma forma racional de aproveitamento do subproduto (SOARES *et al.*, 2011). Sobre isso, Lima e Rocha (2017) falam que no processo de fabricação do queijo, não há a conversão de cem por cento da matéria prima leite no produto queijo, com isso, cerca de 90 % do volume de leite utilizado na fabricação de queijos resulta em soro.

2.5.1 Produção de bebida láctea com soro do leite

O soro de leite é um subproduto obtido por meio da fabricação de queijo ou caseína e apresenta-se na forma líquida com cor amarelo-esverdeada (LIMA; ROCHA, 2016). As propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro do leite foram abordadas por Sgarbieri (2004), que aponta os três processos principais pelos quais o soro do leite pode ser obtido: a) pelo processo de coagulação enzimática (enzima quimosina), resultando no coágulo de caseínas, matéria-prima para a produção de queijos; b)

precipitação ácida no pH isoeletrico, resultando na caseína isoeletrica, que é transformada em caseinatos e no soro ácido; c) separação física das micelas de caseína por microfiltração, obtendo-se um isolado proteico.

A produção de bebida láctea adicionada de soro em sua formulação vem ganhando um mercado muito grande, principalmente com o maior nível de informação sobre a importância do cálcio, a qualidade das proteínas e o papel das bactérias probióticas para a saúde (THAMER e PENNA, 2006). Sobre isso, Antunes, Cazetto e Bolini (2004) apontam que na tecnologia de alimentos, a prática usual dos laticínios é de descartar o soro de leite resultante da produção de queijos, porém, quando os laticínios investem no aproveitamento e concentração do soro, acabam se favorecendo das propriedades funcionais fisiológicas das proteínas que o compõe. Para Thamer e Penna (2006), o termo “bebida láctea” tem sentido amplo e pode englobar uma série de produtos fabricados com leite e soro, podendo conter cultivos de bactérias lácticas já tradicionais, acidulantes, aromatizantes, espessantes, emulsificantes entre outros.

Um ponto importante a ser observado e pontuado por Thamer e Penna (2006) é que o pH do soro do queijo interfere na viabilidade da microflora probiótica em leites fermentados, dessa forma, com o baixo pH ocorre uma redução nas contagens de células viáveis de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium*. Nesse sentido, segundo a Instrução Normativa nº46 de 2007, o iogurte deve cumprir, como requisito, o valor mínimo de 10^7 UFC/g de bactérias lácticas totais, no caso em que se mencione o uso de bifidobactérias, a contagem será de no mínimo 10^6 UFC/g.

O concentrado proteico de soro (CPS) pode conferir propriedades de interesse em iogurtes, modificando as propriedades de textura e dessoragem dos produtos aos quais é aplicado, observando-se aumento da firmeza e coesividade. Dois fatores são de grande influência nas características de textura do iogurte: a adição de sólidos e o tratamento térmico (ANTUNES; CAZETTO e BOLINI, 2004). A respeito disso, de acordo com o Dossiê Técnico de Fabricação de Iogurtes produzido pelo Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas (SBRT), o binômio tempo-temperatura promove modificações de importância na estrutura físico-química das proteínas, provocando uma desnaturação parcial das proteínas do soro, o que promove a formação de um coágulo estável.

No preparo da bebida láctea com substrato constituído por soro do leite, o processo constitui-se previamente de uma pasteurização eficiente, em seguida ajusta-se a temperatura do substrato abaixando-se a temperatura. Depois ocorre a inoculação da

cultura probiótica que pode acompanhar outras bactérias ácido-láticas, que contribuem para as características do produto final (SOARES *et al.*, 2011; SBRT, 2008). Nesse processo de fermentação ocorre a produção de ácido lático como produto principal e a produção de pequenas quantidades de outros subprodutos que influenciam nas características organolépticas do produto (SBRT, 2008).

2.5.1.1 Bebida láctea com soro do leite saborizada com goiaba

A *Psidium guajava* L é conhecida como goiaba, pertence à família Myrtaceae, bastante consumida no estado do Rio Grande do Norte, é um fruto carnoso do tipo baga com polpa doce-acidulada e internamente contém numerosas sementes pequenas e muito duras, que são ricas em fibras, principalmente celulose e lignina (HAIDA *et al.*, 2016). Segundo Iha *et al.* (2008), existem dois tipos mais comuns, a vermelha e a branca, sendo a primeira a mais nutritiva e saborosa. A goiaba é fonte de licopeno, que de acordo com Haida *et al.*, (2016), é um dos mais potentes antioxidantes, sendo sugerido na prevenção de cânceres, da formação de placas de gorduras nos vasos sanguíneos e na regulação intestinal.

Além de elevados níveis de vitamina C, a goiaba também possui vitamina A, complexo B, sais minerais, cálcio, fósforo, ferro, como também taninos, flavonoides e óleos essenciais (HAIDA *et al.*, 2016). Na medicina popular é utilizada para cólicas, colite, diarreia, disenteria e dor de barriga e o chá das folhas são úteis contra a diarreia, além de terem propriedades antiespasmódicas (IHA *et al.*, 2008). De acordo com Haida *et al.* (2016), de modo geral a goiaba não possui quase nenhuma gordura e não possui muito açúcar, possuindo alta aceitação no mercado devido as suas propriedades nutritivas, sensoriais e biofuncionais, sendo indicada para qualquer tipo de dieta.

3 METODOLOGIA

O presente estudo caracterizou-se como uma pesquisa experimental que, segundo Gil (2017), consiste essencialmente em determinar um objeto de estudo, selecionar as variáveis capazes de influenciá-lo e definir as formas de controle e de observação dos efeitos que a variável produz no objeto. Segundo o modelo clássico de pesquisa experimental, o pesquisador precisa manipular pelo menos um dos fatores que acredita ser responsável pela ocorrência do fenômeno que está sendo pesquisado (GIL, 2017).

O produto foi desenvolvido e analisado sensorialmente no laboratório de Técnica e Dietética da Faculdade Nova Esperança de Mossoró – FACENE/RN, na cidade de Mossoró, Rio Grande do Norte. Posteriormente as amostras foram submetidas a análises físico-químicas executadas no laboratório de química, as quais foram verificados o valor de potencial hidrogeniônico – pH no dia 0 e no dia 7 do experimento. Além disso, foram realizadas análises visuais quanto aos aspectos de homogeneidade, cor e viscosidade da bebida láctea.

Toda a comunidade acadêmica foi convidada a participar da pesquisa e os critérios de inclusão foram: ser funcionários, docentes ou discentes com idade igual ou superior a 18 anos da Faculdade Nova Esperança de Mossoró – FACENE/RN, que não apresentassem intolerância ou alergia aos componentes da bebida e que assinassem o TCLE. Em relação aos critérios de exclusão destacam-se: indivíduos menores de 18 anos da Faculdade Nova Esperança de Mossoró – FACENE/RN e que possuíssem intolerância ou alergia ao produto. Antes do início da análise os participantes foram instruídos sobre a necessidade da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, dessa forma, foram excluídos também os participantes que não assinaram o TCLE.

As cepas probióticas de *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus Plantarum* foram obtidas comercialmente através de uma farmácia de manipulação na cidade de Mossoró, Rio Grande do Norte. As polpas de fruta sabor goiaba e o leite em pó, foram adquiridos em supermercados no mesmo município. O soro do queijo foi adquirido pelo método tradicional, por meio do reaproveitamento sustentável a partir da produção de queijo do tipo frescal (Figura 3).

Figura 3. Processo de obtenção do soro do queijo

Fonte: Autores, 2022.

As bebidas lácteas foram produzidas em grupos controle e em grupos constituídos com probióticos (Tabela 3). A concentração das cepas probióticas tiveram como parâmetro os dados apresentados pelo posicionamento da Sociedade Internacional de Nutrição Esportiva.

Tabela 3. Tratamentos e composição básica (UFC/g) da bebida láctea por 100 g

Tratamentos	Descrição	Probiótico UFC/g	Leite em pó	Soro do queijo	Polpa de goiaba	Sacarose
BC	Bebida láctea sem adição de probiótico	0	6,1 %	60,6 %	30,3 %	3 %
LA	Bebida láctea com adição de <i>Lactobacillus acidophilus</i>	4×10^9	6,1 %	60,6 %	30,3 %	3 %
LP	Bebida láctea com adição de <i>Lactobacillus Plantarum</i>	$3,15 \times 10^9$	6,1 %	60,6 %	30,3 %	3 %
LALP	Bebida láctea com adição de <i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Lactobacillus Plantarum</i>	$3 \times 10^9 +$ $3,15 \times 10^9$ ($7,15 \times$ 10^9)	6,1 %	60,6 %	30,3 %	3,3 %

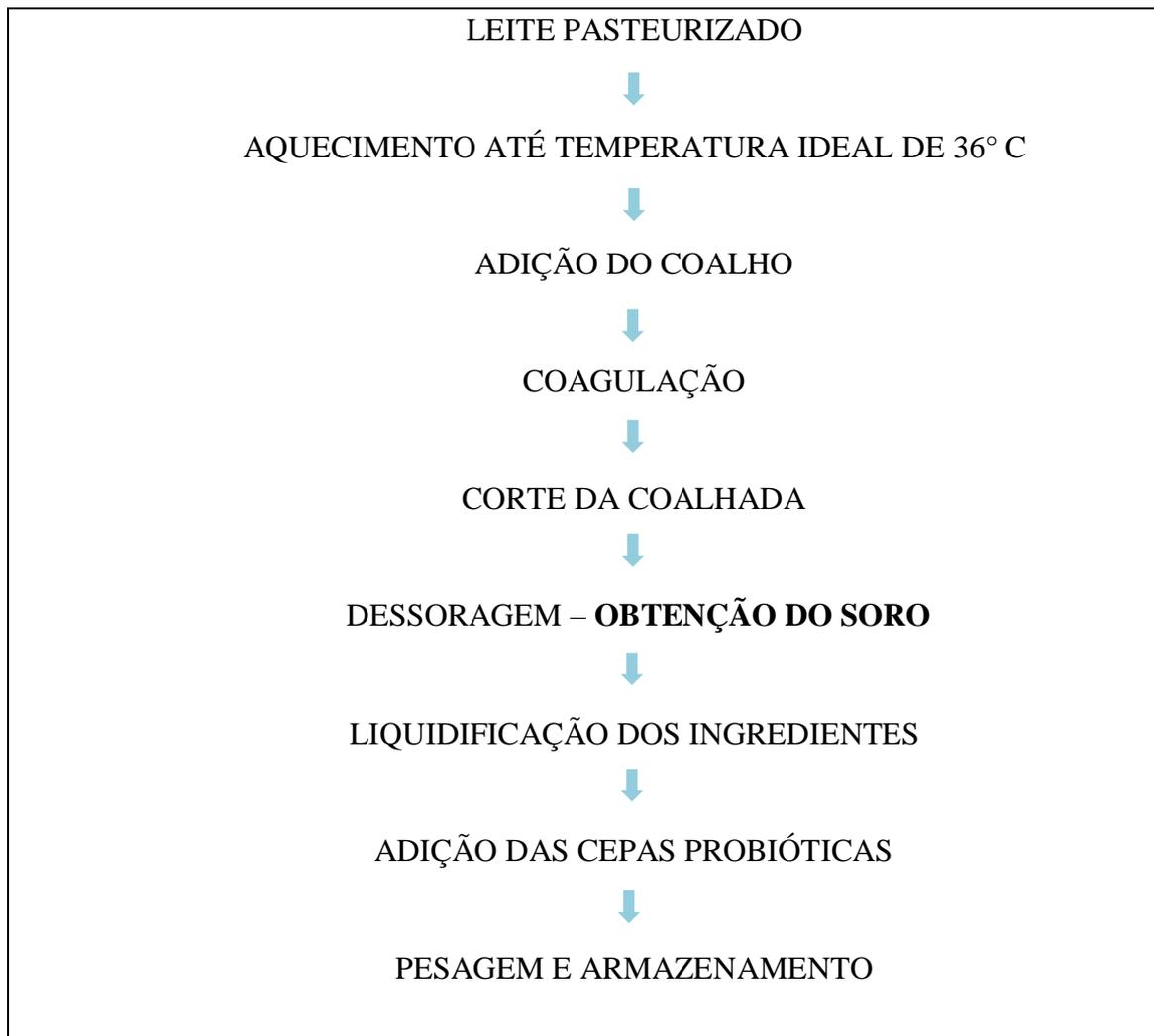
Legenda: BC: Bebida Controle. LA: *Lactobacillus Acidophilus*. LP: *Lactobacillus Plantarum*. LALP: *Lactobacillus Acidophilus* e *Lactobacillus Plantarum*.

Fonte: Autor, 2022.

3.1 ELABORAÇÃO DA BEBIDA LÁCTEA

As bebidas lácteas foram produzidas no Laboratório de Técnica e Dietética da Faculdade Nova Esperança de Mossoró – FACENE/RN, Campus Mossoró – RN, com a metodologia adaptada de Moura e colaboradores (2016). O procedimento de obtenção do soro foi padrão para todos os tratamentos (Fluxograma 1).

Fluxograma 1: Processo de produção da bebida láctea.



Fonte: Autores, 2022.

Após a obtenção do soro, o mesmo foi aquecido a 65 °C por 30 minutos seguido de resfriamento em banho de gelo e água até atingir 43 °C. Posteriormente, foram adicionados ao liquidificador o soro de leite, a polpa de goiaba, o leite em pó e a sacarose (açúcar refinado). Todos os ingredientes foram liquidificados por 3 minutos ininterruptos

e armazenados a uma temperatura de 10 °C (Figura 4). Após isso, as amostras foram distribuídas em quantidade de 100 g em copos identificados de acordo com o tratamento.

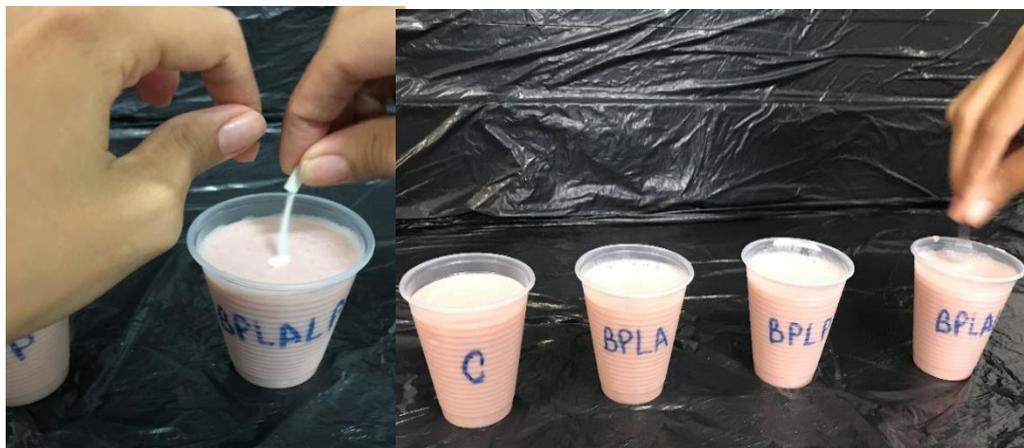
Figura 4: Elaboração da bebida láctea sabor goiaba



Fonte: Autores, 2022.

Nas amostras LA, LP e LALP as cepas probióticas foram adicionadas e misturadas manualmente com auxílio de uma colher (Figura 5).

Figura 5. Adição das cepas probióticas à bebida láctea



Fonte: Autores, 2022.

3.2.1 Análise de pH

Cerca de 10 minutos após a mistura das cepas probióticas, foram realizadas aferições do pH no dia 0 de produção da bebida láctea de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (1985). As amostras foram separadas em quintuplicata utilizando-se 15 g da bebida láctea homogeneizada para definição do valor. Após 7 dias acondicionadas em

refrigerador, as amostras foram novamente analisadas quanto ao pH. Antes de iniciar as medições, o aparelho pHmêtro digital portátil foi devidamente calibrado com as soluções tampão pH 4 e 7 e entre uma amostra e outra o aparelho foi lavado com água destilada.

3.2.2 Análise visual

As amostras foram analisadas subjetivamente de forma visual quanto aos aspectos de cor, homogeneidade e viscosidade no dia 0 e dia 7 do experimento, baseado na metodologia de Lopes (2010), com adaptações.

3.2.3 Análise Sensorial

A análise sensorial das amostras foi submetida aos provadores no laboratório de Técnica e Dietética da Faculdade Nova Esperança de Mossoró – FACENE/RN no dia 0 do experimento com cerca de 15 minutos após a produção para minimização de risco microbiológico. A pesquisa foi aprovada em seus aspectos éticos e metodológicos pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Faculdade de Enfermagem Nova Esperança de Mossoró, sob certificado de apresentação para apreciação ética nº CAAE 55773222.0.0000.5179 e parecer 5.306.485. Os provadores, constituídos por discentes, docentes e funcionários da FACENE, foram selecionados quanto ao hábito de consumir produtos lácteos e em função da disponibilidade e do interesse em participar do teste, assinando de forma voluntária e consentida o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Participaram da análise sensorial 31 provadores não treinados.

Foram avaliados aspectos de aroma, sabor, viscosidade e cor, por meio de uma escala hedônica que varia de 1 (“desgostei muitíssimo”) a 9 (“gostei muitíssimo”). Cada prova foi realizada individualmente, sendo os provadores instruídos a julgar primeiramente a cor das bebidas. As amostras foram oferecidas em porções de 20 g em copos plásticos descartáveis codificados com números triplos aleatórios acompanhados de um copo de água para realização do branco entre as amostras (CASTAGNOLI *et al.*, 2019; DUTCOSKY, 2011). Juntamente com o teste de aceitação sensorial, também foi avaliada a intenção de compra da bebida láctea, onde foi utilizada uma escala estruturada de 5 pontos que varia entre 1 (“certamente não compraria”) a 5 (“certamente compraria”). Além disso, ao final do formulário foi feita uma pergunta aberta onde cada provador respondeu o que mudaria na bebida láctea.

Segundo Dutcosky (2013), para que um produto seja considerado aceito, em termos sensoriais, é necessário que se obtenha um score de aceitabilidade, no mínimo, \geq

70 %, tendo isso em vista, calculou-se o índice de aceitabilidade (IA) para cada um dos atributos avaliados, de acordo com equação proposta pelos autores, onde:

$$IA (\%) = A \times 100/B$$

Onde:

A = nota média obtida para o produto

B = nota máxima dada ao produto

Para a obtenção das informações voltadas à prática de exercício físico dos participantes, foi utilizado um questionário adaptado de Silva *et al.* (2020) e Lins (2019), contendo perguntas como: Realiza atividade física? Qual? Há quanto tempo?

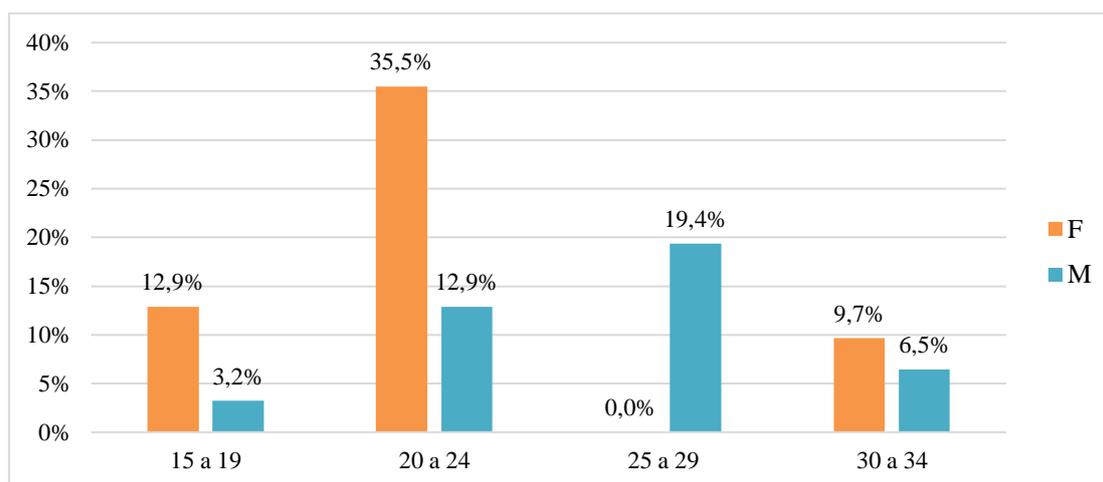
Os dados foram tabulados com o auxílio de uma planilha de dados e posteriormente submetidos à análise de variância (ANOVA). As médias obtidas foram avaliadas e comparadas pelo teste de médias de Tukey, com nível de 5 % de significância ($p < 0,05$) utilizando o programa de análises estatísticas SISVAR (FERREIRA, 2018).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo define o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea esse produto é aquele resultante da mistura de leite (*in natura*, pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado ou parcialmente desnatado) e soro de leite (líquido, concentrado e em pó) adicionado ou não de produtos ou substâncias alimentícias. Segundo esse regulamento, a base láctea representa pelo menos 51 % (m/m) do total de ingredientes do produto. Para Rosa *et al.* (2020), a bebida láctea se destaca por permitir a adição de inúmeros ingredientes naturais como soro lácteo, polpas de frutas, leite em pó e açúcar. Por ser possível a utilização de outros ingredientes, torna-se importante a verificação da aceitabilidade do produto através de aspectos sensoriais.

Durante a realização da análise sensorial, foram recrutados 31 provadores de ambos os sexos com faixa etária entre 18 e 58 anos, sendo 41,9 % (n = 13) do sexo masculino e 58,1 % (n=18) do sexo feminino. No que se refere à relação entre a frequência de consumo e faixa etária e sexo dos participantes (Figura 6), observou-se que a maioria dos provadores que relataram consumir bebidas lácteas foram do sexo feminino, com faixa etária entre 20 e 24 anos.

Figura 6. Relação entre o consumo de bebida lácteas e o sexo dos participantes



Fonte: Autores, 2022.

Os resultados da avaliação sensorial estão expressos na tabela 4 com os valores médios e os respectivos desvios padrão dos atributos avaliados da bebida láctea probiótica sabor goiaba.

Tabela 4. Médias aritméticas e desvios padrão dos aspectos sensoriais das bebidas lácteas probióticas

FORMULAÇÃO	COR	AROMA	SABOR	VISCOSIDADE
BC	7.83±1,24 ^a	6.96±1,96 ^a	6.90±1,92 ^a	6.61±2,06 ^a
LA	7.70±1,27 ^a	6.70±1,81 ^a	6.77±1,59 ^a	7.32±2,18 ^a
LP	7.74±1,29 ^a	7.16±1,40 ^a	7.09±1,70 ^a	7.64±1,61 ^a
LALP	8.03±0,98 ^a	7.09±1,34 ^a	7.29±1,66 ^a	7.54±2,01 ^a

Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade. Legenda: BC: Bebida Controle. LA: *Lactobacillus Acidophilus*. LP: *Lactobacillus Plantarum*. LALP: *Lactobacillus Acidophilus* e *Lactobacillus Plantarum*.

Fonte: Autores, 2022.

A avaliação dos valores médios mostra que, no geral, os valores variaram entre “gostei ligeiramente” e “gostei regularmente”, havendo uma razoável aceitação dos provadores em relação às formulações da bebida láctea de goiaba. De acordo com os dados estatísticos, não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as amostras, apesar de os tratamentos terem obtido as melhores médias entre os atributos testados. Esses resultados mostram que a adição das cepas probióticas não interferiu negativamente nos atributos sensoriais analisados.

No estudo de Santos *et al.*, (2008) os pesquisadores avaliaram a influência da concentração de soro na aceitação sensorial de uma bebida láctea fermentada com polpa de manga e os resultados obtidos pelos pesquisadores mostraram que a formulação intermediária de 40 % de soro foi a mais aceita pelos provadores. Em contrapartida, na análise da bebida láctea de cupuaçu realizada por Rosa *et al.*, (2020), a formulação com 76,8 % de soro de leite apresentou melhores resultados quanto a cor, aroma e impressão global, enquanto a formulação com 82 % de soro e sem adição de leite em pó foi mais aceita quanto à sabor, textura e intenção de compra.

A tabela 5 apresenta os valores relacionados ao índice de aceitabilidade (IA) dos atributos, onde os valores acima de 70 % são considerados satisfatórios. Observou-se que as formulações LP e LALP apresentaram as melhores porcentagens, seguida pelo Controle e por último LA.

Tabela 5. Índice de aceitabilidade (IA) das bebidas lácteas

FORMULAÇÃO	COR	AROMA	SABOR	VISCOSIDADE
BC	87,0 %	76,7 %	76,6 %	73,4 %
LA	85,5 %	74,4 %	75,2 %	81,3 %
LP	86,0 %	79,6 %	78,7 %	84,8 %
LALP	89,2 %	78,8 %	81,0 %	83,7 %

Fonte: Autores, 2022.

Considerando os valores obtidos, as bebidas alcançaram scores acima de 70 % em todos os atributos avaliados, resultando em um alto índice de aceitabilidade (IA). Apesar do satisfatório IA, a viscosidade recebeu observações desfavoráveis escritas pelos provadores.

A viscosidade de um produto é definida como a resistência que o líquido oferece para uma certa força aplicada, sendo dependente de vários aspectos do processo, como: tratamento térmico do leite, cultura láctica utilizada e condições de incubação e resfriamento (ALMEIDA *et al.*, 2001). Tais aspectos podem ter sido cruciais na modificação da viscosidade das amostras do presente estudo, tendo em vista que dentre os parâmetros que foram avaliados pelos provadores, esta foi uma das características da bebida que mais recebeu observações (n=11) a fim de que pudesse ser melhorada, por se apresentar pouco viscosa. No entanto, a viscosidade das bebidas lácteas adicionadas de probióticos obtiveram médias de aceitabilidade maiores quando comparadas ao controle.

Na análise sensorial da bebida láctea de jamelão desenvolvida por Lino *et al.*, (2020) as bebidas com menores percentuais de soro (51 e 56 %) apresentaram os maiores índices de aceitabilidade. Nas amostras de suco de uva enriquecido com soro lácteo produzidas por Talma *et al.*, (2010), na medida em que se aumentou a proporção de soro, diminuiu-se a aceitação, dessa forma, as amostras que continham 40 % e 60 % de soro foram classificadas como “gostei extremamente” e “gostei moderadamente”, percentuais próximos aos níveis utilizados na presente pesquisa.

Nas análises de Caldeira *et al.* (2010) os níveis de soro influenciaram negativamente a viscosidade das bebidas, sobre isso, os participantes da presente pesquisa destacaram no formulário comentários como “mudaria apenas a viscosidade”, mudaria para mais espessas”, “possivelmente deixaria mais viscoso”. A textura mais fina da bebida láctea pode ter sido decorrente da quantidade mais baixa de leite em pó, resultado da ação das cepas probióticas adicionadas ou da quantidade do soro adicionado (60,6 %).

A partir desses dados, pode-se observar que a bebida que mais agradou os provadores, de maneira geral, foi a bebida adicionada de *Lactobacillus Acidophilus* e *Plantarum*, seguida pela formulação adicionada apenas de *Lactobacillus Plantarum*. Segundo Talma *et al.*, (2010), a alta proporção de soro lácteo na bebida proporciona alto teor de lactose o que confere um gosto ligeiramente doce e o alto teor de minerais, confere um gosto ligeiramente salgado, o que pode explicar a rejeição em tratamentos com altas porcentagens de soro.

A busca por alimentos mais saudáveis tem sido uma tendência benéfica para os produtos lácteos, que de acordo com Siqueira (2019), são ótimos veículos para a tecnologia de alimentos trabalhar o enriquecimento e fortificação com vitaminas e minerais, além da adição de probióticos, prebióticos, ácidos graxos ômega-3 e ácido linoleico conjugado (CLA). Segundo a Brasil Dairy Trend (2020), a produção acelerada de conhecimento científico acerca dos efeitos dos probióticos e prebióticos na saúde do consumidor tende a resultar em um aumento significativo nas opções dessa categoria de produtos funcionais. Nesse sentido, Siqueira (2019) fala que a busca por snacks de lácteos e produtos *on-the-go* são capazes de atender às demandas dos consumidores que buscam por praticidade e conveniência.

A partir dessas informações, foi analisada a intenção de compra da bebida láctea sabor goiaba com base nas notas atribuídas pelos provadores, variando em uma escala de 1 “certamente não compraria” a 5 “certamente compraria”. A tabela 6 mostra as médias de notas, na qual as bebidas adicionadas de *Lactobacillus Plantarum* e *Lactobacillus Acidophilus* e *Plantarum* obtiveram a melhor média, equivalente ao termo hedônico “provavelmente compraria” (Tabela 6).

Tabela 6. Médias para intenção de compra das bebidas lácteas elaboradas com diferentes cepas probióticas

FORMULAÇÃO	INTENÇÃO DE COMPRA
BC	3±1,03 ^a
LA	3±1,20 ^a
LP	4±1,14 ^a
LALP	4±1,05 ^a

Legenda: BC: Bebida Controle. LA: *Lactobacillus Acidophilus*. LP: *Lactobacillus Plantarum*. LALP: *Lactobacillus Acidophilus* e *Lactobacillus Plantarum*.

Fonte: Autores, 2022.

Corroborando com os resultados encontrados na avaliação da análise sensorial, as formulações LP e LALP mantiveram suas altas médias em todos os quesitos avaliados. Os tratamentos BC e LA obtiveram médias mais baixas, cujo termo na escala hedônica, refere-se à ‘tenho dúvidas se compraria’, no entanto, não diferiram entre si estatisticamente. Portanto, avaliando os dados, pode-se inferir que a adição da cepa de *Lactobacillus Plantarum* pode ter ocasionado alguma modificação no sabor que agradou aos provadores, havendo a necessidade de mais testes para avaliar, por exemplo, a viabilidade e a estabilidade dessas cepas na bebida láctea. Sobre isso, Isa e Razavi (2016) avaliaram a atividade de *Lactobacillus plantarum* como potencial probiótico em iogurtes e observaram que a cultura permaneceu viável em níveis acima do recomendado após 14 dias no armazenamento refrigerado.

Analisando aspectos que possivelmente poderiam ser modificados nas bebidas lácteas através da pergunta aberta proposta no formulário, 35 % (n=11) dos provadores relataram que alterariam algum aspecto no sabor da bebida, sendo a intensificação do sabor da goiaba uma das respostas mais recorrentes. Com isso, pode-se deduzir que em uma possível reformulação, talvez um maior percentual de polpa de goiaba possa melhorar o nível de aceitação quanto ao sabor da bebida láctea, acentuando o sabor característico da fruta. Apesar disso, em números percentuais, a formulação LALP foi a que obteve maior aceitação quanto a este parâmetro, com 81 % de aprovação pelos provadores.

O pH interfere na viabilidade da microflora probiótica em leites fermentados, com o decréscimo deste, ocorre uma redução nas contagens de células viáveis de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* durante a estocagem refrigerada de iogurtes (THAMER; PENNA, 2016). De acordo com De Miranda *et al.*, (2016) a atividade das bactérias lácticas é reduzida durante o resfriamento, sofrendo uma pós-acidificação que é o decréscimo do pH durante o armazenamento refrigerado. Assim, as bebidas lácteas probióticas sabor goiaba foram avaliadas quanto ao pH nos dias 0 e 7, onde as médias e os respectivos desvios padrão estão expressos na tabela 7.

Tabela 7. Análise de pH das bebidas lácteas no dia 0 e 7

	Dia	BC	LA	LP	LALP
pH	0	5,6±0,23 ^{bA}	5,4±0,05 ^{aA}	5,3±0,04 ^{aA}	5,3±0,08 ^{aA}
	7	5,8±0,11 ^{aB}	5,6±0,10 ^{aB}	5,6±0,13 ^{aB}	5,6±0,12 ^{aB}

Legenda: BC: Bebida Controle. LA: *Lactobacillus Acidophilus*. LP: *Lactobacillus Plantarum*. LALP: *Lactobacillus Acidophilus* e *Lactobacillus Plantarum*. Nota: Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas representam comparações entre tratamentos e maiúsculas entre o armazenamento (0 e 7).

Fonte: Autores, 2022.

No que tange aos dados obtidos na análise do pH, verificou-se que a adição das cepas probióticas no dia 0 aumentou a acidez das bebidas lácteas produzidas, diferindo estatisticamente entre controle e os demais tratamentos. No entanto, quanto ao armazenamento refrigerado, as formulações diferiram estatisticamente entre o dia 0 e o dia 7. Notou-se que todas as bebidas tiveram um aumento de pH, diferindo estatisticamente durante os 7 dias de armazenagem. No estudo de Caldeira *et al.*, (2010) o pH das bebidas aumentou de acordo com os níveis de soro adicionado, encontrando na formulação T5 um resultado próximo ao presente estudo, com adição de 50 % de soro e pH 5,38.

De acordo com Thamer e Penna (2006), as diferenças nos valores de pH podem estar relacionadas a fatores como o tipo e porcentagem de cultura utilizada, a atividade desta cultura, a quantidade de soro de leite utilizada na elaboração das bebidas lácteas, como também ao tempo de armazenamento. Dessa forma, todos esses fatores podem ter tido alguma influência sobre os resultados nas presentes amostras, necessitando de mais análises para verificação mais assertiva. Para Gallina *et al.*, (2012) os alimentos probióticos devem manter um nível apropriado de células viáveis durante o armazenamento do produto para que não interfira no sabor e textura.

O valor do pH é um fator muito importante no aspecto visual do produto, pois se não houver um controle rigoroso, é possível que ocorra separações de fases e elevada acidificação (THAMER; PENNA, 2016). Sobre isso, De Miranda *et al.*, (2016) falam que quanto maior o valor de acidez, menor o valor de pH e que valores acima de 4,6 favorecem a separação do soro pela insuficiência de gel formado. Tal fato é uma hipótese a ser considerada do que pode ter acontecido com as amostras em estudo, já que entre os dias 0 e 7 houve uma diferença de aparência visual entre as amostras que possuíam valores de pH maiores que o citado pelos autores.

No que tange a análise visual, verificou-se que no dia 0 do experimento as amostras apresentaram uma coloração rosa uniforme, sem grumos ou pedaços, resultando em uma textura líquida, conforme mostra a figura 7.

Figura 7. Avaliação de variáveis visuais da bebida láctea no dia 0



Fonte: Autores, 2022.

No dia 7 do experimento as amostras foram retiradas do resfriamento e novamente analisadas visualmente de forma subjetiva. As bebidas apresentaram separação de fases, onde as amostras BC (275) e LA (103) apresentaram uma coloração metade rosa e a outra metade esbranquiçada, enquanto as formulações LALP (157) e LP (149) mostraram uma parte rosa e a outra parte de cor transparente. De Miranda *et al.*, (2016) falam que nos primeiros sete dias após a armazenagem há alto consumo de lactose e produção de ácido láctico e isso pode gerar diferença de fases nas formulações. Na figura 8 pode-se notar visivelmente a diferença entre as amostras.

Figura 8. Análise visual das bebidas lácteas no dia 7



Fonte: Autores, 2022.

As amostras também foram avaliadas de forma subjetiva segundo sua homogeneidade, viscosidade e cor. Conforme mostra a tabela 8, os tratamentos apresentaram excelente aparência visual no dia 0 do experimento nas variáveis estudadas.

Tabela 8. Variáveis observadas durante análise visual no dia 0

Variáveis	BC	LA	LP	LALP
Homogeneidade	E	E	E	E
Viscosidade	E	E	E	E
Cor	E	E	E	E

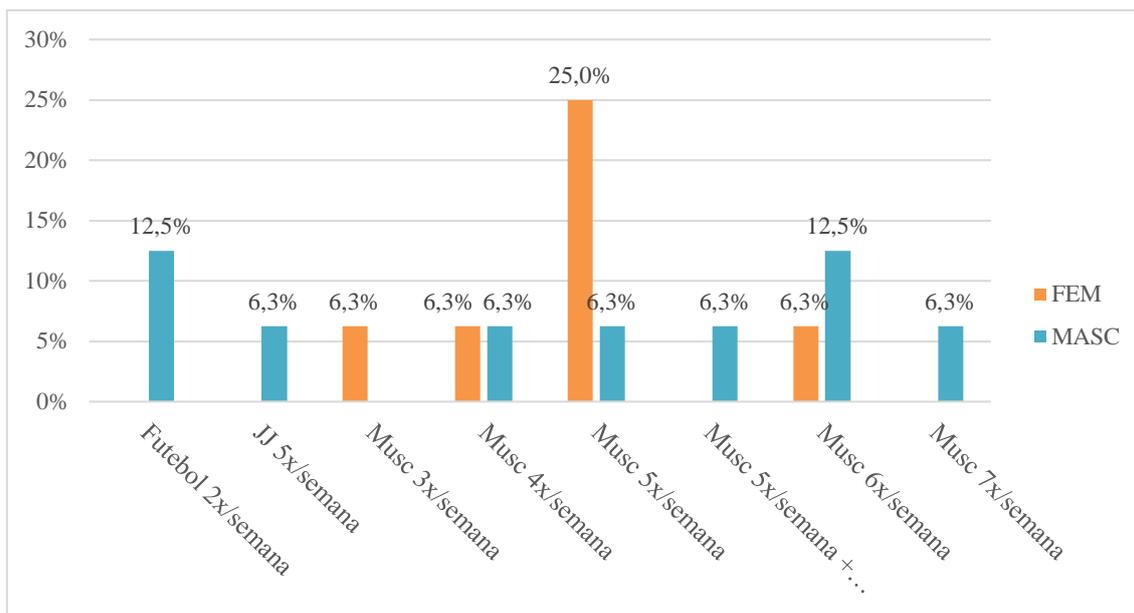
Legenda: BC: Bebida Controle. LA: *Lactobacillus Acidophilus*. LP: *Lactobacillus Plantarum*. LALP: *Lactobacillus Acidophilus* e *Lactobacillus Plantarum*. E (excelente); B (boa); D (deficiente).

Fonte: Autores, 2022.

Devido à proposta de desenvolver uma bebida láctea voltada para o público esportivo, avaliou-se, entre os provadores, a prevalência da prática de exercícios físicos dentre aqueles que participaram da análise sensorial. Do número total de avaliadores, 51,61 % (n= 16) afirmaram praticar exercício físico, sendo 58 % (n=9) do sexo masculino e 42 % (n=7) do sexo feminino.

O exercício físico é um dos principais fatores envolvidos na modulação positiva da microbiota intestinal, no entanto, quando realizado de forma extenuante pode estar associado ao acometimento de alterações na microbiota intestinal, portanto, a prática de atividades físicas fatigantes aliada à suplementação de probióticos demonstra ser uma importante alternativa na melhora da diversidade microbiana intestinal e, conseqüentemente, nos sintomas gastrintestinais associados ao exercício e à saúde imunológica. Sob esse ponto de vista, o enriquecimento de bebidas lácteas com cepas probióticas vem atraindo a atenção da comunidade esportiva como uma excelente opção de bebida funcional.

De acordo com os dados (Figura 9), a musculação foi o exercício físico mais praticado pelos participantes de ambos os sexos, seguido de futebol pelo sexo masculino. Moreira *et al.* (2019) avaliaram a presença de sinais e sintomas de disbiose intestinal em mais de 200 praticantes de musculação, através de um Questionário de Rastreamento Metabólico. Na pesquisa dos autores destacaram-se o inchaço abdominal, arrotos, gases, azia e dor estomacal como mais frequentes nesse público.

Figura 9. Exercícios físicos praticados pelos participantes da análise sensorial

Fonte: Autores, 2022.

Para Da Silva (2016), um exercício intenso e prolongado como o futebol está associado com uma temporária imunossupressão, dessa forma, uma intervenção nutricional específica pode ter potencial imunomodulador, podendo ser eficaz na fase de recuperação do jogador de futebol fortalecendo respostas imunes e antioxidantes. Em sua revisão, Raizel *et al.*, (2011) encontraram que a administração de simbióticos – incluindo *Lactobacillus Acidophilus* – a atletas de futebol acelera ganhos relativos ao aumento de massa magra e redução de gordura corporal.

Segundo Wosinska *et al.*, (2019) o *overtraining*, frequentemente observado em atletas, tem sido associado a um aumento do estresse oxidativo e a disfunções intestinais, onde estudos animais mostram correlações entre o microbioma e o estresse oxidativo. Conforme relatam os autores, esse treinamento excessivo teve um impacto negativo na diversidade microbiana em modelos animais e pode resultar em um comprometimento da função da barreira intestinal. Em particular, os *lactobacilos* são capazes de reduzir a gravidade dos problemas gastrintestinais e aumentar o desempenho, sendo um bom candidato probiótico para atletas (WOSINSKA *et al.*, 2019).

Na análise sensorial desenvolvida por Gutierrez (2011), praticantes de atividade física provaram uma bebida láctea sabor café após a prática de exercício físico de *endurance*, já que segundo a autora, o exercício físico modifica a percepção do indivíduo sobre o alimento. A formulação 2 foi a mais aceita pelo público, a qual possuía elevada

porcentagem de leite desnatado em relação ao concentrado proteico de soro (CPS). O CPS foi adicionado à bebida com o objetivo de proporcionar uma concentração de proteínas que favorecesse a recuperação da homeostase hídrica pós-esforço (GUTIERRES, 2011).

5 CONCLUSÃO

As formulações de bebida láctea à base de soro do leite adicionada de probióticos apresentaram boa aceitação pelo público, sendo as formulações LALP e LP aquelas com melhores médias dos atributos avaliados e intenção de compra. Sobre o índice de aceitabilidade das bebidas, scores acima de 70 % foram alcançados em todos os atributos mensurados, resultando em um alto índice de aceitabilidade (IA) da bebida láctea probiótica à base de soro do leite sabor goiaba. Contudo, aspectos como a viscosidade e o sabor pouco característicos da goiaba foram relatados pelos provadores como pontos a serem melhorados em uma possível reformulação da bebida láctea.

Ao analisar o pH, verificou-se que a adição das cepas aumentou a acidez das amostras e que todas as bebidas tiveram um aumento de pH no dia 7. No que tange a análise visual, verificou-se que no dia 0 do experimento as amostras apresentaram uma coloração rosa uniforme, sem grumos ou pedaços, resultando em uma textura líquida com excelente homogeneidade, viscosidade e cor. No entanto, no dia 7 do experimento as bebidas apresentaram separação de fases e deficiência nos atributos mencionados.

Observou-se que 51,6 % dos colaboradores que participaram da análise sensorial praticam alguma atividade física, sendo a musculação a modalidade mais recorrente entre ambos os sexos e futebol pelo sexo masculino.

Portanto, há a possibilidade de o produto desenvolvido ser uma excelente opção a ser inserida na alimentação de praticantes de atividade física extenuante. Esse fator poderá contribuir para a utilização do soro do leite pelas indústrias lácteas no desenvolvimento de novos produtos de alto valor nutricional agregado e para a diminuição da poluição ambiental.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **Guia para instrução processual de petição de avaliação de probióticos para uso em alimentos**, 2021. Disponível

em:<<http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/5280930/guia+21+v2.pdf/dac5bf5f-ae56-4444-b53c-2cf0f7c15301>>. Acesso em: 29 out. 2021.

ALLAM-NDOUL, Bénédicte; CASTONGUAY-PARADIS, Sophie; VEILLEUX, Alain. Gut Microbiota and Intestinal Trans-Epithelial Permeability. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 17, p. 6402, 2020.

ALLGEYER, L. C.; MILLER, M. J.; LEE, S.-Y. Sensory and microbiological quality of yogurt drinks with prebiotics and probiotics. **Journal of Dairy science**, v. 93, n. 10, p. 4471-4479, 2010.

ALMEIDA, Keila Emílio de; BONASSI, Ismael Antonio; ROÇA, Roberto de Oliveira. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo minas frescal. **Food Science and Technology**, v. 21, p. 187-192, 2001.

ANTUNES, Adriane Elisabete Costa; CAZETTO, Thalita Filier; BOLINI, Helena Maria André. Iogurtes desnatados probióticos adicionados de concentrado protéico do soro de leite: perfil de textura, sinérese e análise sensorial. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 15, n. 2, p. 107-114, 2008.

AZAD, Md et al. Probiotic species in the modulation of gut microbiota: An Overview. **BioMed research international**, v. 2018, 2018.

BELKAID, Yasmine; HAND, Timothy W. Role of the microbiota in immunity and inflammation. **Cell**, v. 157, n. 1, p. 121-141, 2014.

BERMON, Stéphane et al. The microbiota: an exercise immunology perspective. **Exerc Immunol Rev**, v. 21, n. 21, p. 70-79, 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n° 16, de 23 de agosto de 2005**. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea. Brasília, Disponível em:

https://www.normasbrasil.com.br/norma/instrucao-normativa-16-2005_75591.html.

Acesso em: 03 abr. de 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n° 46, de 23 de outubro de 2007**. Brasília, Disponível em:

<http://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2019/09/INSTRU%C3%87%C3%83O-NORMATIVA-N-46-de-23-de-outubro-de-2007-Leites-Fermentados.pdf>. Acesso em:

29 out. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução – RDC n° 241, de 26 de julho de 2018**. Dispõe sobre os requisitos para comprovação da segurança e dos benefícios à saúde dos probióticos para uso em alimentos. Disponível em: <https://www.in.gov.br/materia/>-

/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/34379910/do1-2018-07-27-resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-241-de-26-de-julho-de-2018-34379900. Acesso em: 27 set. 2021.

Brasil Dairy Trends 2020. Tendências do Mercado de Produtos Lácteos, 1ª Edição. Campinas, SP, 2017.

CANI, Patrice D. Human gut microbiome: hopes, threats and promises. **Gut**, v. 67, n. 9, p. 1716-1725, 2018.

CHAN, Yee Kwan; ESTAKI, Mehrbod; GIBSON, Deanna L. Clinical consequences of diet-induced dysbiosis. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 63, n. Suppl. 2, p. 28-40, 2013.

CHEN, Chih-Ming et al. *Lactobacillus plantarum* PS128 promotes intestinal motility, mucin production, and serotonin signaling in mice. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, p. 1-11, 2021.

CLANCY, R. L. et al. Reversal in fatigued athletes of a defect in interferon gamma secretion after administration of *Lactobacillus acidophilus*. **British journal of sports medicine**, v. 40, n. 4, p. 351-354, 2006.

CLARKE, Siobhan F. et al. Exercise and associated dietary extremes impact on gut microbial diversity. **Gut**, v. 63, n. 12, p. 1913-1920, 2014.

COLEÇÃO AGROINDÚSTRIA FAMILIAR. Brasília: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2006. ISBN 85-7383-325-4 versão *online*. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/117913/1/00077390.pdf>. Acesso em: 26 out 2021.

DA SILVA, Cristiano Diniz. Efeitos de bebida achocolatada suplementada na recuperação pós-exercício. 2016.

DA SILVA, Isadora Stecca Caires; PANDOLFI, Marcos Alberto Claudio. ANÁLISE DAS PRINCIPAIS TENDÊNCIAS NO MERCADO BRASILEIRO DE IOGURTES. **Revista Interface Tecnológica**, v. 17, n. 2, p. 523-534, 2020.

DAVID, Lawrence A. et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. **Nature**, v. 505, n. 7484, p. 559-563, 2014.

DE MIRANDA, NAYARA LIMA; RECK, ISABELA MARIA; CLEMENTE, EDMAR. Utilização de polpa de abacate em formulações de bebidas lácteas probióticas. **Uningá Review Journal**, v. 26, n. 3, 2016.

DE PAULA, Junio Cesar Jacinto et al. Aproveitamento de soro de queijo de coalho na elaboração de bebida láctea pasteurizada. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 387, p. 13-20, 2012.

DIVELLA, Rosa et al. Diet, Probiotics and Physical Activity: The Right Allies for a Healthy Microbiota. **Anticancer Research**, v. 41, n. 6, p. 2759-2772, 2021.

DUTCOSKY, Silvia Deboni. **Análise Sensorial de alimentos**. 3. ed. Curitiba: Champagnat, 2011.

ESTAKI, Mehrbod et al. Cardiorespiratory fitness as a predictor of intestinal microbial diversity and distinct metagenomic functions. **Microbiome**, v. 4, n. 1, p. 1-13, 2016.

FAO, Food and Nutrition paper 85. Córdoba, Argentina. 2001. Disponível em: <https://www.fao.org/3/a0512e/a0512e.pdf>. Acesso em: 20 out 2021.

GIL, Antônio Carlos. **Como elaborar projetos de pesquisa**. 6. ed. São Paulo: Atlas, 2017.

GALLINA, Darlila A. et al. Caracterização de bebida obtida a partir de leite fermentado simbiótico adicionado de polpa de goiaba e avaliação da viabilidade das bifidobactérias. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 386, p. 45-54, 2012.

GILBERT, Jack A. et al. Current understanding of the human microbiome. **Nature medicine**, v. 24, n. 4, p. 392-400, 2018.

GOLDSMITH, Felicia et al. Lactation and intestinal microbiota: how early diet shapes the infant gut. **Journal of mammary gland biology and neoplasia**, v. 20, n. 3, p. 149-158, 2015.

GUEDES, A. F. L. M. et al. Aproveitamento de soro lácteo na formulação de bebidas com frutas e hortaliças. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 4, p. 1231-1238, 2013.

GUTTIERRES, Ana Paula Muniz. Desenvolvimento de bebida láctea sabor café para recuperação pós-exercício de longa duração. 2011.

HAIDA, Kimiyo Shimomura et al. Compostos fenólicos e atividade antioxidante de goiaba (*Psidium guajava* L.) fresca e congelada. 2015.

HARMSSEN, Hermie JM; DE GOFFAU, Marcus C. The human gut microbiota. **Microbiota of the human body**, p. 95-108, 2016.

HASCOËT, Jean-Michel et al. Effect of formula composition on the development of infant gut microbiota. **Journal of pediatric gastroenterology and nutrition**, v. 52, n. 6, p. 756-762, 2011.

HUANG, Wen-Ching et al. Effect of *Lactobacillus plantarum* on Exercise Physiological Adaptation, Performance, and Body Composition in Healthy Humans. **Nutrients**, v. 11, n. 11, p. 2836, 2019.

HUANG, Wen-Ching et al. The Beneficial Effects of *Lactobacillus plantarum* PS128 on High-intensity, Exercise-induced, Oxidative stress, Inflammation, and Performance in triathletes. **Nutrients**, v. 11, n. 2, p. 353, 2019.

HUANG, Wen-Ching et al. Exercise Training Combined with *Bifidobacterium Longum* OLP-01 Supplementation Improves Exercise Physiological Adaption and Performance. **Nutrientes**, v. 12, n. 4, pág. 1145, 2020.

HUGHES, Riley L.; HOLSCHER, Hannah D. Fueling Gut Microbes: A Review of the Interaction between Diet, Exercise, and the Gut Microbiota in Athletes. **Advances in Nutrition**, 2021.

IHA, Silvia M. et al. Estudo fitoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) com potencial antioxidante para o desenvolvimento de formulação fitocosmética. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 387-393, 2008.

ISA, Jawad Kadhim; RAZAVI, Seyed Hadi. Characterization of *Lactobacillus plantarum* as a potential probiotic in vitro and use of a dairy product (yogurt) as food carrier. **Applied Food Biotechnology**, v. 4, n. 1, p. 11-18, 2017.

LAMPRECHT, Manfred; FRAUWALLNER, Anita. Exercise, intestinal barrier dysfunction and probiotic supplementation. **Acute topics in sport nutrition**, v. 59, p. 47-56, 2012.

LEITE, Geovana SF et al. Probiotics and sports: A new magic bullet?. **Nutrition**, v. 60, p. 152-160, 2019.

LEITE, Geovana SF et al. Microbiota Intestinal e Probióticos Aplicados aos Praticantes de Exercício Físico e Atletas. *In*: LANCHÁ JR, Antonio Hebert; ROGERI, Patrícia Soares, PEREIRA-LANCHÁ, Luciana Oquendo. **Suplementação Nutricional no Esporte**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2019. v. 2, cap. 11, p. 158-171.

LINO, Débora Lemos et al. Desenvolvimento e análise sensorial de bebida láctea de melão. **Alimentos: Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente**, v. 1, n. 4, p. 63-77, 2020.

LIU, Wei-Hsien et al. Genome architecture of *Lactobacillus plantarum* PS128, a probiotic strain with potential immunomodulatory activity. **Gut Pathog.**, v. 7, n. 1, pág. 1-7, 2015.

LOPES, Daniella Cristine Fialho. **Desenvolvimento de bebida láctea adicionada de ácido linoléico conjugado e ensaio clínico em mulheres obesas**. Tese de doutorado – Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais. 2010.

MARTINEZ, Kristina B.; LEONE, Vanessa; CHANG, Eugene B. Western diets, gut dysbiosis, and metabolic diseases: Are they linked?. *Gut microbes*, v. 8, n. 2, p. 130-142, 2017.

MARTARELLI, Daniele et al. Effect of a probiotic intake on oxidant and antioxidant parameters in plasma of athletes during intense exercise training. **Current microbiology**, v. 62, n. 6, p. 1689-1696, 2011.

MARTTINEN, Maija et al. Gut microbiota, probiotics and physical performance in athletes and physically active individuals. **Nutrientes**, v. 12, n. 10, p. 2936, 2020.

- MATSUMOTO, Megumi et al. Voluntary running exercise alters microbiota composition and increases n-butyrate concentration in the rat cecum. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 72, n. 2, p. 572-576, 2008.
- MAUGHAN, Ronald J. et al. IOC consensus statement: dietary supplements and the high-performance athlete. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v. 28, n. 2, p. 104-125, 2018.
- MOREIRA, Maria Rosiany Sousa et al. Perfil antropométrico e sinais e sintomas sugestivos de disbiose intestinal em praticantes de musculação no município de Picos-PI. **RBNE-Revista Brasileira De Nutrição Esportiva**, v. 13, n. 80, p. 591-600, 2019.
- O'HARA, Ann M.; SHANAHAN, Fergus. The gut flora as a forgotten organ. **EMBO reports**, v. 7, n. 7, p. 688-693, 2006.
- PLESSAS, Stavros et al. Potential effects of probiotics in cheese and yogurt production: A review. **Engineering in Life Sciences**, v. 12, n. 4, p. 433-440, 2012.
- POT, Bruno et al. O gênero *Lactobacillus*. **Bactéria láctica: biodiversidade e taxonomia**, p. 249-353, 2014.
- PUGH, Jamie N. et al. Gastrointestinal symptoms in elite athletes: time to recognise the problem?. 2018.
- PYNE, David B., WEST, Nicholas P., COX, Amanda J., CRIPPS, Allan W. Probiotics supplementation for athletes – Clinical and physiological effects, **European Journal of Sport Science**, DOI: 10.1080/17461391.2014.971879
- RAIZEL, Raquel et al. Efeitos do consumo de probióticos, prebióticos e simbióticos para o organismo humano. **Ciência & Saúde**, v. 4, n. 2, p. 66-74, 2011.
- RESENDE, Ayane S.; LEITE, Geovana SF; LANCHÁ JUNIOR, Antonio H. Changes in the Gut Bacteria Composition of Healthy Men with the Same Nutritional Profile Undergoing 10-Week Aerobic Exercise Training: A Randomized Controlled Trial. **Nutrients**, v. 13, n. 8, p. 2839, 2021.
- RINNINELLA, Emanuele et al. What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. **Microorganisms**, v. 7, n. 1, p. 14, 2019.
- RINNINELLA, Emanuele et al. Food components and dietary habits: Keys for a healthy gut microbiota composition. **Nutrients**, v. 11, n. 10, p. 2393, 2019.
- SALARKIA, Nahid et al. Effects of probiotic yogurt on performance, respiratory and digestive systems of young adult female endurance swimmers: a randomized controlled trial. **Medical journal of the Islamic Republic of Iran**, v. 27, n. 3, p. 141, 2013.
- SANTOS, Calila Teixeira et al. Influência da concentração de soro na aceitação sensorial de bebida láctea fermentada com polpa de manga. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 19, n. 1, p. 55-60, 2008.

- SEKIROV, Inna et al. Gut microbiota in health and disease. **Physiological reviews**, 2010.
- SILVA, Sabrina Vieira da. **Desenvolvimento de iogurte probiótico com prebiótico**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2007.
- SIQUEIRA, Kennya B. O mercado consumidor de leite e derivados. **Circular Técnica Embrapa**, v. 120, p. 1-17, 2019.
- SOARES, D. S. et al. The use of cheese whey for probiotic yogurt production. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2011.
- TALMA, Simone Vilela et al. Suco de uva enriquecido com soro: elaboração e aceitabilidade sensorial. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 65, n. 373, p. 20-24, 2010.
- THAMER, Karime Gianetti; PENNA, Ana Lúcia Barretto. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Food Science and Technology**, v. 26, p. 589-595, 2006.
- THURSBY, Elizabeth; JUGE, Nathalie. Introduction to the human gut microbiota. **Biochemical Journal**, v. 474, n. 11, p. 1823-1836, 2017.
- TOMASELLO, Giovanni et al. Nutrition, oxidative stress and intestinal dysbiosis: Influence of diet on gut microbiota in inflammatory bowel diseases. **Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub**, v. 160, n. 4, p. 461-6, 2016.
- TURNBAUGH, Peter J. et al. The human microbiome project. **Nature**, v. 449, n. 7164, p. 804-810, 2007.
- VITALE, Kenneth; GETZIN, Andrew. Nutrition and supplement update for the endurance athlete: review and recommendations. **Nutrients**, v. 11, n. 6, p. 1289, 2019.
- WEISS, G. Adrienne; HENNET, Thierry. Mechanisms and consequences of intestinal dysbiosis. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 74, n. 16, p. 2959-2977, 2017
- WOSINSKA, Laura et al. The potential impact of probiotics on the gut microbiome of athletes. **Nutrients**, v. 11, n. 10, p. 2270, 2019.

APÊNDICES

APÊNDICE A – FORMULÁRIO DE ANÁLISE SENSORIAL

OLÁ, VOCÊ ESTÁ PARTICIPANDO DE UMA ANÁLISE SENSORIAL DE ALIMENTOS.

Preencha os campos abaixo:

Sexo: () M () F

Idade: _____ Escolaridade: _____

Você consome bebidas lácteas? () SIM () NÃO

Com que frequência? () 7 a 4 vezes na semana () 3 a 1 vez na semana

Avalie e indique conforme a numeração abaixo, qual foi a sua experiência consumindo a amostra. **Cada amostra possui uma numeração de 3 dígitos, utilize-a para preencher o campo “n° da amostra”.**

1. Desgostei muitíssimo
2. Desgostei muito
3. Desgostei regularmente
4. Desgostei ligeiramente
5. Indiferente
6. Gostei ligeiramente
7. Gostei regularmente
8. Gostei muito
9. Gostei muitíssimo

N° DA AMOSTRA	OR	AROMA	SABOR	VISCOSIDADE

AVALIAÇÃO DE INTENÇÃO DE COMPRA

Avalie e indique conforme a numeração abaixo sua intenção de compra caso encontrasse o produto à venda.

1. Certamente não compraria
2. Provavelmente não compraria
3. Tenho dúvidas se compraria
4. Provavelmente compraria
5. Certamente compraria

N° DA AMOSTRA	VALOR ATRIBUÍDO

O que você mudaria nas amostras que não gostou?

Obrigada por sua contribuição!

APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO DE PRÁTICA DE ATIVIDADE FÍSICA

1. Realiza atividade Física?

() Sim.

() Não.

Se sim, qual? _____

2. Há quanto tempo pratica atividade física?

APÊNDICE C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado (a) Senhor (a),

Estamos convidando o senhor (a) a participar da pesquisa intitulada **DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA À BASE DE SORO DO LEITE ENRIQUECIDA COM PROBIÓTICOS: UMA POSSÍVEL ALIADA NA DISBIOSE EM PRATICANTES DE ATIVIDADE FÍSICA**, e está sendo desenvolvida por **SAMANTHA JAMILLY SILVA REBOUÇAS**, estudante do curso de Nutrição da Faculdade de Nova Esperança de Mossoró (FACENE/RN), sob a orientação da **pesquisadora responsável Lidiane Pinto de Mendonça¹**, nutricionista e professora da instituição.

Destacamos que sua participação nesta pesquisa será de forma voluntária, e que você possui liberdade para decidir participar do estudo, bem como retirar-se a qualquer momento sem prejuízos a você, de qualquer natureza.

Os objetivos do estudo são: **Desenvolver uma bebida láctea a base do soro do leite enriquecida com probióticos e correlaciona-la como uma possível aliada na disbiose intestinal em praticantes de atividade física**. A finalidade deste trabalho é contribuir para o entendimento geral sobre os benefícios da utilização de compostos naturais na indústria alimentícia e na alimentação da população e possibilitar que a partir disto, novos estudos sejam elaborados com a finalidade melhorar a qualidade nutricional dos alimentos usualmente consumidos pela população.

Solicitamos a sua colaboração para participar dessa análise sensorial de bebidas láctea a base do soro do leite enriquecida com probióticos, como também sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de saúde e publicar em revista científica nacional e/ou internacional. Informamos que não é necessário se identificar e que essa pesquisa pode apresentar alguns riscos no que diz respeito um possível constrangimento gerado por algum questionamento realizado durante o preenchimento dos questionários, portanto, bem como na ingestão das amostras que serão disponibilizadas.

Serão avaliados aspectos de aparência, aroma, sabor, viscosidade e cor por meio de uma escala hedônica que varia de 1 (“desgostei extremamente”) a 9 (“gostei extremamente”). As amostras serão oferecidas em porções de 20 mL em copos plásticos descartáveis codificados de forma aleatória, totalizando 4 amostras por participante, acompanhados de um copo de água ou biscoito água e sal para realização do branco entre as amostras.

Orientamos que caso o (a) senhor (a) não se sinta confortável em responder alguma pergunta, ou em consumir alguma amostra, sinta-se à vontade para interromper o questionário e a análise a qualquer momento. Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o (a) senhor (a) não é obrigado (a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelo pesquisador (a). Saliento que, caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano. O pesquisador estará a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

Caso necessite qualquer esclarecimento adicional, ou diante de qualquer dúvida, você poderá solicitar informações ao pesquisador responsável¹. Também poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa – CEP da Faculdade de Enfermagem Nova Esperança – FACENE². Este documento está elaborado em duas vias, uma delas ficará com você e a outra com a equipe de pesquisa.

Consentimento

Fui devidamente esclarecido sobre a pesquisa, seus riscos e benefícios, os dados que serão coletados e procedimentos que serão realizados além da garantia de sigilo e de esclarecimentos sempre que necessário. Aceito participar voluntariamente e estou ciente que poderei retirar meu consentimento a

qualquer momento sem prejuízos de qualquer natureza. Receberei uma via deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e outra via ficará com pesquisador responsável.

Mossoró-RN, 05 de abril de 2022



Assinatura do pesquisador responsável

Assinatura do participante da pesquisa

Impressão datiloscópica

¹Pesquisador Responsável: **Av. Presidente Dutra, 701, Mossoró-RN, telefone: 9 9993-8803, lidianemendonca@facenemossoro.com.br, segunda a sexta 07h as – 19h.**

²Comitê de Ética em Pesquisa (CEP): O Comitê de Ética, de acordo com a Resolução CNS nº 466/2012, é um colegiado interdisciplinar e independente, de relevância pública, de caráter consultivo e educativo, criado para defender os direitos dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro dos padrões éticos. CEP FACENE/FAMENE - Av. Frei Galvão, 12 – Bairro Gramame - João Pessoa - Paraíba – Brasil, CEP: 58.067-695. Fone: +55 (83) 2106-4790. Horário de atendimento (Segunda à Sexta das 08h às 17h). E-mail: cep@facene.com