

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos



Dissertação

Avaliação de exopolissacarídeos produzido por bactérias ácido-láticas probióticas, como agente tecnológico em bebida láctea fermentada contendo extrato hidrossolúvel de aveia

Silvana de Souza Sigali

Pelotas, 2025

Silvana de Souza Sigali

Avaliação de exopolissacarídeos produzido por bactérias ácido-láticas probióticas, como agente tecnológico em bebida láctea fermentada contendo extrato hidrossolúvel de aveia

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Dr^a Ângela Maria Fiorentini

Co-orientadora: Dr^a Graciela Volz Lopes

Pelotas, 2025

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação da Publicação

S574a Sigali, Silvana de Souza

Avaliação de exopolissacarídeos produzido por bactérias ácido-láticas probióticas, como agente tecnológico em bebida láctea fermentada contendo extrato hidrossolúvel de aveia [recurso eletrônico] / Silvana de Souza Sigali ; Ângela Maria Fiorentini, orientadora ; Graciela Volz Lopes, coorientadora. — Pelotas, 2025.
84 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2025.

1. Extrato vegetal. 2. Fermentação. 3. Espessante. 4. Viabilidade. 5. *Leuconostoc mesenteroides*. I. Fiorentini, Ângela Maria, orient. II. Lopes, Graciela Volz, coorient. III. Título.

CDD 637.146

Silvana de Souza Sigali

**Avaliação de exopolissacarídeos produzido por bactérias ácido-láticas probióticas,
como agente tecnológico em bebida láctea fermentada contendo extrato
hidrossolúvel de aveia**

Dissertação aprovada, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestra em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 09 de junho de 2025

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a Ângela Maria Fiorentini (Orientadora), Doutora em Ciências dos Alimentos pela Universidade Federal de Santa Catarina.

Prof^a. Dr^a. Graciela Volz Lopes (Co-orientadora), Doutora em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Prof^a. Dr^a Cristiane Brauer Zaicovski, Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas.

Dr^a. Isabela Schneid Kroning, Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas

Dr^a. Khadija Bezerra Massaut, Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas

Agradecimentos

Agradeço primeiramente aos meus pais e à minha família pelo amor, apoio incondicional e incentivo em todos os momentos desta caminhada. Sem vocês, nada disso seria possível.

Aos meus amigos, por estarem sempre presentes, oferecendo palavras de encorajamento, compreensão nos momentos difíceis e de ausências e celebrando cada conquista comigo.

Aos colegas do Laboratório de Processamento de Produtos de Origem Animal (LPOA) e do Laboratório de Microbiologia (LabMicro), pela parceria no dia a dia, pelas trocas de conhecimento, pela colaboração essencial ao desenvolvimento deste trabalho e principalmente pela amizade e companheirismo.

Agradeço também aos laboratórios que contribuíram diretamente para a realização deste estudo: ao Laboratório de Análise Sensorial, ao Laboratório de Biotecnologia de Bioprocessos e ao Laboratório de Imunologia Aplicada, pelo suporte técnico, pela disponibilidade dos equipamentos e pela ajuda fundamental nas diferentes etapas da pesquisa.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas pela oportunidade acadêmica e a CAPES pela bolsa concedida.

Um agradecimento muito especial à Professora Ângela, pela orientação dedicada, pelas valiosas contribuições científicas e pelo constante incentivo à excelência. Sua orientação foi essencial para a realização deste trabalho.

Resumo

Sigali, S. S. **Avaliação de exopolissacarídeos produzido por bactérias ácido-láticas probióticas, como agente tecnológico em bebida láctea fermentada contendo extrato hidrossolúvel de aveia.** 2025, 84p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2025.

O presente trabalho avaliou a produção de exopolissacarídeos por *Leuconostoc mesenteroides* KLM6 e seu potencial tecnológico em bebida láctea fermentada contendo extrato hidrossolúvel de aveia (FDBO). A cepa bacteriana foi selecionada com base em sua segurança microbiológica, incluindo ausência de genes de virulência e resistência, e potencial probiótico como capacidade de autoagregação, coagregação, hidrofobicidade e tolerância a diferentes concentrações de sais biliares. A bebida fermentada foi formulada com leite em pó integral, soro de leite e extrato hidrossolúvel de aveia sendo testada em diferentes temperaturas de fermentação e nas combinações de *L. mesenteroides* KLM6 com *Streptococcus thermophilus* TA40. O estudo visou a quantificação da produção de exopolissacarídeos *in vitro* e em FDBO, além de análises físico-químicas, reológicas, viabilidade do microrganismo probiótico, simulação do trato gastrointestinal, parâmetros microbiológicos e sensoriais. A bebida láctea fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia apresentou melhor desempenho na produção de exopolissacarídeos na temperatura de 38 °C atingindo uma produção de 175,21±3,44 mg/L no tratamento com combinação de culturas. Durante os 28 dias de armazenamento refrigerado, *L. mesenteroides* KLM6 manteve boa estabilidade, apresentando uma viabilidade de 7,28±0,61 log UFC/mL, valor superior ao requerido para efeito probiótico (> 6 log UFC/mL). FDBO apresentou pH e acidez adequados, baixa sinérese, boa capacidade de retenção de água e elevada atividade antioxidante. A avaliação da simulação do trato gastrointestinal demonstrou que *L. mesenteroides* KLM6 permaneceu viável após as etapas de exposição a pH ácido, enzimas gástricas, sais biliares e pancreatina, o que reforça sua capacidade de sobrevivência. FDBO obteve boa aceitação sensorial quanto aos atributos de cor (83%), sabor (87%), aroma (86%), textura (87%) e intenção de compra (73%), confirmando o potencial comercial do produto. Concluiu-se que *Leuconostoc mesenteroides* KLM6 é uma cepa segura, potencialmente probiótica e produtora de exopolissacarídeos, com capacidade de melhorar características tecnológicas e funcionais da bebida láctea fermentada. O extrato de aveia mostrou-se um substrato promissor para aplicação em alimentos fermentados, contribuindo para o desenvolvimento de produtos inovadores com apelo funcional, sensorial e tecnológico.

Palavras-chave: extrato vegetal; fermentação; espessante; viabilidade; *Leuconostoc mesenteroides*.

Abstract

Sigali, S. S. **Evaluation of exopolysaccharides produced by probiotic lactic acid bacteria as a technological agent in fermented milk beverage containing water-soluble oat extract**, 2025, 84p. Dissertation (Master's in Food Science and Technology) – Eliseu Maciel Faculty of Agronomy, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2025.

The present study evaluated the production of exopolysaccharides by *Leuconostoc mesenteroides* KLM6 and its technological potential in a fermented dairy beverage containing water-soluble oat extract (FDBO). The bacterial strain was selected based on its microbiological safety, including the absence of virulence and resistance genes, as well as its probiotic potential, demonstrated by its ability to auto-aggregate, co-aggregate, adhere to hydrophobic surfaces, and tolerate different concentrations of bile salts. The fermented beverage was formulated with whole milk powder, whey, and water-soluble oat extract, and was tested at different fermentation temperatures and in combinations of *L. mesenteroides* KLM6 with *Streptococcus thermophilus* TA40. The study aimed to quantify the production of exopolysaccharides both in vitro and in FDBO, as well as to conduct physicochemical and rheological analyses, assess the viability of the probiotic microorganism, simulate gastrointestinal conditions, and evaluate microbiological and sensory parameters. The fermented dairy beverage with water-soluble oat extract showed the best performance in exopolysaccharide production at 38 °C, reaching a concentration of 175.21 ± 3.44 mg/L in the treatment with combined cultures. During 28 days of refrigerated storage, *L. mesenteroides* KLM6 maintained good stability, presenting viability of 7.28 ± 0.61 log CFU/mL, which exceeds the minimum required for probiotic effect (> 6 log CFU/mL). FDBO exhibited adequate pH and titratable acidity, low syneresis, good water-holding capacity, and high antioxidant activity. The simulated gastrointestinal tract evaluation demonstrated that *L. mesenteroides* KLM6 remained viable after exposure to acidic pH, gastric enzymes, bile salts, and pancreatin, reinforcing its survivability under physiological conditions. FDBO received high sensory acceptance for the attributes of color (83%), flavor (87%), aroma (86%), texture (87%), and purchase intent (73%), confirming the product's commercial potential. It was concluded that *Leuconostoc mesenteroides* KLM6 is a safe, potentially probiotic, and exopolysaccharide-producing strain, capable of improving the technological and functional characteristics of fermented dairy beverages. The oat extract proved to be a promising substrate for application in fermented foods, contributing to the development of innovative products with functional, sensory, and technological appeal.

Keywords: vegetable extract; fermentation; thickener; viability; *Leuconostoc mesenteroides*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Benefícios do consumo de probióticos ao hospedeiro	6
Figura 2 - Classificação dos exopolissacarídeos quanto a quantidade de monossacarídeos envolvidos (Homopolissacarídeos e Heteropolissacarídeos).	9
Figura 3 - Vias de síntese de exopolissacarídeos (EPS) pelas vias Wzx/Wzy, via do transportador ABC, via dependente da enzima sintase e via de síntese extracelular	11
Figura 4 - Molécula de Dextrana com ligações glicosídicas α -1,6 e ramificações α -1,3.	13
Figura 5 - Curva de viscosidade (mPas) x taxa de cisalhamento (s^{-1}) de FDBO na temperatura de 10,6 °C.....	40
Figura 6 - Viabilidade de <i>Leuconostoc mesenteroides</i> KLM6 e <i>Streptococcus thermophilus</i> TA40 em FDBO ao longo de 28 dias de armazenamento refrigerado.	42
Figura 7 - Resultados do teste de comparação pareada entre bebida fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia (FDBO) e bebida comercial dos atributos consistência (A) e viscosidade (B) pelos painelistas.	43
Figura 8 - Índice de aceitação dos atributos da bebida láctea fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia (FDBO) por avaliadores não treinados	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estudos de produção de exopolissacarídeos (EPS) por diferentes bactérias ácido-láticas.	12
Tabela 2 - Produção de exopolissacarídeos (EPS) por <i>Leuconostoc mesenteroides</i> em diferentes meios de cultivo.	14
Tabela 3 - Identificação molecular dos isolados de bactérias ácido-láticas provenientes de kefir	24
Tabela 4 - Primers e condições de PCR para genes <i>hly</i> , <i>vanA</i> e <i>asa1</i>	24
Tabela 5 - Tratamentos de bebida láctea fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia (B1 – B9) com temperaturas de fermentação T1 (38° C), T2 (42 °C) e T3 (50 °C) e a adição das culturas bacterianas <i>Streptococcus thermophilus</i> TA40 e <i>Leuconostoc mesenteroides</i> KLM6.	27
Tabela 6 - Autoagregação, Coagregação e Hidrofobicidade dos isolados de kefir	32
Tabela 7 - Valores de resistência a concentrações de sais biliares dos isolados de bactérias ácido-láticas provenientes de kefir.	34
Tabela 8 - Produção de exopolissacarídeos em uma bebida láctea fermentada contendo extrato hidrossolúvel de aveia (FDBO) e <i>S. thermophilus</i> TA40, <i>L. mesenteroides</i> KLM6 e a combinação de bactérias ácido-láticas.	35
Tabela 10 - Caracterização físico-química e reológica da bebida láctea fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia (FDBO) ao longo de 28 dias de armazenamento refrigerado.	38
Tabela 11 - Parâmetros reológicos, índice de consistência “K” (Pa.sn) e índice de fluxo “ η ” (adm) para bebida fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia (FDBO) ao longo de 28 dias de armazenamento.	39
Tabela 12 - Sobrevivência de <i>Leuconostoc mesenteroides</i> KLM6 de bebida láctea fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia, no trato gastrointestinal simulado.	42

Sumário

1	Introdução	1
	Capítulo I - Revisão da Literatura.....	3
1.1	Bactérias Ácido-Láticas	3
1.2	Propriedades Probióticas	4
1.3	Produção de Exopolissacarídeos	7
	1.3.1 <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	12
	1.3.2 Aplicação de EPS na Indústria Alimentícia.....	14
1.4	Bebida Láctea Fermentada	16
	1.4.1 Extrato Vegetal na Formulação de Bebida Láctea - Aveia.....	17
2	Objetivos.....	20
2.1	Objetivo Geral	20
2.2	Objetivos Específicos.....	20
3	Hipótese	21
	Capítulo II – Manuscrito	22
4	Considerações Finais e Perspectivas Futuras.....	52
5	Referências.....	53
	APÊNDICES	53
	ANEXO	80

1 Introdução

As bactérias ácido-láticas (BAL) têm sido amplamente utilizadas na produção de alimentos como em produtos cárneos, produtos vegetais e, predominantemente, em produtos lácteos. Esse uso está vinculado a capacidade que as BAL possuem de aumentar a vida útil desses alimentos em função da produção de ácidos orgânicos e consequente diminuição do pH durante a fermentação, produção de peptídeos antagonistas a outras bactérias, além de modificar sensorialmente os alimentos conferindo sabores, aromas e texturas diferenciados (Freire *et al.*, 2021).

No entanto, é um conhecimento já consolidado que as BAL são capazes de sintetizar diferentes metabólitos e que determinadas espécies também produzem biopolímeros, denominados polissacarídeos extracelulares ou exopolissacarídeos (EPS). Os EPS são carboidratos caracterizados por suas longas cadeias e alta massa molecular, que podem variar dependendo da composição dos açúcares e das propriedades físico-químicas (Ruas-Madiedo *et al.*, 2009). O interesse por EPS está na sua aplicação, especialmente, em produtos lácteos, pois, devido às suas propriedades físico-químicas, eles podem ser altamente relevantes no processamento de alimentos. Esses compostos são capazes de conferir textura, o que pode ser explorado sensorialmente, são viscosificantes com ação espessante e emulsificantes com ação estabilizante em alimentos (Lynch *et al.*, 2018). Além do mais, estudos relatam benefícios à saúde no consumo de alimentos que contém EPS, como auxílio na colonização do trato intestinal, ação anticolesterolêmica, imunomodulatória e antioxidante (Kaur; Dey, 2023) e fazem parte das substâncias pós-bióticas produzidas por bactérias sendo um metabólito produzido e liberado durante a fermentação (Wegh *et al.*, 2018).

A busca por novos produtos está aumentando, especialmente aqueles que combinam derivados lácteos fermentados com frutas e cereais (Klajn *et al.*, 2021). Os principais extratos vegetais utilizados na indústria, em combinação com leite, são os de amêndoas, coco, aveia, amendoim, arroz e soja, que apesar de já serem utilizados, ainda são pouco explorados em pesquisas (Domínguez-Murillo; Urías-Silvas, 2024). Entre os extratos citados, destaca-se a aveia devido ao seu valor nutricional e compostos bioativos, pode ser adicionada em preparações para aumentar a qualidade funcional e os benefícios à saúde de bebidas lácteas fermentadas (Abdelshafy *et al.*, 2024). As bebidas lácteas fermentadas representam uma combinação equilibrada entre ingredientes lácteos e ingredientes não lácteos (produtos de

frutas, cereais, legumes, mel e fibras alimentares), porém devem conter mais que 50% de seu peso total composto por constituintes lácteos (leite e/ou soro de leite) (Brasil, 2024).

Algumas espécies de BAL são aplicadas em alimentos, em virtude do potencial probiótico, cujo mercado de lácteos probióticos é crescente em nível mundial. Os probióticos oferecem diversos benefícios à saúde humana, como a redução dos níveis de colesterol, aumento da tolerância à lactose, melhoria da digestão e maior resistência a infecções do trato intestinal (Khare *et al.*, 2020). Para poder ser considerado probiótico, um microrganismo não apenas deve sobreviver a passagem pelo trato gastrointestinal como também deve possuir a capacidade de se multiplicar no intestino (FAO/WHO, 2006). Entre as BAL, as cepas mais utilizadas industrialmente são as do gênero *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Lactococcus* e *Leuconostoc* (Das *et al.*, 2022).

Nesse contexto, é essencial explorar novos isolados de BAL que produzam EPS e possuem potencial probiótico, provenientes de diferentes matrizes alimentares, como o kefir, avaliando a segurança microbiológica, as características fisiológicas e tecnológicas, bem como a capacidade de serem incorporados em diferentes produtos alimentícios. Portanto, o objetivo do presente estudo é avaliar a produção de EPS por bactéria ácido-lática probiótica *Leuconostoc mesenteroides* KLM6 em bebida láctea fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia (FDBO) e o efeito do biopolímero nas propriedades funcionais, microbiológicas, físico-químicas, reológicas e sensoriais, durante o armazenamento em refrigeração.

Capítulo I - Revisão da Literatura

1.1 Bactérias Ácido-Láticas

As bactérias ácido-láticas (BAL) são um grupo heterogêneo de microrganismos que produzem ácido lático como produto principal da fermentação de carboidratos (Ayivi *et al.*, 2020). Apresentam características de bactérias Gram-positiva (Wang *et al.*, 2021), catalase negativa, não formadoras de esporos, ácido tolerantes e anaeróbias, aeróbias facultativas ou microaerófilas (Werning *et al.*, 2022).

O grupo de BAL é formado pelos gêneros *Lactobacillus* (180 espécies), *Lactococcus* (7 espécies e 6 sub-espécies), *Pediococcus* (9 espécies) e *Streptococcus* como principais representantes, porém, os gêneros *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* e *Weissella* também fazem parte desse grupo e são encontradas principalmente em derivados lácteos fermentados, mas também em produtos fermentados derivados de vegetais, cárneos e cereais (Gopal, 2020; Mathur, Beresford; Cotter, 2020). Recentemente, Zheng *et al.* (2020) propuseram uma reclassificação taxonômica do gênero *Lactobacillus*, novos 23 gêneros foram incluídos e outros tiveram sua nomenclatura alterada, totalizando 25 gêneros com 261 espécies, e apenas 38 espécies permaneceram classificadas no gênero *Lactobacillus*. De acordo com Gopal (2020), além da classificação por gênero, as BAL também podem ser classificadas de acordo com a sua característica de via de fermentação de açúcares, sendo denominadas homofermentativas aquelas bactérias que utilizam glicose como principal fonte de energia e produzem predominantemente ácido lático como produto final, como as cepas de *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* e *Vagococcus*, enquanto que as heterofermentativas como *Leuconostoc*, *Weissella*, *Carnobacterium*, *Oenococcus* e algumas espécies de *Lactobacillus*, podem produzir além do ácido lático, etanol, acetato e dióxido de carbono, a partir de uma molécula de glicose.

As BAL são classificadas como GRAS (*Generally Recognized As Safe*), ou seja, são reconhecidas usualmente como seguras. Esse *status* é baseado no seu histórico de uso seguro quando presentes em alimentos, desde antes de 1958, ou por procedimentos científicos robustos que forneçam uma quantidade considerável de evidências confiáveis (FDA, 2018). Desta forma, as BAL possuem uma ampla associação tradicional com alimentos fermentados, tanto em produtos artesanais pelas culturas autóctones como em produtos industrializados com culturas iniciadoras (Habib *et al.*, 2022), com amplo emprego na produção de produtos lácteos

(leites fermentados, queijos), como também em produtos cárneos e vegetais (Freire *et al.*, 2021). Essa aplicação deve-se à capacidade das BAL de prolongar a vida útil desses alimentos, devido à redução do pH durante o processo de fermentação, a redução do tempo de fermentação/maturação, a produção de peptídeos com ação antagonista contra outras bactérias, além de alterar sensorialmente os alimentos, proporcionando sabores, aromas e texturas únicos (García-Cano *et al.*, 2019).

Durante a fermentação, as BAL produzem ácidos orgânicos, aminoácidos, bacteriocinas e outros metabólitos que contribuem para o desenvolvimento de sabores, aromas como acetaldeído e acetoina, e também ação antimicrobiana pois previnem a contaminação e/ou deterioração, o que os torna importantes para aplicação na indústria de alimentos (Ayivi *et al.*, 2020; Joshi *et al.*, 2024). Além da aplicação de BAL em processos fermentativos e produção de metabólitos com vasta aplicação na área de alimentos, é crescente a participação em alimentos funcionais, como os probióticos.

1.2 Propriedades Probióticas

São denominados probióticos os microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde ao hospedeiro (FAO/WHO, 2006; Hill *et al.*, 2014). Diversos microrganismos podem apresentar potencial probiótico incluindo leveduras, bactérias do gênero *Bifidobacterium* e as BAL como *Lactobacillus*, *Bacillus* e *Pediococcus* (Maftei *et al.*, 2024).

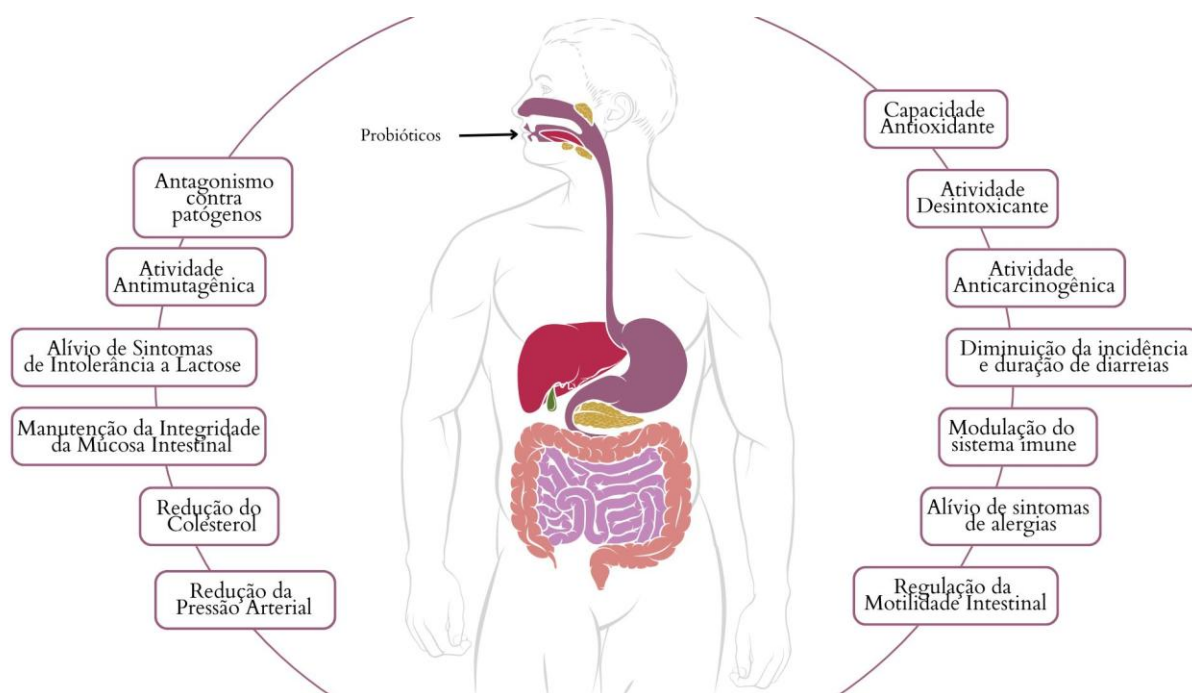
No Brasil, a RDC nº 241, de 26 de julho de 2018 dispõe sobre os requisitos de segurança e dos benefícios à saúde para que probióticos possam ser utilizados em alimentos e estes microrganismos devem possuir um histórico de uso seguro, não deve haver registros de eventos adversos relevantes, não deve apresentar fatores de virulência e patogenicidade, não podem produzir substâncias ou metabólitos que apresentem risco à saúde humana, não devem apresentar resistência a antibióticos transferível (transferência via plasmídeos) e, apresentar susceptibilidade a, ao menos, dois antibióticos (Brasil, 2018). Em 2021, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária lançou o Guia para instrução processual de petição de avaliação de probióticos para uso em alimentos nº 21/2021, que expressa o entendimento da Anvisa sobre as melhores práticas com relação a procedimentos, rotina e métodos considerados adequados ao cumprimento de requisitos técnicos ou administrativos exigidos pelos marcos legislativo e regulatório da Agência. Pelo Guia nº 21/2021 os testes mínimos para qualquer linhagem

probiótica são perfil de resistência a antimicrobianos de importância clínica e pesquisa dos fatores de virulência (Brasil, 2021).

Os probióticos convencionais mais utilizados nas indústrias de alimentos são as BAL, principalmente as espécies de *Lactobacillus* uma vez que estas são espécies que já fazem parte da microbiota intestinal (Shokryazdan *et al.*, 2017). Os filos Firmicutes e Bacteroidetes representam 90% da composição da microbiota intestinal sendo o filo Firmicutes representado por mais de 200 gêneros como os *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus* e *Ruminococcus* (Rinninella *et al.*, 2019). Para ser considerado probiótico, o microrganismo não pode ser patogênico, deve tolerar pH baixo, altas concentrações de sais biliares e não desencadear respostas adversas pelo sistema imune do hospedeiro bem como, o microrganismo não apenas deve sobreviver à passagem pelo trato gastrointestinal, como também possuir a capacidade de colonizar e se multiplicar no intestino (Mokoena, 2017; FAO/WHO, 2006).

As BAL ganharam espaço no mercado, no momento que seus benefícios à saúde foram confirmados (Arasteh; Ataee; Sharifan, 2021). Muitos são os benefícios que o consumo de probióticos pode propiciar ao hospedeiro como: interferência, exclusão e antagonismo contra patógenos; estímulo e modulação do sistema imune; atividade antimutagênica e anticarcinogênica; manutenção da integridade da mucosa intestinal; regulação da motilidade do intestino e da síndrome do intestino irritável; redução do risco de diabetes gestacional; aumento da absorção de nutrientes; melhora do crescimento e desenvolvimento em crianças e também a produção de outros compostos benéficos como vitaminas, ácidos graxos de cadeia curta e ácidos linoleicos conjugados e outros (Figura 1) (Palanivelu, *et al.*, 2022; Shokryazdan *et al.*, 2017).

Figura 1 - Benefícios do consumo de probióticos ao hospedeiro



Fonte: A Autora, 2025

A maioria dos microrganismos probióticos que são implementados comercialmente, foram isolados de leite *in natura* e seus derivados, logo, a maioria dos produtos que possuem condições para multiplicação de probióticos são os derivados lácteos fermentados (Palanivelu *et al.*, 2022). A Portaria nº 1.174, de 3 de setembro de 2024, refere-se que em bebidas lácteas fermentadas, a contagem total de bactérias ácido-láticas viáveis deve ser de no mínimo 6 log UFC/g no produto final e durante a vida útil do produto (Brasil, 2024). Porém, nem todas as bactérias ácido-láticas possuem características probióticas e a população mínima requerida de cepas para que se tenha efeito probiótico nesses produtos deve ser superior a concentração de 6 log UFC/g ou mL no alimento, durante a vida útil do produto (Papadopoulou *et al.*, 2018). Como cada país tem em suas normativas concentrações diferentes estabelecidas para considerar um produto probiótico, há um consenso entre os pesquisadores de que o mínimo necessário para o probiótico colonizar o intestino e beneficiar o hospedeiro deveria ser igual ou superior a 6 log UFC/g ou mL (Garg *et al.*, 2024). Os fatores que podem fazer com que essa viabilidade seja diminuída durante a produção e armazenamento do produto incluem a presença de oxigênio, alta temperatura, acidez elevada, baixa atividade de água, estresse osmótico, baixo teor de umidade e material da embalagem (Shah, 2000).

Ademais, muitas BAL probióticas, isoladas de diversas fontes, podem produzir exopolissacarídeos (EPS) com potencial tecnológico e propriedades bioativas (Angelin; Kavitha, 2020).

1.3 Produção de Exopolissacarídeos

Entre os metabólitos produzidos por BAL que apresentam interesse na indústria de alimentos estão os EPS, considerados pós-bióticos que possuem valor comercial em função do seu uso industrial (Pachekrepapol *et al.*, 2017; Patel, Majumder; Goyal, 2011). Os exopolissacarídeos (EPS) são biopolímeros formados por longas cadeias de açúcares que são biologicamente sintetizados por diversas espécies de bactérias ácido-láticas (BAL) (Diez-Ozaeta; Astiazaram, 2022), sendo que os primeiros registros de estudos datam das décadas de 1950 e 1960 (Sutherland, 1972).

A produção *in situ* de EPS resulta em um produto alimentício com uma melhor textura e também em propriedades sensoriais mais agradáveis que incluem percepção de sabor, brilho e cremosidade, além de diminuir a sinérese durante o armazenamento refrigerado (London *et al.*, 2015; Mende; Rohm; Jaros, 2020). *Limosilactobacillus fermentus* Lf2 foi isolado por Ale *et al.*, (2019) a partir de um queijo argentino semiduro. O EPS produzido *in situ* por *L. fermentus* Lf2 (em combinação com *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*) em um iogurte, mostrou impacto nas propriedades reológicas, microestrutura, atividade metabólica e liberação de peptídeos o que pode proporcionar ao iogurte propriedades promotoras de saúde (Ale *et al.*, 2023).

Além de características sensoriais e reológicas melhoradas em alimentos, os EPS também estão relacionados com benefícios à saúde, como efeitos no auxílio a colonização do trato intestinal, redução do colesterol, imunomodulatório, anti-hipertensiva, antidiabética, antiformentação de biofilme por patógenos, antioxidante e antitumoral (Kaur; Dey, 2023; Habib *et al.*, 2022). Ayyash *et al.*, (2020) isolaram *Pediococcus pentosaceus* M41 de peixe seco e o EPS produzido mostrou propriedades bioativas como ação antioxidante, antidiabética, antitumoral e, também atividade antibacteriana, apresentando potencial de aplicação em alimentos. Os EPS produzidos por BAL, além de possuir propriedades imunomodulatórias e habilidade de inibir a multiplicação de patógenos, também aumentam o potencial probiótico construindo uma barreira que é responsável por proteger as células das condições adversas do intestino humano (Mende; Rohm; Jaros, 2020). Isolado de iogurte artesanal, *Enterococcus faecalis* NOC19 produziu EPS com alta atividade antioxidante frente ao radical DPPH e

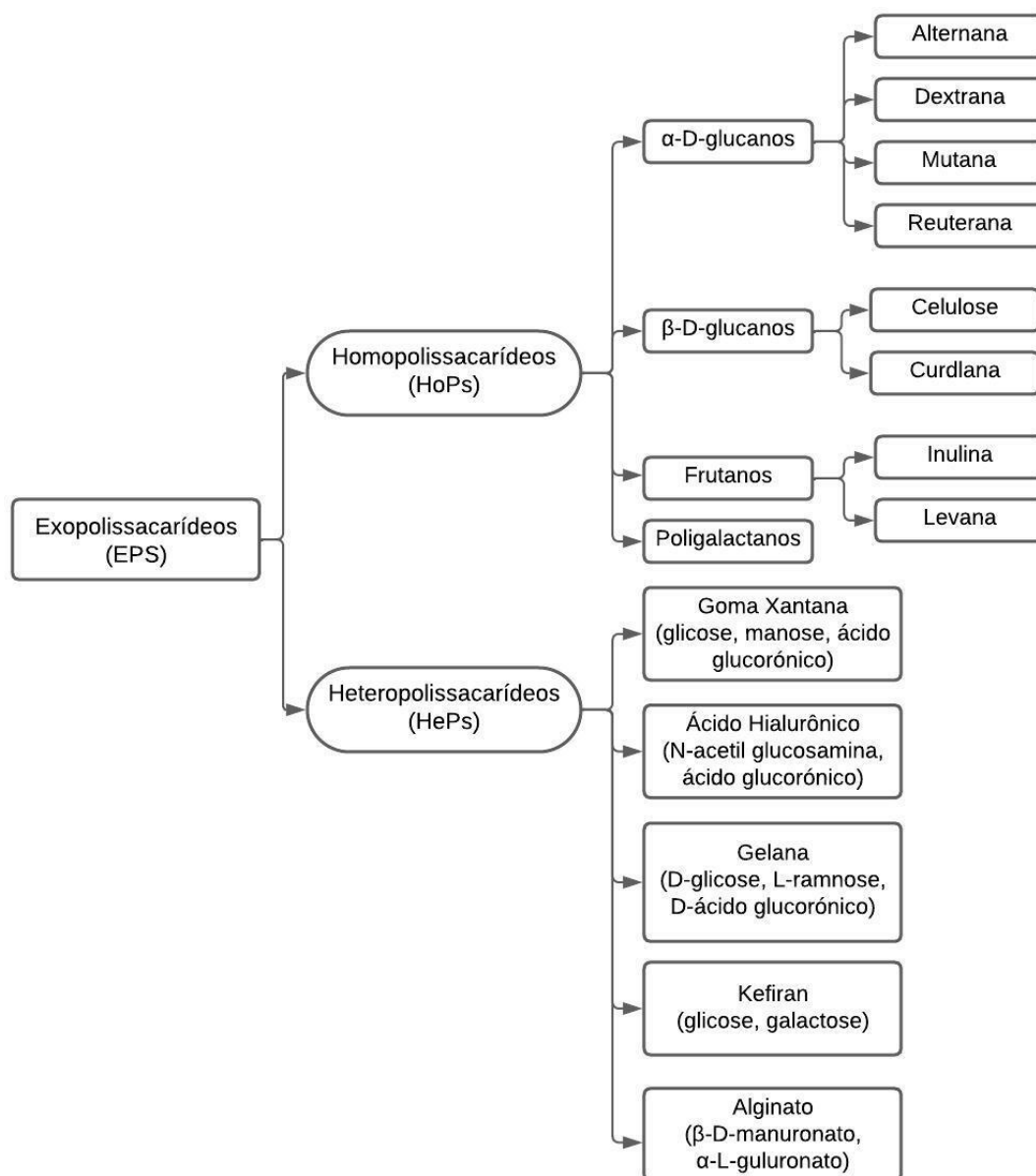
atividade antiformação de biofilme de bactérias patogênicas *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* (Özdemir, 2023).

Os EPS possuem característica limosa e mucoide quando em meios sólidos, já em meios líquidos, aumentam a viscosidade e, às vezes, podem solidificar o meio em forma de gel (Rana; Upadhyay, 2020). Podem permanecer ligados fracamente na superfície da célula microbiana e são completamente excretados no meio durante o crescimento (Ali *et al.*, 2020; Patel; Majunder; Goyal, 2012). Existem dois fenótipos de cepas produtoras de EPS, o fenótipo pegajoso que quando uma colônia coberta de EPS é tocada e então lentamente puxada forma um filamento longo e contínuo, enquanto o fenótipo mucoide se manifesta como colônias brilhantes e lisas que crescem em meio sólido, como ágar nutriente (Zannini *et al.*, 2015).

As bactérias sintetizam EPS durante as fases exponencial e estacionária, no entanto, a produção máxima de EPS ocorre apenas durante o final da fase exponencial (Angelin; Kavitha, 2020). As respectivas quantidades de EPS produzidas dependem da composição do meio, da cepa utilizada e condições de crescimento como temperatura, pH, presença de oxigênio e período de incubação (Nadzir *et al.*, 2021; Patel; Majunder; Goyal, 2011). Os gêneros de BAL que mais se destacam na produção de EPS são *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* e *Weissella* (Angelin; Kavitha, 2020).

Em virtude da composição química e mecanismos de biossíntese, os EPS produzidos por BAL estão classificados em dois grupos: homopolissacarídeos (HoPs) e heteropolissacarídeos (HePs) (Zannini *et al.*, 2015; Lynch *et al.*, 2018). Os HoPs podem apresentar cadeia ramificada ou não, e são compostos por apenas um tipo de monossacarídeo como a glicose ou frutose e estão unidos por ligações glicosídicas, enquanto HePs, apresentam duas ou mais unidades de monossacarídeos diferentes (Netrusov *et al.*, 2023). A Figura 2 apresenta a classificação dos EPS quanto a sua quantidade de monossacarídeos envolvidos.

Figura 2 - Classificação dos exopolissacarídeos quanto a quantidade de monossacarídeos envolvidos (Homopolissacarídeos e Heteropolissacarídeos).



Fonte: Adaptado de Nadzir *et al.* (2021)

Quanto a biossíntese de EPS em células bacterianas, ocorrem quatro mecanismos gerais: pela via dependente da proteína Wzx/Wzy, pela via dependente de transportador ABC, pela via dependente de síntese e a biossíntese extracelular pela enzima sacarase (Netrusov *et al.*, 2023). A via Wzx/Wzy ocorre em três estágios: (i) os resíduos de açúcares são transportados às células e transformados em unidades monoméricas que são transferidas e ligadas a uma âncora de undecaprenil fosfato (Und-P) na membrana citoplasmática (membrana interna); (ii) glicosiltransferases (GTs) ligam mais unidades de açúcar para produzir unidades repetidas que

se translocam através da membrana citoplasmática pela *Wzx flippase* e; (iii) as unidades translocadas de oligossacarídeos passam por várias modificações enzimáticas como metilação e acetilação e são polimerizados a polissacarídeos pela proteína *Wzy*. Os polissacarídeos formados são excretados da célula através dos transportadores ABC (Nadzir *et al.*, 2021). Essa via é responsável pela produção de HePs como gelana, xantana e kefiran (Liang *et al.*, 2024).

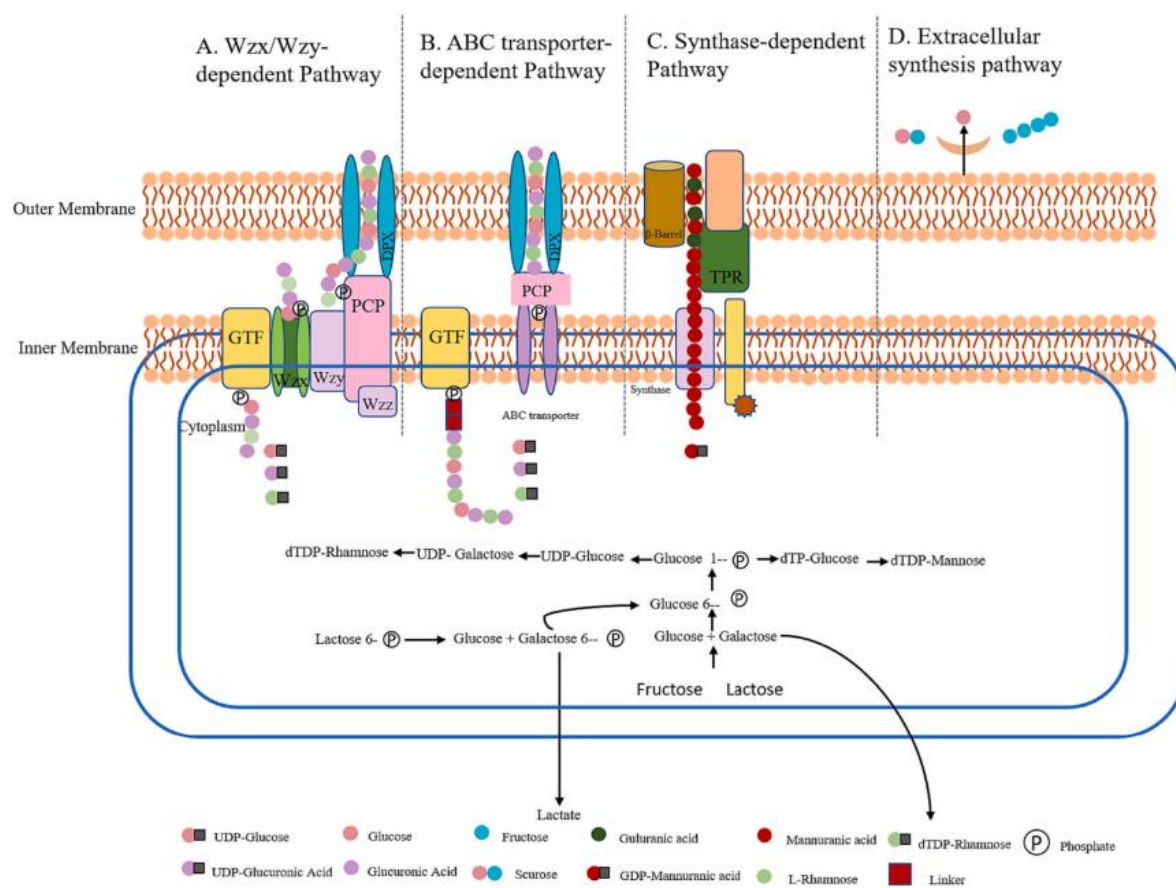
A via dependente do transportador ABC (cassete de ligação a ATP) está principalmente envolvida na síntese de polissacarídeos capsulares, que são polissacarídeos que permanecem ligados a superfície celular através de ligações covalentes de moléculas de fosfolipídios e lipídios (Liang *et al.*, 2024). Os polissacarídeos completos são sintetizados por GTs específicas, localizadas na parte interna da membrana citoplasmática. As cadeias de açúcares poliméricos são transportadas através da membrana citoplasmática por um complexo semelhante a uma bomba de efluxo tripartida que são conjuntos moleculares complexos de bactérias Gram-negativas com capacidade de expelir antibióticos e outros agentes tóxicos da célula (Neuberger; Du; Luisi, 2018). A síntese de polissacarídeos capsulares obtidos por essa via envolve um glicolipídio que é conservado na extremidade redutora, e é composto por fosfatidilglicerol e um ligante de ácido poli-2-ceto-3-desoxioctulosônico, sendo essa a principal diferença entre as vias dependentes de *Wzx/Wzy* e do transportador ABC (Pérez-Burgos *et al.*, 2020; Rana; Upadhyay, 2020).

Na via dependente da enzima sintase, utiliza-se um complexo multiproteico que está incorporado na membrana citoplasmática que consiste de uma GTs e uma co-polimerase que polimeriza o EPS, facilitando sua translocação através da membrana (Knirel; Van Calsteren, 2020).

E, por fim, a via de biossíntese extracelular pela enzima sacarase, ocorre quando a sacarose é convertida em unidades monoméricas pela enzima fora da membrana da célula. As GTs polimerizam essas unidades monossacarídicas para formar glucanos (dextrana) e frutanos (levana), com diferentes ramificações. Em BAL probióticas, as glucano-sacarases são classificadas em alternanas, dextranas, mutanas e reuteranas. Em contraste, as frutano-sacarases são divididas em levano-sacarases (levana) e inulo-sacarases (inulina). Como resultado, os EPS sintetizados por bactérias através da via de biossíntese extracelular, são HoPs. Por exemplo, o monômero de glicose é o componente principal de dextranas, mutanas, alternanas, reuteranas e curdlanas, enquanto levanas e poligalactanos são formados a partir de frutose e galactose, respectivamente e então, os EPS sintetizados são liberados para o meio extracelular (Nadzir *et*

al., 2021). Na Figura 3, um resumo das vias de síntese de EPS tanto para HePs quanto para HoPs.

Figura 3 - Vias de síntese de exopolissacarídeos (EPS) pelas vias Wzx/Wzy, via do transportador ABC, via dependente da enzima sintase e via de síntese extracelular



Fonte: Zhang *et al.*, 2024

As propriedades físico-químicas, como a presença de cadeias poliméricas e a atividade biológica como a ação antioxidante, anti-formação de biofilme por patógenos, anti-tumoral, anti-inflamatório e até mesmo anti-diabética dos EPS provenientes de BAL, estão mais ligadas às características estruturais (composição de monossacarídeos, polaridade, ligações glicosídicas, massa molecular, grupos funcionais ou substituintes) do que a origem da espécie microbiana (Pachekrepapol *et al.*, 2017, Wu *et al.*, 2023).

A produção de EPS varia entre 10 mg/L e 400 mg/L dependendo da cepa e sob condições não otimizadas e pode-se alcançar valores muito maiores se em condições ótimas para cada microrganismo (Korcz; Varga, 2021).

Tabela 1 - Estudos de produção de exopolissacarídeos (EPS) por diferentes bactérias ácido-láticas.

BAL	Produção de EPS	Condições de produção	Referência
<i>Lactobacillus</i>	160-740 mg/L	40 °C / 24 h / 100 rpm	Abdellah <i>et al.</i> , (2014)
<i>Streptococcus</i>	126-319 mg/L	40 °C / 24 h / 100 rpm	Abdellah <i>et al.</i> , (2014)
<i>Pediococcus</i>	132-134 mg/L	40 °C / 24 h / 100 rpm	Abdellah <i>et al.</i> , (2014)
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	515 mg/L	30 °C / 48 h / sem agitação	Mıdık <i>et al.</i> , (2020)
<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i>	2,8 g/L	37 °C / 24 h / 100 rpm	Macedo <i>et al.</i> , (2002)
<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i>	2,5 g/L	33 °C / 7 dias / sem agitação	Maeda <i>et al.</i> , (2004)

Condições de produção de exopolissacarídeos (EPS) expressas em temperatura/tempo/agitação

Fonte: Adaptado de Korcz; Varga, (2021)

1.3.1 *Leuconostoc mesenteroides*

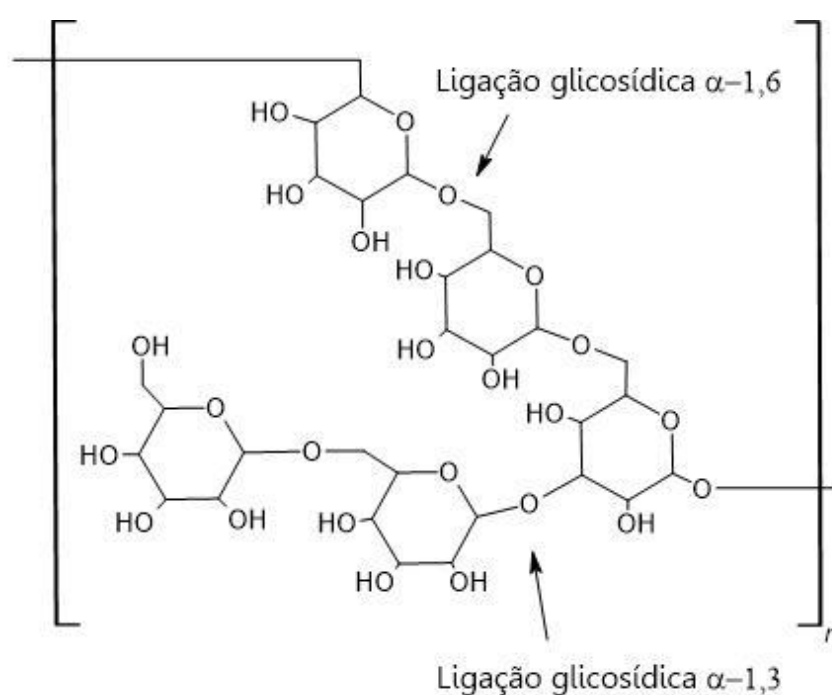
Entre as BAL com capacidade de síntese de EPS, a espécie *Leuconostoc mesenteroides* (*L. mesenteroides*) foi selecionada no presente estudo. A bactéria apresenta morfologia de cocos, é Gram-positiva, catalase negativa, anaeróbia facultativa, não formadora de esporos, heterofermentativa (fermentando glicose em D-ácido lático, etanol ou ácido acético e CO₂ pela via de fosfocetolase) (de Paula *et al.*, 2014) e, a maioria das cepas, são produtoras de EPS na forma de dextrana (Baek *et al.*, 2024, Chun *et al.*, 2017), porém há estudos onde também são identificadas produções de alternanas (Côté; Skory, 2011) e levanas (Taylan *et al.*, 2019), utilizando glicose, frutose e sacarose como fonte de energia (Miyamoto *et al.*, 2023).

Algumas cepas de *Leuconostoc* spp. são capazes de produzir quantidades significativas de diacetil a partir de citrato, que é um composto relacionado com as características sensoriais de aroma e sabor (de Paula *et al.*, 2014) e pode estar presente em materiais vegetais, cereais, silagem, frutas, produtos lácteos, cárneos, vegetais fermentados e vinho (Jeon *et al.*, 2017; de Paula *et al.*, 2014).

Em virtude da capacidade de *L. mesenteroides* em produzir EPS (Lule *et al.*, 2016) e assim promover a viscosidade, é comumente utilizada na indústria de laticínios, a fim de espessar leites fermentados (de Paula *et al.*, 2015). Os EPS produzidos por *L. mesenteroides*

são HoPs constituídos por α -D-glucanas, como dextranas, que possuem em sua composição principalmente resíduos unidos por ligações α -1,6 com graus variáveis (específicos para cada cepa) de ramificações alternadas compostas de ligações α -1,3 e α -1,6. Esse processo de biossíntese é extracelular e requer sacarose (Hemme; Foucaud-Scheunemann, 2004), uma vez que converte a sacarose em glicose e frutose pela via dextrana-sucrase, um tipo de glicosiltransferase, e utiliza a frutose como fonte de energia, enquanto produz dextrana utilizando a glicose (Miyamoto *et al.*, 2023). A Figura 4 mostra uma molécula de dextrana ligada a outras moléculas de dextrana, via ligações glicosídicas α -1,6 e ramificações com α -1,3.

Figura 4 - Molécula de Dextrana com ligações glicosídicas α -1,6 e ramificações α -1,3.



Fonte: Adaptado de Nasrollahzadeh *et al.*, 2021

Bisson *et al.* (2024) observaram que em concentrações altas (>30 mg/L), os EPS produzidos por *L. mesenteroides* se mostram bons agentes viscosificantes e gelificantes, no entanto, mesmo em concentrações baixas (5 mg/mL), continuaram apresentando a capacidade de eliminar radicais livres, atividade antimicrobiana e inibição da formação de biofilme de *Listeria monocytogenes*, porém, perdendo a capacidade gelificante e viscosificante.

Estudos relatados na literatura utilizando diferentes meios de cultura, porém a mesma espécie de BAL (*L. mesenteroides*), obtiveram diferentes concentrações quanto a síntese de EPS (Tabela 2).

Tabela 2 - Produção de exopolissacarídeos (EPS) por *Leuconostoc mesenteroides* em diferentes meios de cultivo.

Isolado	Meio de produção	Produção de EPS	Referência
<i>L. mesenteroides</i> XR1	Soro de leite	12,136 mg/mL	Wang <i>et al.</i> , 2021
<i>L. mesenteroides</i> SN-8	MRS suplementado com sacarose	2,42 g/L	Li <i>et al.</i> , 2020
<i>L. mesenteroides</i> B3	MRS suplementado com sacarose	1,06 g/L	Bisson <i>et al.</i> , 2023
<i>L. mesenteroides</i> P35	Soro de leite	48 ± 3 g/L	Azari-Anpar <i>et al.</i> , 2023
<i>L. mesenteroides</i> S81	BHI suplementado com sacarose	13,2 ± 0,7 g/L	Taylan; Yilmaz; Dertli, 2019
<i>L. mesenteroides</i> DRP105	MRS suplementado com sacarose	21,16 ± 0,07 a 49,23 ± 0,06 g/L	Xing <i>et al.</i> , 2018
<i>L. mesenteroides</i> F27	MRS	9,18 ± 0,43 g/L	Nemati; Mozafarpour, 2024
<i>L. mesenteroides</i> N5	Seiva de palma (<i>Borassus flabelifer</i> L.)	58,97 mg/100 mL	Ma'unatin <i>et al.</i> , 2020
<i>L. mesenteroides</i> N7	Seiva de palma (<i>Borassus flabelifer</i> L.)	66,48 mg/100 mL	Ma'unatin <i>et al.</i> , 2020
<i>L. mesenteroides</i> 2F6-9	Iogurte com culturas comerciais	~300 mg/kg	Ramos <i>et al.</i> , 2023
<i>L. mesenteroides</i> 6F6-12	Iogurte com culturas comerciais	~450 mg/kg	Ramos <i>et al.</i> , 2023

Fonte: A autora, 2024.

1.3.2 Aplicação de EPS na Indústria Alimentícia

O interesse de aplicação ou produção de EPS em alimentos é visando obter um produto com benefícios sensoriais como visual brilhoso deixando-o mais atrativo ao consumidor, e no caso de produtos lácteos prevenir a sinérese, obter uma textura firme e cremosa para que a sensação na boca seja prazerosa (Duboc; Mollet, 2001).

Em virtude de seu potencial tecnológico, os EPS vêm ganhando espaço nas pesquisas pois propiciam fator emulsificante e estabilizante, tanto emulsões de óleo em água, quanto água em óleo (Bibi *et al.*, 2021). Também podem ser utilizados na retenção da umidade, alteração na reologia, promovendo firmeza e alterando propriedades biomecânicas dos alimentos (Bisson *et al.*, 2024; Kaur; Dey, 2023). Esses benefícios são elementares na indústria de laticínios melhorando a viscosidade de leites fermentados enquanto que na indústria de cereais e

panificação aumentam o volume de pães sem glúten e também melhoram as propriedades de textura de embutidos fermentados, podem ser substitutos de gomas alimentares semi-sintéticas como a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) (Bisson *et al.*, 2024; Galle *et al.*, 2012).

Os EPS produzidos por BAL, especialmente os HePs, vêm sendo utilizados na indústria de laticínios uma vez que sua produção *in situ* durante o processo fermentativo, melhoram os atributos de emulsificante, espessante e firmeza (Ale *et al.*, 2016; De Vuyst; Degeest, 1999). Leites fermentados formulados com adição de cepas produtoras de EPS mostram menor susceptibilidade a perda de viscosidade quando expostas a agitação do que aquelas produzidas com cepas não produtoras de EPS (Mårtensson; Öste; Holst, 2000). A presença de EPS nos produtos são substitutos para aditivos da categoria de estabilizantes na fabricação, especialmente, de iogurte (Broadbent *et al.*, 2003).

Diferentes espécies de BAL estão documentadas como produtoras de EPS em meios lácteos. Bengoa *et al.*, 2023, utilizando cepas de *Lactocaseibacillus casei* CIDCA 8339, CIDCA 83123 e CIDCA 83124, produziram leites fermentados a 20 °C, 30 °C e 37 °C, até que fosse formado o coágulo. O leite fermentado por *L. casei* CIDCA 83124 apresentou um resultado mais viscoso na análise reológica quando comparado com os produzidos pelas outras duas cepas. Da mesma forma, ao produzir um leite fermentado, Nami *et al.*, (2024), utilizaram uma cepa de *Weissella confusa* ABRIIFBI-96 que mostrou boa produção de EPS e potencial de reduzir os níveis de colesterol, também apresentando boa aceitação na análise sensorial nos atributos aparência, aroma, textura e aceitação global.

Entretanto, os benefícios do uso de EPS não se limitam apenas aos produtos lácteos, na panificação melhora a reologia, composição e volume de pães, deixando o miolo mais macio e aumentando a vida útil. Os HoPs sintetizados *in situ* por *L. mesenteroides* e *W. confusa* (Xu *et al.*, 2020) são capazes de produzir frutanos e glucanos durante a fermentação de massas sem glúten (Wu *et al.*, 2023). Em produtos cárneos, os EPS também podem ser aplicados promovendo propriedades de textura em embutidos fermentados, proporcionando melhor firmeza no alimento (Loeffler *et al.*, 2020).

Quando utilizados como ingrediente funcional em alimentos, os EPS passam a ter uma função pós-biótica (Sørensen *et al.*, 2022). Denominam-se de pós-bióticos os metabólitos que são produzidos e liberados na matriz fermentativa ou com a lise celular, promovendo benefícios como as vitaminas, peptídeos, ácidos orgânicos, proteínas e, também, EPS (Wegh *et al.*, 2019).

Além das propriedades tecnológicas, os EPS apresentam potencial quando aplicados em embalagens, suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes podem ser aplicadas a embalagens como uma alternativa a polímeros insolúveis em água (Razavi *et al.*, 2020). Também são muitos os benefícios à saúde como atividade antioxidante, antimicrobiana, antiviral, anti-biofilme e imunomodulador quando presente nos alimentos (Moradi; Guimarães; Sahin, 2021).

Esses benefícios à saúde dos EPS, sugerem que sua industrialização em larga escala poderia ser aplicada, porém, a produção em massa esbarra em baixo rendimento e altos custos de purificação, o que torna o preço de venda insustentável para a população em geral (Zhang *et al.*, 2024). A utilização de EPS produzido *in situ* não requer regulamentação nem apresentação no rótulo, o que vai ao encontro da expectativa de consumidores que buscam, cada vez menos, adição de aditivos nos produtos (Korcz; Varga, 2021).

1.4 Bebida Láctea Fermentada

Além dos leites fermentados, outros derivados lácteos como bebidas lácteas fermentadas ou não fermentadas são produzidos, diferenciando-se dos leites fermentados pelo menor percentual de base láctea na sua composição. Segundo a Portaria nº 1.174, de 3 de setembro de 2024, que estabelece os critérios de identidade e qualidade, bebida láctea é o produto derivado da combinação de leite (*in natura*, pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado, parcialmente desnatado ou desnatado) e soro de leite (concentrado, líquido ou em pó), podendo ou não incluir outros produtos ou substâncias alimentícias, bem como adição de culturas iniciadoras para as bebidas lácteas fermentadas. Para ser considerada uma bebida láctea, os constituintes lácteos devem representar mais de 50% do total dos ingredientes do produto elaborado (Brasil, 2024).

Na formulação de bebidas lácteas, a utilização de soro de leite, subproduto da fabricação de queijo, é uma estratégia eficaz para aproveitamento desse recurso, destacando-se pelo seu excelente valor nutricional, principalmente em proteínas como α -lactoalbuminas e β -lactoglobulinas (Almeida; Bonassi; Roça, 2001).

As bebidas lácteas podem ser classificadas em três segmentos diferentes sendo o de bebidas tradicionais, bebidas com valores adicionados e bebidas funcionais (Turkmen; Akal; Özer, 2019). As bebidas lácteas tradicionais são consumidas em diversas regiões do mundo, e possuem uma consolidação quanto a sua saudabilidade (Özer; Krimaci, 2014). Por outro lado,

as bebidas lácteas de valor agregado vêm conquistando espaço no mercado, pois destacam-se pelo alto teor de proteínas, como é o caso das bebidas esportivas (Parker; Lopetcharat; Drake, 2018). Já as bebidas lácteas funcionais são suplementadas/enriquecidas com ingredientes funcionais como vitaminas, minerais, peptídeos bioativos, biopolímeros e também probióticos (Özer; Kirmaci, 2010). Esse tipo de produto funcional tem sido o foco da indústria de alimentos utilizando a combinação de derivados lácteos fermentados com frutas e/ou cereais.

Com o foco de produzir uma bebida láctea fermentada funcional, Bessegato *et al.*, (2019), produziram uma bebida láctea de baixo teor de lactose com extrato hidrossolúvel de soja. O extrato hidrossolúvel de soja promove um bom substrato de multiplicação para BAL, uma vez que contém substâncias que favorecem o metabolismo das mesmas como a rafinose, estaquiose, aminoácidos e proteínas, que agem como prébióticos (Omogbai; Ikenebomeh; Ojeaburu, 2005). A bebida láctea fermentada produzida apresentou características de pH, acidez e multiplicação bacteriana semelhantes aos leites fermentados sem adição de extratos, e sendo bem aceito sensorialmente pelos consumidores.

Já Klajn *et al.* (2021), desenvolveram uma bebida láctea fermentada com a adição de extrato hidrossolúvel de aveia utilizando culturas iniciadoras (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*) e a cepa com potencial probiótico *Lacticaseibacillus casei* LAFTI L26. A adição do extrato hidrossolúvel de aveia promoveu diferenças nos compostos bioativos e no potencial antioxidante durante a vida útil do produto. Além disso, a viabilidade da cepa probiótica *L. casei* LAFTI L26 foi mantida acima de 7 log UFC/mL durante 21 dias de armazenamento refrigerado.

1.4.1 Extrato Vegetal na Formulação de Bebida Láctea - Aveia

A aveia (*Avena sativa* L.) é um cereal, predominantemente, cultivado na Europa e na América do Norte, pois as condições climáticas dessas regiões favorecem seu crescimento (Majumdar *et al.*, 2024). Segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), em 2023, a área plantada com culturas de aveia foi de 520,1 mil hectares sendo 350 mil hectares localizados no Rio Grande do Sul e a produtividade nacional alcançou 984,1 mil toneladas (Brasil, 2024). Tradicionalmente, a aveia tem sido utilizada principalmente como ração animal, mas o consumo humano de aveia está em ascensão devido aos vários benefícios à saúde, comprovados a longo prazo (Clemens; Van Klinken, 2014).

A aveia é classificada como um grão integral e é particularmente rica em β -glucanas (fibra solúvel), lipídios, proteínas, vitaminas A, E, e do complexo B, minerais como potássio, cálcio, magnésio, fósforo, manganês, ferro, zinco e cobre, além de ser uma fonte única de polifenóis como as avenantramidas (Singh; De; Belkheir, 2013).

As β -glucanas são fibras dietéticas solúveis em água presentes na aveia, sendo considerada uma das fibras mais importantes desse cereal, sendo um polissacarídeo funcional naturalmente encontrado nas paredes celulares do endosperma e da camada aleurona do grão de aveia. A fibra é formada por ligações β (1 \rightarrow 3) e β (1 \rightarrow 4), que constituem uma estrutura linear (Tang *et al.*, 2022). Além disso, as β -glucanas demonstraram atividades prebióticas, afetando positivamente a microbiota intestinal, pois essas fibras atuam como substratos para microrganismos e, quando comparada a outros cereais, a aveia apresenta a maior quantidade de fibras digestíveis (Den Besten *et al.*, 2013; Ziarno; Cichońska, 2021).

Entretanto, é importante conhecer os efeitos de diferentes métodos de processamento sobre os componentes bioativos da aveia. Por exemplo, após o tratamento térmico da aveia, 38 componentes da aveia sofrem alterações, incluindo a degradação de polissacarídeos e o aumento nos níveis de açúcares redutores (Tang *et al.*, 2022). A transformação da aveia *in natura* em produtos palatáveis que oferecem benefícios à saúde dos consumidores, é fundamental. Alterações no cultivo da aveia e melhorias nas tecnologias alimentares que preservam os atributos saudáveis da aveia e ampliam suas aplicações nos sistemas alimentares, são fatores importantes para expandir essas aplicações e os potenciais benefícios à saúde (Decker; Rose; Stewart, 2014).

Entre as bebidas produzidas à base de cereais, como aveia e arroz, os consumidores demonstram preferência por bebidas à base de aveia em função da mesma apresentar um retrogosto adocicado e delicado (Jaeger *et al.*, 2024), apesar de não conter quantidades significativas de sacarose, frutose e glicose, sendo majoritariamente composta por amido e maltose (Ziarno; Cichońska, 2021).

A partir da aveia, a produção do extrato inclui algumas etapas, como a moagem a seco ou a úmido. A indústria apresenta uma preferência pelo método de moagem a úmido, uma vez que, é mais efetiva por liberar componentes nutricionais que estão localizados no endosperma do grão de aveia, especialmente as proteínas e as β -glucanas (Triantafyllou, 2014). Os resíduos sólidos são removidos por centrifugação ou decantação, porém, alguns componentes como as

fibras e proteínas podem ser perdidos nessa etapa, se a moagem não for realizada de forma eficiente nas fases iniciais do processo (Kwok *et al.*, 2024).

Khider *et al.*, (2022), produziram uma bebida fermentada à base de leite de búfala com adição de farinha de aveia utilizando como bactérias fermentadoras *L. casei* e *L. paracasei*. O estudo mostrou que a contagem das BAL probióticas foi maior nas bebidas adicionadas de aveia do que no controle (sem adição de aveia), assim as bebidas que continham maior concentração de aveia obtiveram os melhores resultados para viabilidade das BAL probióticas ao longo de 35 dias de armazenamento, mostrando que a aveia, por ser uma boa fonte de carboidratos não-digeríveis, age como prebiótico estimulando a multiplicação de *Lactobacillus* no produto.

Quanto a produção de EPS, Mårtensson, Öste e Holst (2000), produziram uma bebida fermentada à base de aveia suplementada com glicose utilizando *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772, observaram que a máxima produção de EPS ocorreu a 30 °C após 24 h de fermentação, porém, quando esse tempo foi ampliado para 72 h, a temperatura ótima de produção foi de 25 °C, o que mostra que a produção de EPS para esta cepa não ocorre na temperatura ótima de multiplicação (30 – 37 °C), mas sim em temperaturas mais baixas.

Diante do exposto, bebidas lácteas fermentadas com adição de aveia se mostram um potencial substrato tanto para manutenção da viabilidade das BAL como um alimento funcional para os consumidores sendo rica em β -glucanas e nutrientes bioativos.

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a produção de EPS por *Leuconostoc mesenteroides* KLM6 em bebida láctea fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia contendo o biopolímero e caracterizar o produto quanto as propriedades funcionais, microbiológicas, físico-químicas, reológicas e sensoriais, durante o armazenamento em refrigeração.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar a presença de genes de virulência e propriedades probióticas do isolado de BAL produtor de EPS;

Elaborar uma bebida láctea fermentada por BAL com potencial probiótico e produção de EPS, com extrato hidrossolúvel de aveia;

Determinar a melhor temperatura de fermentação para produção de EPS em bebida láctea com extrato hidrossolúvel de aveia fermentada pelo isolado produtor de EPS *Leuconostoc mesenteroides* KLM6, da cultura iniciadora *Streptococcus thermophilus*, e da combinação das culturas.

Quantificar a produção de EPS em uma bebida láctea fermentada contendo extrato hidrossolúvel de aveia;

Avaliar os parâmetros microbiológicos, as propriedades físico-químicas e reológicas da bebida láctea fermentada, contendo extrato hidrossolúvel de aveia;

Avaliar a viabilidade da bactéria probiótica durante o armazenamento do produto e nas condições do trato gastrointestinal (TGI) simuladas;

Avaliar sensorialmente (por teste de comparação pareada por painelistas e de aceitação por consumidores) a bebida láctea contendo extrato hidrossolúvel de aveia produzida com BAL produtora de EPS.

3 Hipótese

Existem bactérias ácido-láticas com potencial probiótico e que são capazes de sintetizar exopolissacarídeos em produtos com constituintes lácteos e não lácteos.

É possível elaborar uma bebida láctea fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia que apresente potencial probiótico e boa aceitação sensorial.

Capítulo II – Manuscrito

Produção e caracterização tecnológica de exopolissacarídeos produzidos por bactérias ácido-láticas em uma bebida láctea fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia

International Journal of Food Microbiology

ISSN 0168-1605

Fator de Impacto: 5.0

Qualis A1

Resumo

O objetivo do estudo foi avaliar a produção de exopolissacarídeos (EPS) por *Leuconostoc mesenteroides* KLM6 e potencial tecnológico em bebida láctea fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia (FDBO). A bactéria foi previamente selecionada por demonstrar ser segura e apresentar potencial probiótico. A produção de EPS foi avaliada em diferentes temperaturas de fermentação e em combinação com *Streptococcus thermophilus* TA40. Os melhores resultados de EPS foram obtidos a 38 °C e 50 °C, evidenciando a influência positiva da aveia. A FDBO apresentou boa estabilidade durante 28 dias de armazenamento refrigerado, com valores adequados de pH, acidez, baixa sinérese, boa capacidade de retenção de água e viabilidade de KLM6 > 6 log UFC/mL. Ademais, FDBO demonstrou alta atividade antioxidante, parâmetros microbiológicos satisfatórios e boa aceitação sensorial. Conclui-se que *L. mesenteroides* KLM6 é produtor de EPS e o biopolímero tem potencial tecnológico para produção de alimentos funcionais fermentados, em matriz láctea combinada com extrato de aveia.

Palavras-chave: extrato vegetal, alimento funcional, fermentação, *Leuconostoc mesenteroides*, espessante, viabilidade

1 Introdução

As bactérias ácido-láticas (BAL) têm sido amplamente utilizadas como culturas iniciadoras e/ou adjuntas na produção de alimentos. Esse amplo uso está relacionado à sua capacidade de aumentar a vida útil dos alimentos, por meio da redução do pH durante a fermentação, produção de compostos antimicrobianos, metabólitos que conferem

características sensoriais, como sabor, aroma e textura aos produtos (Freire *et al.*, 2021) e potencial probiótico que beneficia a saúde da população (FAO/WHO, 2006).

Além de desempenharem funções tecnológicas relevantes, algumas BAL são capazes de produzir polissacarídeos extracelulares, denominados exopolissacarídeos (EPS). Esses compostos, formados por longas cadeias de carboidratos com elevada massa molecular, apresentam variabilidade em sua composição e propriedades físico-químicas, o que influencia diretamente suas aplicações na indústria alimentícia (Ruas-Madiedo *et al.*, 2009). Os EPS têm despertado interesse crescente, especialmente em produtos lácteos, por contribuírem para a textura, viscosidade e estabilidade de emulsões, podendo atuar como espessantes e emulsificantes naturais (Lynch *et al.*, 2018). Além do melhoramento das características sensoriais, os EPS também apresentam função pós-biótica, sendo um metabólito produzido durante a fermentação que promove benefícios à saúde do consumidor em alimentos funcionais (Sørensen *et al.*, 2022).

Nos últimos anos, tem-se observado uma crescente demanda por produtos inovadores que associem alimentos fermentados a ingredientes vegetais, como frutas e cereais (Klajn *et al.*, 2021). Dentre os extratos vegetais comumente utilizados, a aveia destaca-se por seu valor nutricional e presença de compostos bioativos, podendo enriquecer bebidas lácteas fermentadas e agregar benefícios à saúde (Abdelshafy *et al.*, 2024).

Paralelamente, a aplicação de microrganismos probióticos em alimentos fermentados vem continuamente sendo explorada, considerando os benefícios associados à saúde humana, como a melhora da digestão, redução dos níveis de colesterol, aumento da tolerância à lactose, equilíbrio da microbiota intestinal, fortalecimento da barreira intestinal e estimulação da resposta imune (Khare *et al.*, 2020). Para que uma cepa seja considerada probiótica, é necessário que ela apresente resistência às condições adversas do trato gastrointestinal e capacidade de colonizar o intestino (FAO/WHO, 2006). Entre os gêneros de BAL mais utilizados na indústria alimentícia destacam-se *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Lactococcus* e *Leuconostoc* (Das *et al.*, 2022).

Nesse contexto, torna-se relevante a investigação de novas cepas de BAL produtoras de EPS com potencial probiótico, isoladas de diferentes matrizes alimentares, visando sua aplicação em alimentos inovadores. Portanto, o presente estudo tem como objetivo avaliar a produção de exopolissacarídeos por *Leuconostoc mesenteroides* KLM6 em bebida láctea

fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia e o efeito do biopolímero nas propriedades funcionais, microbiológicas, físico-químicas, reológicas e sensoriais durante o armazenamento refrigerado.

2 Material e Métodos

2.1 Bactérias

Os oito isolados de BAL, provenientes de kefir, que fazem parte da coleção de culturas iniciadoras e probióticas do Laboratório de Microbiologia de Alimentos/Universidade Federal de Pelotas/Brasil e foram previamente avaliados para segurança fenotípica e identificados molecularmente pela análise do gene 16s rDNA em estudo anterior realizado pelo grupo de pesquisa, conforme apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Identificação molecular dos isolados de bactérias ácido-láticas provenientes de kefir

Isolados	Gênero e espécie	Percentual de Similaridade	Código de acesso GenBank
KPP1	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	89,10%	NC_008525.1
KLM1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	97,20%	NZ_CP028251.1
KLM2	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	96,76%	NZ_CP028251.1
KLM3	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	97,67%	NZ_CP028251.1
KLM4	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	97,67%	NZ_CP028251.1
KLM5	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	97,67%	NZ_CP028251.1
KLM6	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	97,21%	NZ_CP028251.1
KLM7	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	97,66%	NZ_CP028251.1

2.2 Detecção de Genes de Virulência e Resistência

O DNA dos isolados foi extraído pelo kit Bacteria DNA Preparation Kit (Cellco, Brasil). Foram testados os genes *hly* (β -hemólise), *vanA* (resistência à vancomicina) e *asa* (substância de agregação). A sequência dos primers e condições da PCR são descritos na Tabela 4. Os produtos das PCR foram analisados por eletroforese em géis de agarose 1,5%.

Tabela 4 - Primers e condições de PCR para genes *hly*, *vanA* e *asa*.

Primer	Sequência (5'-3')	Condições PCR	Referência
<i>hly</i> F	GTGCACTTACTGACAATAGTGC	D: 95 °C/5 min;	Da Costa <i>et al.</i> , (2021)
<i>hly</i> R	GTTGATGAGTAGCTACCTTCAGT	35 x	
		(D: 95 °C/1 min;	
		A: 56 °C/1 min;	
		E: 68 °C/1 min);	

<i>vanA</i> F	GGGAAAACGACAATTGC	E: 68 °C/5 min	
<i>vanA</i> R	GTACAATGCGGCCGTTA	D: 92 °C/2 min;	Da Costa <i>et al.</i> , (2021)
		35 x	
		(D: 92 °C/30 s;	
		A: 48 °C/1 min;	
		E: 72 °C/1 min);	
<i>asa</i> F	GATACAAAGCCAATGTGGTTCCT	E: 72 °C/5 min	
<i>asa</i> R	TAAAGAGTCGCCACGTTTCACA	D: 92 °C/2 min;	Pieniz <i>et al.</i> , (2015)
		35 x	
		(D: 92 °C/30 s;	
		A: 48 °C/1 min	
		E: 72 °C/1 min);	
		E: 72 °C/5 min	

Controles positivos: *hly* (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923); *vanA* (*Streptococcus mutans* ATCC 700610); *asa* (*Enterococcus faecalis* ID 2389). Controles negativos: *hly* (*Enterococcus faecium* EO1); *vanA* (*Enterococcus faecium* EO1); *asa* (*Enterococcus durans* LAB18s).

2.3 Testes de Potencial Probiótico

2.3.1 Autoagregação, Coagregação e Hidrofobicidade

A capacidade de autoagregação e coagregação seguiram a metodologia de Collado, Meriluoto e Salminen (2008) e os resultados expressos em percentual a partir de leitura em espectrofotômetro a 600 nm. As leituras para autoagregação foram realizadas nos tempos 0 h, 2 h, 20 h e 24 h, enquanto as leituras para coagregação foram realizadas nos tempos 0 h, 2 h, 4 h e 24 h. *Escherichia coli* ATCC 8739 foi utilizado no teste de coagregação. A hidrofobicidade foi avaliada segundo Vinderola e Reinheimer (2003) e os resultados expressos em percentual de adesão após leituras nos tempos 0 h e 2 h em espectrofotômetro a 600 nm. Todas as leituras foram realizadas em duplicata.

2.3.2 Resistência a Sais Biliares

O teste de resistência a sais biliares foi conduzido segundo Vinderola e Reinheimer (2003), com modificações. Um volume correspondente a 1% dos caldos dos isolados, previamente reativados, foram homogeneizados com caldos contendo 0,02%, 0,11% e 0,2% de sais biliares (Sigma-Aldrich®, Alemanha) e incubados em tubos a 37 °C por 24 h e 48 h. A resistência foi avaliada a partir das leituras realizadas em espectrofotômetro (EZ Read 400 Biochrom, Estados Unidos da América), em triplicata, em comprimento de onda de 560 nm e os resultados expressos em UFC/mL.

2.4 Produção e Quantificação de Exopolissacarídeos *in vitro*

O isolado *L. mesenteroides* KLM6 já havia demonstrado capacidade de produção de EPS em estudos anteriores (dados não publicados) e, ao mesmo tempo, também apresentou bons resultados para os testes de potencial probiótico. Desse modo, o isolado selecionado *L. mesenteroides* KLM6 foi avaliado quanto a sua produção de EPS em caldo MRS (De Man, Rogosa and Sharpe) (Kasvi®, Índia) seguindo as metodologias propostas por Ali *et al.* (2020), Lima *et al.* (2008) e Bengoa *et al.* (2023), com modificações. Após reativação em 5 mL de caldo MRS e incubado a 37 °C por 24 h, o isolado foi transferido progressivamente para 10 e 100 mL. No volume de 100 mL, foram utilizados os parâmetros de multiplicação propostos em estudos anteriores (dados não publicados) de 50,5 °C por 24 h em agitação em shaker a 100 rpm. Foram recolhidos 12 mL do cultivo e submetidos em banho-maria (100 °C/30 min), para inativação das enzimas. Na sequência foram centrifugados a 5.000 g/4 °C/20 min e o sobrenadante recuperado onde foram adicionados 2 mL de ácido tricloroacético. Os tubos foram mantidos em repouso a 4 °C por 1 h e centrifugados a 7.000 g/20 °C/35 min, o sobrenadante recuperado e adicionado 2 volumes de etanol P.A (Dinâmica, Brasil) e levado a repouso a 4 °C por 24 h. Os tubos foram centrifugados a 7.000 × g/4 °C/35 min e o *pellet* ressuscitado em 10 mL de água destilada. O volume foi levado a etapa de diálise em membrana 3500 kDa (Serva®, Alemanha) onde permaneceu sob agitação a 4 °C por 48 h. O conteúdo interno na membrana foi quantificado pelo método de Dubois *et al.* (1956), onde 1 mL do conteúdo foi homogeneizado com 0,5 mL de fenol 5% (Dinâmica, Brasil) e 2,5 mL de ácido sulfúrico 95% (Êxodo Científica, Brasil) e mantido em repouso a 20 °C por 10 min. Os tubos foram agitados por 30 s em vórtex (Kasvi, K40-1020, Brasil) e levados a banho-maria (25 °C/20 min). As leituras foram realizadas em triplicata em espectrofotômetro de placas a 490 nm e os resultados obtidos foram analisados a partir da curva-padrão de glicose.

2.5 Produção e Quantificação de Exopolissacarídeos em Bebida Láctea Fermentada com Extrato Hidrossolúvel de Aveia

A produção da bebida láctea fermentada com extrato de aveia (FDBO) seguiu a formulação proposta por Klajn *et al.* (2021), com modificações. Para produção do extrato hidrossolúvel de aveia, 500 g de farelo de aveia (Mundo Integral, Brasil) foram deixados em imersão em 750 mL de água por 1 h. Após o período, o farelo foi lavado com água, a fim de remover o amido em excesso, até que um resíduo límpido fosse obtido, levados ao processador de alimentos, por 2 minutos com 750 mL de água gelada (~8 °C). O material processado foi

coado em tecido *voil*. O extrato hidrossolúvel de aveia foi mantido sob refrigeração a 8 °C, até ser incorporado na bebida láctea.

A formulação da bebida láctea foi produzida com 36% de leite em pó integral reconstituído (12,5% em água) (Piracanjuba®, Brasil), 27% de soro de leite reconstituído (8,3% em água) (BRF®, Brasil), 27% do extrato hidrossolúvel de aveia preparado anteriormente, 9% de sacarose (Caravelas®, Brasil) e submetida ao tratamento térmico a 90 °C por 5 min.

A temperatura da mistura foi reduzida até a temperatura correspondente ao tratamento (Tabela 5) e 0,03% ($11,40 \pm 0,12$ log UFC/mL) da cultura iniciadora *Streptococcus thermophilus* TA40 (Danisco/Brasil) e 1% ($11,01 \pm 0,03$ log UFC/mL) da cultura produtora de EPS *Leuconostoc mesenteroides* KLM6, foram adicionados.

Para quantificação de EPS na bebida láctea fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia (FDBO), foi utilizada a metodologia descrita no item 2.4. Foi preparada uma bebida láctea fermentada controle (sem extrato de aveia) com 55% de soro de leite em pó reconstituído, 36% de leite em pó reconstituído, e 9% de sacarose. A mesma quantidade de 0,03% da cultura iniciadora *Streptococcus thermophilus* TA40 Danisco e 1% da cultura produtora de EPS *Leuconostoc mesenteroides* KLM6, foram adicionados e a bebida foi fermentada a 38 °C.

Ao total, foram produzidos 9 tratamentos, com culturas individuais de *S. thermophilus* TA40 e *L. mesenteroides* KLM6 e combinação das mesmas três temperaturas de fermentação: T1 (38 °C), T2 (42 °C) e T3 (50 °C), como demonstrado na Tabela 5.

Tabela 5 - Tratamentos de bebida láctea fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia (B1 – B9) com temperaturas de fermentação T1 (38° C), T2 (42 °C) e T3 (50 °C) e a adição das culturas bacterianas *Streptococcus thermophilus* TA40 e *Leuconostoc mesenteroides* KLM6.

Bactérias	Tratamentos		
	T1(38 °C)	T2 (42 °C)	T3 (50 °C)
<i>S. thermophilus</i> TA40 (0,03 %)	B1	B2	B3
<i>L. mesenteroides</i> KLM6 (1 %)	B4	B5	B6
<i>S. thermophilus</i> (0,03 %) + <i>L. mesenteroides</i> KLM6 (1 %)	B7	B8	B9

Para todos os tratamentos a fermentação foi interrompida ao atingir pH 4,5-4,6, após aproximadamente 6 h, e levados ao armazenamento refrigerado. O tratamento que apresentou a maior quantificação de EPS seguiu para caracterização do produto.

2.5.1 Caracterização Físico-Química da Bebida Láctea Fermentada com Extrato Hidrossolúvel de Aveia

Análises Físico-Químicas

A composição centesimal da FDBO foi determinada no 14º dia de armazenamento refrigerado de acordo com os métodos oficiais da AOAC (Official Methods of Analysis of AOAC International, 2023), com análises de proteínas (Método 991.20), lipídios (Método 920.39), fibras (Método 973.18), umidade (Método 925.10), cinzas (Método 923.03) e carboidratos sendo calculado pela Equação (1) e os resultados expressos em g/100g.

$$\text{Carboidratos} \left(\frac{g}{100g} \right) = 100 - \left(\text{Proteínas} \left(\frac{g}{100g} \right) + \text{Lipídios} \left(\frac{g}{100g} \right) + \text{Fibras} \left(\frac{g}{100g} \right) + \text{Umidade} \left(\frac{g}{100g} \right) + \text{Cinzas} \left(\frac{g}{100g} \right) \right) \quad (1)$$

A determinação do pH foi realizada em pHmetro (Digimed®, Brasil) e a acidez titulável total expressa em % de ácido láctico em conformidade com o Método 947.05 do Official Methods of Analysis of AOAC (2023). As análises de pH e acidez titulável total foram realizadas nos tempos 0, 7, 14, 21 e 28.

2.5.2 Análises reológicas

Capacidade de retenção de água, sinérese e reologia

A capacidade de retenção de água (CRA) foi determinada pesando 5 g de FDBO e levando a centrifugação a 8.000 g, por 15 min a 4 °C (Isanga; Zhang, 2009). O soro removido foi pesado e CRA calculado pela Equação (2):

$$CRA (\%) = \left(1 - \frac{m_{\text{soro}}}{m_{\text{FDBO}}} \right) \times 100\% \quad (2)$$

Sendo, m_{soro} a massa de soro (g) obtida após a centrifugação e m_{FDBO} a massa (g) de FDBO antes da centrifugação.

A sinérese foi medida drenando 50 mL de FDBO por 6 h em filtro de papel (Isanga; Zhang, 2009). O soro removido, medido e aplicado na Equação (3):

$$\text{Sinérese} (\%) = \frac{v_{\text{soro}}}{v_{\text{FDBO}}} \times 100\% \quad (3)$$

Sendo, v_{soro} , o volume de soro (mL) após 6 h de drenagem e v_{FDBO} o volume de FDBO antes da drenagem.

As soluções foram analisadas por ensaio rotacional em reômetro (Haake® RheoStress 600, modelo RS150, EUA). A viscosidade foi determinada a partir de curvas de tensão de cisalhamento versus taxa de deformação a 10,6 °C, usando geometria de cone e placa (sensor C60/2° Ti; 0,105 mm de intervalo) e taxas de cisalhamento de 1,5 a 51 s⁻¹ por 50 s (Isanga; Zhang, 2009). Aplicou-se ajuste de curva de acordo com modelo matemático de *Ostwald de Waele* para determinar os parâmetros reológicos índice de consistência (K) e índice de fluxo (η).

2.5.3 Capacidade antioxidante

Para determinação de capacidade antioxidante, 25 µL de FDBO foi adicionado em um poço de uma placa de 96 poços juntamente com 250 µL de DPPH 0,6 mM. A placa foi agitada levemente e mantida no escuro por 30 min em temperatura ambiente. As leituras foram realizadas a 515 nm e os resultados expressos em % de inibição do radical DPPH (Vinholes *et al.*, 2011).

2.5.4 Análises Microbiológicas

2.5.4.1 Viabilidade de *Leuconostoc mesenteroides* KLM6 e *Streptococcus thermophilus* TA40 ao longo do armazenamento refrigerado.

A viabilidade de *L. mesenteroides* KLM6 foi determinada conforme APHA, (2002). Ágar MRS foi suplementado com 0,02% de sais biliares (Sigma-Aldrich®, USA. As placas foram incubadas nas condições de 37 °C, 72 h em anaerobiose. A viabilidade de *S. thermophilus* TA40 foi avaliada seguindo a metodologia de Dave & Shah (1996), com modificações. O meio ST foi preparado contendo 10 g/L de triptona, 10 g/L de lactose, 5 g/L de extrato de levedura e 2 g/L de KH₂PO₄. O pH foi ajustado a 6,8 com NaOH 0,1 M e adicionados 6 mL/L de solução de púrpura de bromocresol 0,5% e 15 g/L de ágar-ágar. As placas foram incubadas a 37 °C por 48 h em anaerobiose. A viabilidade de ambos os microrganismos foi avaliada nos dias 0, 7, 14, 21 e 28 de armazenamento refrigerado e seus resultados expressos em UFC/mL.

2.5.4.2 Simulação do trato gastrointestinal

A sobrevivência de *L. mesenteroides* KLM6 ao trato gastrointestinal simulado contínuo (TGI) seguiu o protocolo de Madureira *et al.*, (2011), com modificações (Massaut *et al.*, 2024). A FDBO foi exposta às quatro fases do trato gastrointestinal simulado (AG – antes do gástrico; DG – depois do gástrico; D – duodeno e I – Íleo). Na fase AG, as amostras (10g) foram homogeneizadas em 90 mL de solução salina 0,85% (Êxodo Científica®, Brasil) acidificada (pH 2,0-2,5) com HCl 1M (Synth®, Brasil) por 30 s. Na fase DG, 4,5 mL de solução enzimática de pepsina (Sigma-Aldrich®, Alemanha) (3 g/L em HCl 1M) foi adicionado e levado a agitação em shaker (Solab®, SL-222E, Brasil) a 37 °C, 130 rpm por 90 min. Para a fase D, foram adicionados 11,8 mL de solução de pancreatina (Sigma-Aldrich®, EUA) (2 g/L em NaHCO₃ (Synth®, Brasil) 0,1M) e 11,8 mL de solução de sais biliares (Sigma-Aldrich®, EUA) (6 g/L em NaHCO₃ 0,1M) e o pH ajustado em 5,0 com NaHCO₃ 0,1M e mantido em agitação a 37 °C, 45 rpm por 20 min. Na fase final, a fase I, o pH foi ajustado para 6,5 e incubado sob agitação a 37 °C, 45 rpm por 90 min. As contagens de células viáveis foram realizadas ao fim de cada fase em MRS Bile (*L. mesenteroides* KLM6) incubadas a 37 °C por 72 h em anaerobiose e ST modificado (*S. thermophilus* TA40) que foram incubadas 37 °C por 48 h em anaerobiose. Os resultados foram expressos em log UFC/mL.

2.5.4.3 Parâmetros Microbiológicos

Considerando o aspecto da segurança de FDBO, foram realizadas análises microbiológicas recomendadas pela Legislação Brasileira na Instrução Normativa 161 de setembro de 2022 (Brasil, 2022) para presença de *Salmonella* spp., e contagens de *Escherichia coli* e bolores e leveduras após 14 dias de armazenamento refrigerado, de acordo com APHA (2002).

2.6 Análise Sensorial

Foram realizados dois métodos para avaliação sensorial, sendo um dos métodos com 12 painelistas que passaram por treinamento prévio, a fim de adquirirem a capacidade de distinguir pequenas diferenças de consistência e viscosidade e, também, um método de aceitabilidade do produto com avaliadores não treinados. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Pelotas e registrado na Plataforma Brasil CAAE (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética) N^o 76600723.8.0000.5317 (Anexo A).

Para o teste de comparação pareada, os painelistas participaram de duas sessões de treinamento com bebidas lácteas de diferentes consistências e viscosidades (ISO 8586, 2023). Após o treinamento, os 12 painelistas, em cabines de análise sensorial foram convidados a avaliar, em um formulário do Google Forms (Apêndice A), FDBO em comparação a bebida láctea comercial, usada como padrão, similar em formulação e sabor (Tirol, Brasil). Foram avaliados os atributos de consistência e viscosidade, utilizando a escala de extremamente melhor (9), muito melhor (8), moderadamente melhor (7), ligeiramente melhor (6), igual ao padrão (5), ligeiramente inferior (4), moderadamente inferior (3), muito inferior (2) e extremamente inferior (1) (ISO 5495, 2005). As análises foram conduzidas em cabines individuais com iluminação vermelha e temperatura da sala a 25 °C, no laboratório de Análise Sensorial da Universidade Federal de Pelotas/Brasil.

No teste de aceitação sensorial os avaliadores (não treinados), em cabines individuais e temperatura da sala a 25 °C, utilizaram a escala hedônica de 9 pontos (gostei muitíssimo (9), gostei muito (8), gostei regularmente (7), gostei ligeiramente (6), indiferente (5), desgostei ligeiramente (4), desgostei regularmente (3), desgostei muito (2) e desgostei muitíssimo (1)) em um formulário do Google Forms (Apêndice B), para avaliar FDBO nos atributos de cor, aroma, sabor, textura e aspecto global (ISO 11136, 2014). Os mesmos avaliadores também expressaram sua avaliação quanto a intenção de compra (compraria sempre (7), compraria muito frequentemente (6), compraria frequentemente (5), compraria ocasionalmente (4), compraria raramente (3), compraria muito raramente (2) e nunca compraria (1)).

2.7 Análise Estatística

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) com variância significativa ($p < 0,05$) e teste de Tukey. Os efeitos do tempo na simulação do trato gastrointestinal, viabilidade da bactéria probiótica, acidez titulável e pH foram avaliados em modelos de regressão. Os resultados da análise sensorial com avaliadores treinados foram submetidos a análise de variância seguida de teste de Dunnet.

3 Resultados e Discussão

3.1 Detecção de Genes de Virulência e Resistência

Os genes de virulência responsáveis pela produção de hemolisinas (*hly*) e substância de agregação (*asa*), não estavam presentes em nenhum dos oito isolados testados, assim como

também não apresentaram resultado positivo para o gene de resistência *vanA*. O estudo de Pieniz *et al.*, (2015), também não indicou a presença dos genes *vanA* e *asa* na espécie de BAL *Enterococcus durans* LAB18s, certificando a segurança para aplicação em alimentos. Moghimi, Dana e Shapouri, (2021) isolaram Lactobacilli de iogurte tradicional do Irã e, dos 24 isolados, sete apresentaram resultado positivo para o gene *vanA*. Da Costa *et al.*, (2021) também não indentificaram o gene de virulência *hly* em *Enterococcus faecium* isolados de carcaças de carneiro.

3.2 Testes de Potencial Probiótico

Na Tabela 6 é possível observar o comportamento dos isolados de kefir frente aos testes de potencial probiótico de autoagregação, coagregação e hidrofobicidade.

Tabela 6 - Autoagregação, Coagregação e Hidrofobicidade dos isolados de kefir

	Autoagregação (%)			Coagregação (%)			Hidrofobicidade (%)
	2 h	20 h	24 h	2 h	4 h	24 h	2 h
KLM1	8,0±0,02% ^a	8,0±0,01% ^a	9,6±0,01% ^b	21,43±0,05% ^a	37,14±0,1% ^b	56,67±0,01% ^c	44,42±0,02%
KLM2	47,06±0,00% ^a	47,90±0,01% ^b	24,37±0,01% ^c	16,18±0,03% ^a	53,22±0,01% ^b	62,18±0,02% ^c	10,35±0,01%
KLM3	14,81±0,02% ^a	13,33±0,04% ^b	16,30±0,03% ^c	38,81±0,03% ^a	43,84±0,06% ^b	55,71±0,01% ^c	56,08±0,03%
KLM4	7,81±0,03% ^a	25±0,03% ^b	25,78±0,03% ^c	53,62±0,01% ^a	52,77±0,02% ^b	60,00±0,07% ^c	36,5±0,00%
KLM5	25,40±0,01% ^a	26,98±0,07% ^b	30,95±0,06% ^c	39,71±0,01% ^a	43,14±0,03% ^b	45,59±0,01% ^c	23,78±0,03%
KLM6	30,30±0,02% ^a	47,73±0,02% ^b	54,55±0,01% ^c	54,10±0,1% ^a	54,51±0,02% ^b	62,70±0,05% ^c	28,75±0,02%
KLM7	22,83±0,03% ^a	21,65±0,06% ^b	20,47±0,33% ^c	37,31±0,02% ^a	17,91±0,25% ^b	65,30±0,03% ^c	43,61±0,01%
KPP1	48,67±0,07% ^a	58±0,02% ^b	57,33±0,01% ^c	65,07±0,01% ^a	65,81±0,02% ^b	69,85±0,1% ^c	18,37±0,02%

Valores expressos em média e desvio padrão.

Letras minúsculas diferentes na mesma linha para o mesmo teste indicam diferença significativa.

Em relação a autoagregação, é possível observar uma variação significativa entre os isolados ao longo do tempo. O isolado KPP1 apresentou os maiores valores em todos os tempos, atingindo 58±0,02% após 20 h e se mantendo elevado em 24 h (57,33±0,01%). O isolado KLM6 também mostrou essa capacidade crescente de autoagregação, partindo de 30,30±0,02% em 2 h para 54,55±0,01% após 24 h de incubação. Por outro lado, os isolados KLM1 (2 h: 8,0±0,02%; 20 h: 8,0±0,01%) e KLM4 (2 h: 7,81±0,03%; 20 h: 25,0±0,03%) apresentaram baixos índices de autoagregação nas primeiras horas apesar da recuperação (25,78±0,03%) de KLM4 após 24 h e KLM1 mantendo baixa autoagregação (9,60±0,01%).

A autoagregação é uma habilidade essencial aos microrganismos probióticos e é definida como a capacidade de colonização da superfície da mucosa intestinal e, consequentemente, promover a função probiótica (Luan *et al.*, 2022). Em estudo de Petrović *et al.*, (2021) que isolaram BAL de presunto de ovelha, os isolados de *L. mesenteroides* Ios11,

Ilos4i e IIlos4 apresentaram autoagregação ($50,5\pm5\%$, $65,2\pm3\%$ e $63,8\pm5\%$, respectivamente) semelhantes as encontradas no presente estudo. Já para Leksono, Purwijantiningih, e Wibisono, (2024), a autoagregação de *L. mesenteroides* K1 atingiu o valor de $98,36\pm1,84\%$, valor bastante expressivo e muito superior aos encontrados neste estudo, para os isolados de kefir.

Quanto a coagregação, todos os isolados apresentaram aumento a coagregação ao patógeno *E. coli* ATCC 8739 ao longo do tempo, com destaque para KPP1 ($69,85\pm0,1\%$ em 24 h), KLM6 ($62,70\pm0,04\%$ em 24 h) e KLM2 ($62,18\pm0,02\%$ em 24 h). A coagregação de *L. mesenteroides* Ios11, Ilos4i e IIlos4 do estudo de Petrović *et al.*, (2021) e *Escherichia coli* ATCC 25922 alcançou, após 2 h, valores de $40,2\pm4\%$, $32,5\pm2\%$ e $50,5\pm4$. Para ser considerado potencialmente probiótico, os isolados de BAL devem possuir a capacidade de coagregação a patógenos (Leksono *et al.*, 2024).

Já em relação a hidrofobicidade, os isolados KLM3 ($56,08\pm0,03\%$) e KLM1 ($44,42\pm0,02\%$) apresentaram os maiores valores, seguidos por KLM7 ($43,61\pm0,01\%$) e KLM6 ($28,75\pm0,02\%$). Por outro lado, o isolado KLM2 apresentou baixa hidrofobicidade ($10,35\pm0,01\%$), o que pode limitar seu uso como potencial cepa probiótica em alimentos. A hidrofobicidade, é a capacidade de adesão e interação com as células do trato gastrointestinal (Yehuala *et al.*, 2024). O estudo de Luan *et al.*, 2022, teve a cepa de *L. mesenteroides* LBVH107 apresentando uma hidrofobicidade ao xileno de $18,06\%$, valor considerado baixo quando comparado com os resultados obtidos nesse estudo para os isolados de kefir (exceto KLM2 e KPP1).

A característica de hidrofobicidade é influenciada tanto pela polaridade da membrana quanto pela capacidade de adesão desta à mucosa intestinal (Shahbazi; Nategui; Aghababayan, 2016). Os autores também sugerem que os baixos níveis de hidrofobicidade podem estar relacionados ao tipo de microrganismo e à composição dos ácidos graxos presentes na parede celular bacteriana. As variações nos componentes lipídicos podem interferir na adesão e na fluidez da membrana, além de sofrerem influência dos lipopeptídeos.

Quanto a resistência a sais biliares, na concentração de $0,02\%$ de sais biliares, os valores variaram entre $7,13\pm0,15$ (KLM4, 24 h) e $8,25\pm0,03$ (KLM6, 48 h). O isolado KLM4 apresentou o menor valor médio inicial, com aumento após 48 horas. Por outro lado, os isolados

KLM2, KLM3, KLM5, KLM6 e KPP1 mantiveram valores elevados e relativamente constantes ao longo do tempo, indicando maior estabilidade nessa concentração.

Na concentração de 0,11% de sais biliares, os valores oscilaram de $7,08 \pm 0,04$ (KLM4, 48 h) a $8,21 \pm 0,01$ (KLM6, 48 h). Houve uma leve tendência de redução nos valores médios para a maioria dos isolados em comparação à concentração anterior, embora ainda mantendo estabilidade. Por fim, na concentração de 0,20%, notou-se uma redução mais acentuada nos valores médios, variando entre $7,31 \pm 0,08$ (KLM5, 48 h) e $7,93 \pm 0,01$ (KLM4, 24 h). As linhagens KLM1, KLM5, KLM6, KLM7 e KPP1 apresentaram quedas ao longo do tempo, enquanto a linhagem KLM4 manteve um valor relativamente elevado nas 24 h, seguido de uma leve queda em 48 h. Uma alta tolerância a essas concentrações de sais biliares indica a habilidade dos microrganismos probióticos de colonização no trato intestinal (Schifano *et al.*, 2021). Ahn e Park, (2023) avaliaram a resistência a diferentes concentrações de sais biliares de duas cepas de *L. mesenteroides* isolados de kimchi. Na concentração de 0,1%, os isolados K1501 e K1627 apresentaram viabilidade de $6,58 \pm 0,03$ e $6,78 \pm 0,09$ log UFC/mL, respectivamente, valores similares aos encontrados neste estudo, porém, quando a concentração foi aumentada para 0,3%, os isolados perderam viabilidade e tiveram uma queda para $2,40 \pm 0,09$ e $2,34 \pm 0,04$ log UFC/mL, respectivamente, comportamento não observado para os isolados de kefir, que mantiveram sua viabilidade acima de 7 log UFC/mL mesmo após 48 h de incubação, atestando resistência dos isolados. Os resultados para resistência aos sais biliares podem ser observados na Tabela 7.

Tabela 7 - Valores de resistência a concentrações de sais biliares dos isolados de bactérias ácido-láticas provenientes de kefir.

Bactérias	Concentrações de sais biliares					
	0,02%		0,11%		0,20%	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
KLM1	$7,90 \pm 0,05^a$	$7,88 \pm 0,13^a$	$7,81 \pm 0,08^a$	$7,86 \pm 0,05^a$	$7,61 \pm 0,07^a$	$7,56 \pm 0,04^b$
KLM2	$8,15 \pm 0,06^a$	$8,25 \pm 0,02^b$	$8,16 \pm 0,06^a$	$8,20 \pm 0,02^a$	$7,69 \pm 0,06^a$	$7,67 \pm 0,14^a$
KLM3	$8,16 \pm 0,03^a$	$8,23 \pm 0,03^b$	$8,01 \pm 0,04^a$	$8,09 \pm 0,03^b$	$7,65 \pm 0,11^a$	$7,60 \pm 0,06^a$
KLM4	$7,13 \pm 0,15^a$	$7,62 \pm 0,04^b$	$7,14 \pm 0,09^a$	$7,08 \pm 0,04^a$	$7,93 \pm 0,01^a$	$7,70 \pm 0,08^a$
KLM5	$8,10 \pm 0,08^a$	$8,19 \pm 0,07^a$	$8,09 \pm 0,01^a$	$8,18 \pm 0,06^b$	$7,56 \pm 0,12^a$	$7,31 \pm 0,08^a$
KLM6	$8,16 \pm 0,05^a$	$8,25 \pm 0,03^b$	$8,08 \pm 0,06^a$	$8,21 \pm 0,01^b$	$7,45 \pm 0,02^a$	$7,50 \pm 0,05^b$
KLM7	$7,94 \pm 0,00^a$	$7,94 \pm 0,04^a$	$7,56 \pm 0,03^a$	$7,67 \pm 0,05^a$	$7,41 \pm 0,04^a$	$7,51 \pm 0,01^b$
KPP1	$8,08 \pm 0,07^a$	$8,22 \pm 0,03^a$	$8,08 \pm 0,04^a$	$8,16 \pm 0,06^a$	$7,49 \pm 0,18^a$	$7,50 \pm 0,10^a$

Valores expressos em log UFC/mL.

Valores expressos em média e desvio padrão.

Letras diferentes na mesma linha e mesma concentração indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste t.

3.3 Produção e Quantificação de Exopolissacarídeos *in vitro*

Considerando o bom desempenho nos testes de características probióticas e com capacidade de produção de exopolissacarídeos (EPS) pelo isolado, *Leuconostoc mesenteroides* KLM6 foi selecionado para aplicação em uma bebida láctea fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia.

A produção de exopolissacarídeos em caldo MRS, metabolizado por *L. mesenteroides* KLM6 foi de $37,27 \pm 0,56$ mg/L de EPS. Com o uso de membrana de diálise, o EPS obtido é livre de resíduos de reagentes, sais e moléculas de baixo peso molecular. O estudo de Jurášková *et al.* (2024), encontraram uma produção de $7,4 \pm 0,9$ g/L de EPS por *L. mesenteroides* SJC113 em uma fermentação de caldo MRS suplementado (10% de sacarose) a 30 °C/48 h, enquanto Vijayalakshmi *et al.*, (2024) para *L. mesenteroides* 201607, obtiveram 0,470 g/L em caldo MRS suplementado (20 g/L de sacarose) fermentado a 37 °C/30 h e sem uso de membrana de diálise, valores divergentes aos do presente estudo, mostrando que a produção de EPS além de ser cepa dependente, também sofre influência de temperatura e tempo de fermentação, assim como a composição do substrato.

3.4 Produção e Quantificação de Exopolissacarídeos na Bebida Láctea Fermentada com Extrato Hidrossolúvel de Aveia

A avaliação da concentração de exopolissacarídeos (EPS) nas bebidas lácteas fermentadas em diferentes condições de cultivo, mostrou diferenças significativas entre os tratamentos e temperaturas analisadas (Tabela 8).

Tabela 8 - Produção de exopolissacarídeos em uma bebida láctea fermentada contendo extrato hidrossolúvel de aveia (FDBO) e *S. thermophilus* TA40, *L. mesenteroides* KLM6 e a combinação de bactérias ácido-láticas.

Bactérias	Tratamentos		
	38 °C	42 °C	50 °C
<i>S. thermophilus</i>	$108,17 \pm 1,67^{aB}$	$99,13 \pm 0,69^{bB}$	$131,96 \pm 0,69^{cC}$
<i>L. mesenteroides</i> KLM6	$183,55 \pm 5,41^{aA}$	$97,46 \pm 1,28^{bB}$	$186,89 \pm 1,87^{aA}$
Cultura mista	$175,21 \pm 3,44^{aA}$	$152,54 \pm 3,44^{bA}$	$155,60 \pm 1,87^{bB}$
FDB (sem extrato de aveia)	$4,47 \pm 0,10^C$	N/A	N/A

Valores expressos em mg/L.

Cultura mista – *S. thermophilus* + *L. mesenteroides* KLM6

N/A – Não avaliado

Valores expressos em média±desvio padrão.

Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística significativa entre os resultados

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística entre os resultados.

Na temperatura de 38 °C, a maior produção de EPS foi observada na amostra contendo *L. mesenteroides* KLM6 ($183,55 \pm 5,41$ mg/L), seguida pela amostra com a cultura mista com $175,21 \pm 3,44$ mg/L, enquanto a formulação contendo apenas *S. thermophilus* apresentou produção inferior ($108,17 \pm 1,67$ mg/L). A formulação controle (FDB) sem extrato de aveia exibiu um valor extremamente baixo ($4,47 \pm 0,10$ mg/L), indicando a importância do extrato de aveia como substrato promotor da síntese de EPS.

Na temperatura de 42 °C, a produção de EPS pela cultura mista se manteve relativamente alta ($152,54 \pm 3,44$ mg/L), enquanto os cultivos com *L. mesenteroides* KLM6 e *S. thermophilus* isoladamente apresentaram valores semelhantes e mais baixos ($97,46 \pm 1,28$ e $99,13 \pm 0,69$ mg/L, respectivamente), sugerindo um crescimento simbiótico entre as culturas. Já a 50 °C, *L. mesenteroides* KLM6 voltou a apresentar elevados níveis de EPS ($186,89 \pm 1,87$ mg/L), superando novamente os demais tratamentos. A cultura mista produziu $155,60 \pm 1,87$ mg/L, enquanto *S. thermophilus* apresentou aumento ($131,96 \pm 0,69$ mg/L), em comparação às demais temperaturas.

A produção de EPS por *L. mesenteroides* KLM6 teve um aumento de 5 x em FDBO comparada a produção em caldo MRS a 50,5 °C. Na combinação com *S. thermophilus* houve elevação a 38 °C, indicando que substrato, temperatura e combinação de culturas favorece a síntese de EPS. A bebida controle FDB (sem extrato de aveia) obteve uma concentração de EPS de 4,47 mg/L, um valor baixo que evidencia que, a presença do extrato de aveia promove a produção de EPS, diversamente Tian *et al.*, (2024) ao utilizarem *L. mesenteroides* XR-1 para fermentar soro de leite, obtiveram 12,136 g/L. Valores expressivos de EPS podem ser explicados levando em consideração a composição do meio, temperatura, pH inicial e tempo de fermentação (Wang *et al.*, 2019).

Bisson *et al.* (2024) relataram que EPS produzidos por *L. mesenteroides* atuam como eficazes agentes viscosificantes e gelificantes quando presentes em altas concentrações (>30 mg/L). No entanto, mesmo em concentrações mais baixas (5 mg/mL), EPS ainda mantêm propriedades importantes, como a capacidade de eliminar radicais livres, atividade antimicrobiana e a inibição da formação de biofilme por *Listeria monocytogenes*. Nessas concentrações reduzidas, porém, sua função estruturante — como a formação de géis e aumento de viscosidade — é significativamente diminuída.

Por fim, os resultados obtidos destacam o potencial de *L. mesenteroides* KLM6 na produção de exopolissacarídeos, especialmente em temperaturas de 38 °C e 50 °C e em combinação com *S. thermophilus* TA40, o que pode ser atribuído à sua maior capacidade de adaptação e síntese de biopolímeros sob condições específicas de fermentação. Sendo assim, o tratamento B7 (Tabela 5) foi escolhido para prosseguir nas análises de caracterização. A presença do extrato de aveia também demonstrou papel relevante como fonte de carbono acessível para a produção de EPS.

3.5 Caracterização Físico-Química e Reológica da Bebida Láctea Fermentada com Extrato Hidrossolúvel de Aveia

A análise físico-química da formulação de bebida láctea fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia (FDBO) indicou composição média de umidade de $72,83 \pm 0,05$ g/100 g, teor proteico de $10,60 \pm 0,25$ g/100g, conteúdo de carboidratos de $9,64 \pm 0,69$ g/100 g, lipídios totais de $4,16 \pm 0,04$ g/100 g, cinzas de $2,23 \pm 0,03$ g/100g e fibra bruta correspondente a $0,55 \pm 0,07$ g/100g.

A Portaria DAS/MAPA nº 1.174 (Brasil, 2024), determina que bebidas lácteas fermentadas com adição, devem conter no mínimo 2 g/100 g de matéria gorda de origem láctea, valor que foi superado por FDBO ($4,16 \pm 0,04$ g/100 g) e proteínas de 1,7 g/100g de proteínas de origem láctea, FDBO ($10,60 \pm 0,25$ g/100g) atingiu um valor superior ao indicado na legislação. No entanto, não há uma legislação específica que determine valores mínimos de lipídios e proteínas total para bebidas lácteas fermentadas com adição, o que dificulta a comparação direta com padrões regulatórios. Apesar do alto valor de lipídios, Klajn *et al.*, (2019), determinaram que, para a mesma formulação, a adição de extrato de aveia aumentou significativamente a concentração de ácidos graxos como ácido linoleico, um ácido graxo poli-insaturado que está relacionado positivamente com a resposta imune. A concentração de proteínas ($10,60 \pm 0,25$ g/100g) foi a mais significativa, isso se deve tanto a adição de leite em pó, e soro de leite, como também a adição do extrato de aveia, que é rico em proteínas. Ziarno *et al.*, (2025) produziram e avaliaram as características físico-químicas de uma bebida láctea fermentada com adição de diferentes concentrações de uma bebida de aveia. Na concentração de 25% de adição, os valores de proteínas ($2,54 \pm 0,05\%$), lipídios ($2,64 \pm 0,05\%$) e carboidratos ($5,46 \pm 0,05\%$) e com 33,3% de adição, proteínas ($2,34 \pm 0,05\%$), lipídios ($2,54 \pm 0,05\%$) e carboidratos ($5,66 \pm 0,04\%$), permaneceram menores aos obtidos neste estudo.

Os resultados de pH, acidez total titulável (ATT), sinérese e capacidade de retenção de água de FDBO e bebida controle são apresentados na Tabela 9, ao longo de 28 dias de armazenamento.

Tabela 9 - Caracterização físico-química e reológica da bebida láctea fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia (FDBO) ao longo de 28 dias de armazenamento refrigerado.

Dias	pH		ATT (g/100g)		CRA (g/100 g)		Sinérese (mL/100 mL)	
	FDBO	Controle	FDBO	Controle	FDBO	Controle	FDBO	Controle
0	4,53±0,04 ^{aA}	4,72±0,01 ^{bA}	0,37±0,03 ^{aA}	0,17±0,05 ^{bA}	30,81±2,49 ^{aA}	21,54±0,41 ^{bA}	33,3±0,35 ^{aC}	42,8±0,07 ^{bB}
7	4,48±0,01 ^{aA}	4,69±0,00 ^{bA}	0,43±0,04 ^{aA}	0,18±0,05 ^{bA}	31,23±1,19 ^{aA}	20,95±0,69 ^{bA}	34,3±0,35 ^{aC}	44,8±0,00 ^{bA}
14	4,26±0,03 ^{aB}	4,56±0,01 ^{aB}	0,46±0,05 ^{aA}	0,22±0,06 ^{bA}	32,31±1,12 ^{aA}	18,66±0,25 ^{bB}	40,3±0,35 ^{aB}	35,3±0,00 ^{bC}
21	4,19±0,04 ^{aB}	4,46±0,02 ^{bC}	0,47±0,02 ^{aA}	0,22±0,07 ^{bA}	31,51±0,83 ^{aA}	18,46±0,31 ^{bB}	44,3±0,35 ^{aA}	20,3±0,00 ^{bD}
28	4,11±0,01 ^{aC}	4,33±0,01 ^{bD}	0,46±0,02 ^{aA}	0,25±0,07 ^{bA}	28,30±1,59 ^{aA}	17,12±0,92 ^{bB}	41,3±0,35 ^{aB}	17,3±0,00 ^{bE}

ATT – Acidez total titulável expressa em g de ácido de láctico/100 g

CRA – Capacidade de retenção de água expressa em g de sólidos/100 g

Valores expressos em média±desvio padrão.

Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística significativa entre os resultados.

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa entre os resultados.

O pH é um importante indicador de qualidade do produto, uma vez que a redução do mesmo provoca condições não propícias para o desenvolvimento da microbiota patogênica (Zapaśnik, Sokołowska e Bryła, 2022). O pH inicial de FDBO 4,53±0,04, se manteve estável com leve redução ao longo dos 28 dias, estando em concordância com a acidez titulável total que apresentou aumento proporcional aos valores de pH. Resultado similar ao estudo de Funck *et al.*, (2019) que, com a mesma bebida láctea fermentada, porém usando *Lactobacillus curvatus* P99, no dia 0, o pH de 4,41 reduziu para pH 4,25 ao final de 28 dias. O mesmo ocorreu com a acidez total titulável que não apresentou diferença estatística significativa ao longo do tempo, corroborando com o presente estudo.

No presente estudo, o maior valor de sinérese (Tabela 9) para FDBO ocorreu no dia 21 (44,3±0,35 %), havendo recuperação da capacidade no dia 28. Ziarno *et al.*, (2025) mostraram que, quanto maior a adição de extrato de aveia, maior é a sinérese da bebida sendo que, com 25% de adição, a sinérese foi de aproximadamente 60% após 28 dias de armazenamento, indicando que a estrutura do gel formado pela cultura iniciadora YC-X16 (*S. thermophilus* e *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) é instável e não consegue reter água. Os nossos resultados atestam a funcionalidade tanto de *L. mesenteroides* KLM6 como cepa produtora de

EPS que é capaz de estabilizar a sinérese durante o armazenamento, como também da concentração moderada (27%) de extrato de aveia. A bebida controle apresentou comportamento atípico no teste de sinérese, aumentando a capacidade de retenção de água quando o teste foi realizado utilizando apenas a gravidade, já no teste de capacidade de retenção de água (CRA), que utiliza força centrífuga, a bebida controle teve tendência de diminuição na capacidade de retenção. FDBO também teve diminuição na CRA ao longo do tempo, porém manteve a estabilidade.

Os parâmetros reológicos do índice de consistência para FDBO podem ser observados na Tabela 10, na Figura 5 a viscosidade *versus* taxa de cisalhamento.

Tabela 10 - Parâmetros reológicos, índice de consistência “K” (Pa.sn) e índice de fluxo “ η ” (adm) para bebida fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia (FDBO) ao longo de 28 dias de armazenamento.

Dias	η (adm)		K (Pa.s ⁿ)	
	FDBO	Controle	FDBO	Controle
0	0,435±0,012 ^{aA}	0,389±0,064 ^{aA}	0,872±0,014 ^{aCD}	1,5±0,306 ^{bAB}
7	0,419±0,00 ^{aA}	0,551±0,014 ^{aA}	1,899±0,00 ^{aA}	0,382±0,047 ^{bBD}
14	0,349±0,037 ^{aB}	0,698±0,085 ^{bA}	1,608±0,023 ^{aB}	0,229±0,063 ^{bE}
21	0,325±0,012 ^{aB}	0,724±0,242 ^{bB}	1,947±0,138 ^{aC}	0,218±0,271 ^{bCDE}
28	0,317±0,071 ^{aB}	0,431±0,013 ^{bA}	0,976±0,091 ^{aD}	0,621±0,014 ^{aAC}

Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística significativa entre os resultados $p < (0,05)$.

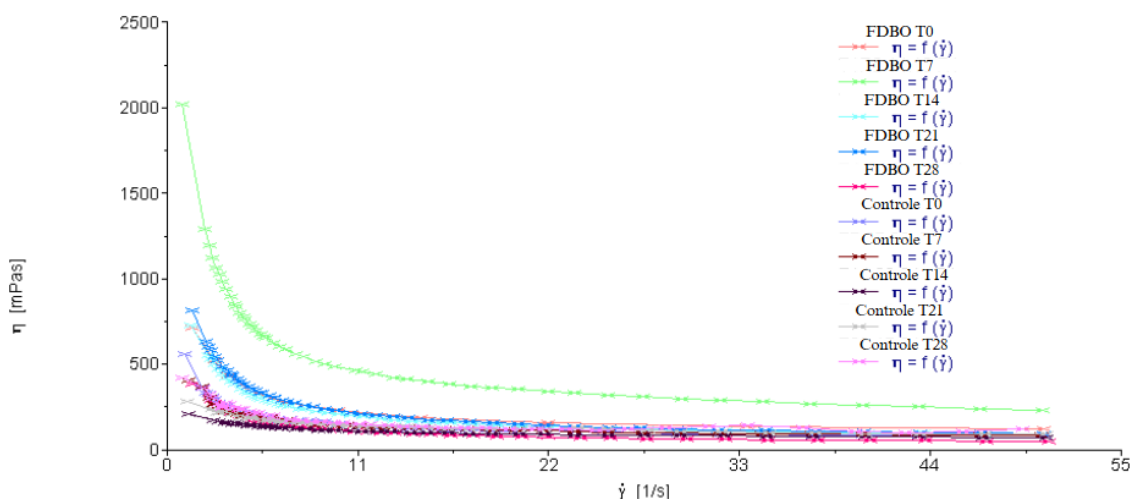
Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa entre os resultados

O valor de K refere-se à viscosidade da solução e, quanto maior o valor, mais viscosa a solução. Já o valor de η quantifica o nível de pseudoplasticidade das soluções, sendo que quanto menor o valor, mais pseudoplástica é a solução (Xun *et al.*, 2016). Os resultados reológicos indicaram diferenças significativas entre a FDBO e o controle ao longo do armazenamento. O índice de fluxo (η) de FDBO permaneceu abaixo do controle nos dias 7, 14, 21 e 28 refletindo comportamento pseudoplástico, sendo mais fluido. Já o controle apresentou valores de η mais elevados e variáveis, chegando a 0,724 no 21º dia, o que indica uma matriz menos fluida. Quanto ao índice de consistência (K), a FDBO exibiu valores aceitáveis, atingindo 1,899 Pa.sⁿ no 7º dia, compatível com maior viscosidade e resistência ao escoamento, atribuída à presença de EPS. Em contraste, o controle apresentou K inferior durante quase todo o período, com redução acentuada até o 21º dia. Esses resultados reforçam o efeito estruturante dos EPS na estabilidade e textura da bebida fermentada com *L. mesenteroides* KLM6. Devnani *et al.*,

(2022) avaliaram a reologia de bebidas fermentadas de amêndoas e, a consistência (K) a 4 e a 37 °C alcançou valores que variaram de 22 a 59 Pa.sⁿ enquanto a pseudoplasticidade (η) variou entre 0,2 e 0,3 adm. Os valores de η do presente estudo apresentou valores similares (0,317-0,435 adm) ao estudo de Devnani *et al.*, (2022) divergindo no valor de K.

Na Figura 5 é possível observar que todas as formulações apresentaram comportamento pseudoplástico, com redução da viscosidade aparente à medida que a taxa de cisalhamento aumentou. No entanto, as bebidas fermentadas com *Leuconostoc mesenteroides* (FDBO) mostraram viscosidade maior em comparação ao controle, especialmente em baixas taxas de cisalhamento. Esse comportamento evidencia o papel dos EPS produzidos por *L. mesenteroides* na estruturação da matriz, conferindo maior resistência ao escoamento e contribuindo para uma textura mais consistente e estável ao produto final. Wang *et al.* (2023), avaliaram um iogurte com culturas iniciadoras e *L. mesenteroides* XR1, e após 21 dias de armazenamento, apresentou aumento da viscosidade aparente quando a taxa de cisalhamento foi baixa (0 – 10 s⁻¹), em relação ao controle, produzido apenas com culturas iniciadoras (*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *S. thermophilus*).

Figura 5 - Curva de viscosidade (mPas) x taxa de cisalhamento (s⁻¹) de FDBO na temperatura de 10,6 °C.



A capacidade de inibição do radical DPPH foi de 73,1±0,02% para FDBO e 49,6±0,06% para o controle. Os resultados apresentam diferença significativa, atestando a capacidade antioxidante da FDBO. O valor de inibição do radical DPPH em FDBO se mostrou bastante expressivo quando comparado com a bebida controle e também com o estudo de Prete *et al.* (2024), que, usando cepa de *Lactiplantibacillus plantarum* em leites fermentados, obteve uma capacidade de inibição menor (20%).

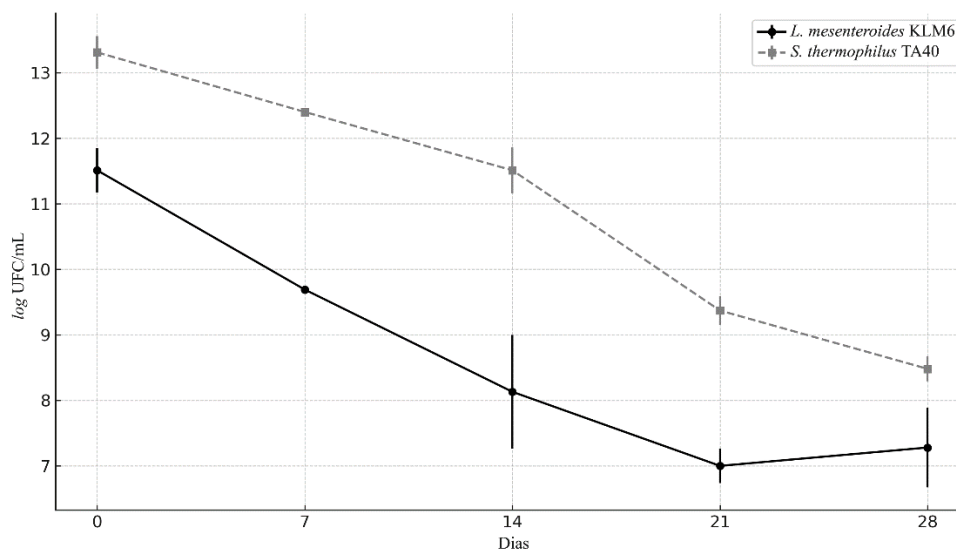
3.6 Viabilidade de *Leuconostoc mesenteroides* KLM6 e *Streptococcus thermophilus* TA40 ao longo do armazenamento refrigerado

Ao longo de 28 dias de armazenamento, observou-se uma redução gradual nas contagens de *L. mesenteroides* KLM6. No tempo inicial, a contagem foi de $11,51 \pm 0,34$ log UFC/mL e aos 7 dias de armazenamento, a viabilidade reduziu para $9,69 \pm 0,04$ log UFC/mL, seguida por $8,13 \pm 0,87$ log UFC/mL aos 14 dias, $7,00 \pm 0,26$ log UFC/mL aos 21 dias e, por fim, $7,28 \pm 0,61$ log UFC/mL, indicando estabilidade, sem diferença significativa ($p > 0,05$) nos últimos períodos (Figura 6).

A tendência de queda também foi observada para *S. thermophilus* TA40. No dia 0, a contagem foi de $13,31 \pm 0,25$ log UFC/mL. Após 7 dias, houve uma redução para $12,40 \pm 0,02$ log UFC/mL e, posteriormente, aos 14 dias, para $11,51 \pm 0,35$ log UFC/mL. Após 21 dias, a viabilidade apresentou uma queda considerável para $9,37 \pm 0,22$ log UFC/mL e, aos 28 dias as contagens alcançaram $8,48 \pm 0,19$ log UFC/mL apresentando diferença estatística significativa em todos os tempos.

Ambas as cepas mantiveram, ao final do armazenamento, uma concentração superior a 6 log UFC/mL, concentração indicada por Papadopoulou *et al.*, (2018) como população mínima necessária para que o efeito probiótico seja obtido. Wang *et al.* (2023), produziram um iogurte com *S. thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *L. mesenteroides* XR1 e ao final de 21 dias a cepa XR1 se manteve estável em 8 log UFC/mL. Em bebidas lácteas com adição de aveia, Khider *et al.*, (2022), mostraram que em uma bebida láctea fermentada com leite de búfala e farinha de aveia, as BAL *Lactobacillus casei* e *Lactobacillus paracasei* mantiveram a viabilidade de aproximadamente 10 log UFC/g após 35 dias de armazenamento, sendo esse resultado acima da bebida controle (sem farinha de aveia).

Figura 6 - Viabilidade de *Leuconostoc mesenteroides* KLM6 e *Streptococcus thermophilus* TA40 em FDBO ao longo de 28 dias de armazenamento refrigerado.



3.7 Sobrevivência em condições simuladas do trato gastrointestinal (TGI)

Na simulação do TGI, *L. mesenteroides* KLM6 apresentou contagem de $10,04 \pm 0,12$ log UFC/mL na fase AG, apresentando leve queda na fase DG, com $9,23 \pm 0,04$ log UFC/mL, continuando a queda nas contagens na fase D com $8,26 \pm 0,05$ log UFC/mL e com recuperação na fase I com contagens de $9,09 \pm 0,27$ log UFC/mL. Enquanto que, a cepa de *S. thermophilus* TA40 se manteve viável apenas na fase AG com $8,09 \pm 0,86$ log UFC/mL e não foi detectado nas demais fases. Na Tabela 11 podem ser observados os resultados obtidos na simulação do trato gastrointestinal, nas respectivas fases.

Tabela 11 - Sobrevivência de *Leuconostoc mesenteroides* KLM6 de bebida láctea fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia, no trato gastrointestinal simulado.

	AG	DG	D	I
<i>L. mesenteroides</i> KLM6	$10,43 \pm 0,12^a$	$9,23 \pm 0,05^b$	$8,26 \pm 0,05^c$	$9,09 \pm 0,27^b$

AG – antes do gástrico; DG – depois do gástrico; D – Duodeno; I – Íleo

Valores expressos em log UFC/mL

Valores expressos em média \pm desvio padrão.

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os resultados ($p < 0,05$).

Pawlos e Szajnar (2024) produziram bebida de aveia com *Lactobacillus johnsonii* e *Lacticaseibacillus casei* com adição de soro de leite. As bactérias apresentaram baixa viabilidade após o TGI entre $4,92 \pm 0,36$ log UFC/mL a $6,71 \pm 0,19$ log UFC/mL para *L. casei* e $5,00 \pm 0,33$ log UFC/mL a $5,94 \pm 0,20$ log UFC/mL para *L. johnsonii*, valores considerados não

propícios para que bactérias probióticas tenham sua ação benéfica no trato gastrointestinal do hospedeiro.

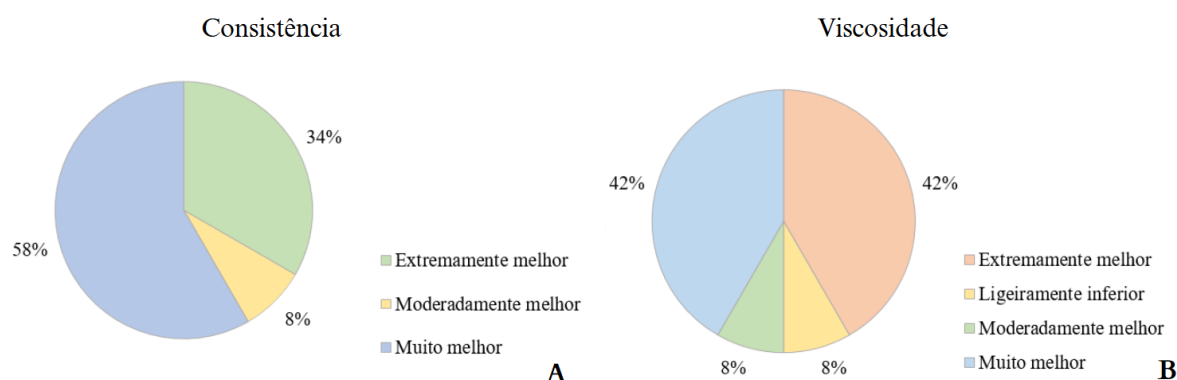
Parâmetros de Qualidade Microbiológica

As análises microbiológicas de presença de *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e bolores e leveduras foram realizadas no 14º dia de armazenamento refrigerado e indicaram que a FDBO apresentou parâmetros microbiológicos satisfatórios, em concordância com os padrões exigidos pela legislação vigente (APÊNDICE C) (Brasil, 2022).

3.8 Análise Sensorial

Os resultados para análise sensorial de comparação pareada com painelistas podem ser observados na Figura 7.

Figura 7 - Resultados do teste de comparação pareada entre bebida fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia (FDBO) e bebida comercial dos atributos consistência (A) e viscosidade (B) pelos painelistas.

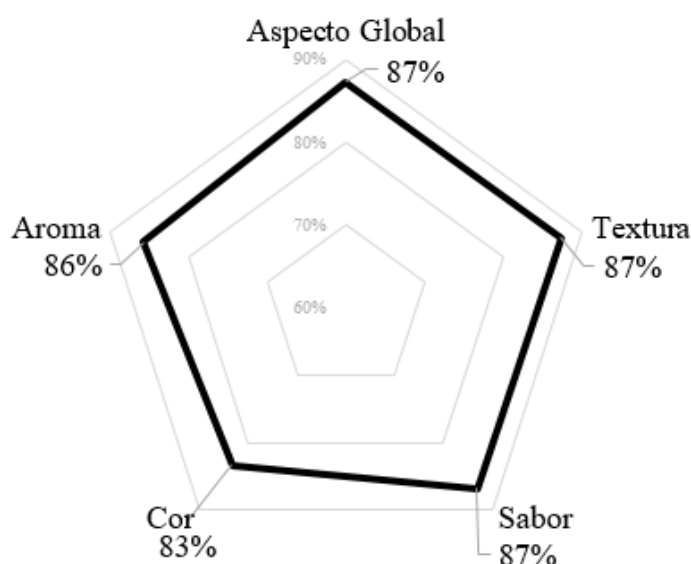


Para o atributo consistência, 58% dos avaliadores treinados apontaram que FDBO apresenta-se “moderadamente melhor” do que a amostra padrão (bebida láctea fermentada comercial), seguido de uma avaliação onde 34% para “extremamente melhor” e apenas 8% a considerando “muito melhor”. Para o atributo viscosidade, as avaliações de “extremamente melhor” e “moderadamente melhor” foi de 42% para ambos seguido de 8% para “muito melhor” e “ligeiramente inferior”. Pelo teste estatístico para ambos os atributos, a FDBO foi avaliada positivamente melhor quando comparada com a amostra padrão. Esses resultados sensoriais foram corroborados pela análise reológica, que revelou maior viscosidade aparente para a FDBO ao longo da curva de escoamento, além de menor índice de fluxo (η) e maior índice de consistência (K), características compatíveis com um comportamento pseudoplástico mais pronunciado. Tais propriedades reológicas são atribuídas à presença de EPS produzidos

por *L. mesenteroides* KLM6, que conferem maior estrutura e resistência ao escoamento, confirmando tecnicamente a melhor percepção sensorial da textura e da sensação de corpo do produto fermentado. Também utilizando painelistas, Wang *et al.* (2023) obtiveram resultados favoráveis para os atributos textura, sabor e gosto de iogurte, contendo EPS produzido por *L. mesenteroides* XR1.

A aceitabilidade da FDBO avaliada por 100 avaliadores não treinados resultou em índices de aceitação para textura de 87%, seguido por sabor (87%), aroma (86%) e cor (83%). No aspecto global, o índice de aceitação alcançou o valor de 87% (Figura 8). Um produto é considerado sensorialmente aceitável desde que obtenha um valor igual ou superior a 70,9% (ISO 11136, 2014)

Figura 8 - Índice de aceitação dos atributos da bebida láctea fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia (FDBO) por avaliadores não treinados



Para o teste de intenção de compra, 73% dos avaliadores indicaram que comprariam a FDBO “sempre”, “muito frequentemente” e “frequentemente”, comprovando que a bebida tem potencial para comercialização.

No estudo de Klajn *et al.* (2019), para a mesma formulação de bebida, porém fermentado por *L. casei* LAFTI L26, a bebida apresentou aceitação de 84,4% e alta de intenção de compra, onde 47% dos avaliadores “comprariam certamente” e 34% “comprariam provavelmente” corroborando com o presente estudo e atestando o potencial comercial do produto.

4 Conclusão

Leuconostoc mesenteroides KLM6 evidenciou funcionalidade como probiótico (capacidade de agregação, boas propriedades de adesão, resistência a sais biliares, resistência às condições simuladas do TGI) e potencial como cultura produtora de exopolissacarídeos (EPS), especialmente quando aplicada em bebida láctea fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia (FDBO).

A adição do extrato hidrossolúvel de aveia à formulação melhorou o valor nutricional da bebida e também favoreceu a produção de EPS, refletindo positivamente nas propriedades reológicas e sensoriais do produto. A FDBO com *L. mesenteroides* KLM6 apresentaram maior viscosidade, menor sinérese, maior capacidade antioxidante e viabilidade de KLM6 superior a 6 log UFC/mL ao longo de 28 dias de armazenamento.

A avaliação sensorial pelos painelistas, quanto a consistência e viscosidade, indicou a FDBO melhor que a bebida padrão e o índice de aceitação por avaliadores não treinados foi superior a 80% para todos os atributos, bem como destacado potencial de comercialização da bebida.

Por fim, *L. mesenteroides* KLM6 em bebida láctea fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia, representa uma alternativa viável e inovadora para o desenvolvimento de alimentos funcionais fermentados, com potencial aplicação em diferentes matrizes alimentares.

5 Referências

- Abdelshafy, A.M., Mustafa, M.A., Hassan, M.A., Al-Asmari, F., 2024. Probiotic-fermentation of oat: safety, strategies for improving quality, potential food applications and biological activities. Trends in Food Science & Technology 151, 104640.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104640>
- Ahn, J., Park, J.-Y., 2023. Potential of γ -aminobutyric acid-producing *Leuconostoc mesenteroides* strains isolated from kimchi as a starter for high- γ -aminobutyric acid kimchi fermentation. Preventive Nutrition and Food Science 28, 492–501.
<https://doi.org/10.3746/pnf.2023.28.4.492>

- Ali, P., Shah, A.A., Hasan, F., Hertkorn, N., Gonsior, M., Sajjad, W., Chen, F., 2020. A glacier bacterium produces high yield of cryoprotective exopolysaccharide. *Frontiers in Microbiology* 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03096>
- American Public Health Association, 2002. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Apha Press, An Imprint Of American Public Health Association, Washington, Dc.
- AOAC International, 2023. *Official Methods of Analysis*, 22nd ed.
- Bengoa, A.A., Dueñas, M.T., Prieto, A., Garrote, G.L., Abraham, A.G., 2023. Exopolysaccharide-producing *Lactocaseibacillus paracasei* strains isolated from kefir as starter for functional dairy products. *Frontiers in Microbiology* 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1110177>
- Bisson, G., Comuzzi, C., Giordani, E., Poletti, D., Boaro, M., Marino, M., 2023. An exopolysaccharide from *Leuconostoc mesenteroides* showing interesting bioactivities versus foodborne microbial targets. *Carbohydrate Polymers* 301, 120363. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120363>
- Brazil, 2024. SDA/MAPA Ordinance nº. 1174, of September 3, 2024. Technical Regulation for the Identity and Quality of Dairy Beverages (Portuguese). Official Diary of the Union. Ministry of Agriculture and Livestock/Secretariat of Agricultural Defense, Brasília, DF.
- Brazil, 2022. Normative Instruction nº 161, of July, 1st, 2022. Establishes the microbiological standards for food (Portuguese) . Official Diary of the Union. Ministry of Health, National Health Surveillance Agency, Brasília, DF.
- Collado, M.C., Meriluoto, J., Salminen, S., 2007. Adhesion and aggregation properties of probiotic and pathogen strains. *European Food Research and Technology* 226, 1065–1073. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0632-x>
- da Costa, R.J., da Silva, A.P., da Fonseca, R.N., Hübner, S. de O., Nalério, E.S., Marques, J. de L., Vitola, H.R.S., da Silva, W.P., Duval, E.H., Fiorentini, Â.M., 2021. Characterization of *Enterococcus faecium* EO1 isolated from mutton and activity of bacteriocin-like substances in the control of *Listeria monocytogenes* in fresh mutton sausage. *LWT* 141, 110954. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110954>
- Das, T.K., Pradhan, S., Chakrabarti, S., Mondal, K.C., Ghosh, K., 2022. Current status of probiotic and related health benefits. *Applied Food Research* 2, 100185. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100185>

- Dave, R.I., Shah, N.P., 1996. Evaluation of media for selective enumeration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, and *Bifidobacteria*. *Journal of Dairy Science* 79, 1529–1536.
[https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(96\)76513-x](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(96)76513-x)
- Devnani, B., Ong, L., Kentish, S.E., Scales, P.J., Gras, S.L., 2022. Physicochemical and rheological properties of commercial almond-based yoghurt alternatives to dairy and soy yoghurts. *Future Foods* 6, 100185. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100185>
- DuBois, Michel., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, Fred., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28, 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO; World Health Organization - WHO, 2006. Probiotics in food: health and nutritional properties and guidelines for evaluation.
- Freire, T.T., Silva, A.L.T. e, Ferreira, B.K.O., Santos, T.M. dos, 2021. Lactic acid bacteria its characteristics and importance: review. *Research, Society and Development* 10, e513101119964–e513101119964. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i11.19964>
- Funck, G.D., Marques, J. de L., Cruxen, C.E. dos S., Sehn, C.P., Haubert, L., Dannenberg, S., Klajn, V.M., Silva, W.P., Fiorentini, Â.M., 2019. Probiotic potential of *Lactobacillus curvatus*P99 and viability in fermented oat dairy beverage. *Journal of Food Processing and Preservation* 43. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14286>
- Isanga, J., Zhang, G., 2009. Production and evaluation of some physicochemical parameters of peanut milk yoghurt. *LWT - Food Science and Technology* 42, 1132–1138.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.01.014>
- ISO. International Organization for Standardization, 2023. Sensory analysis — Selection and training of sensory assessors. ISO 8586. Technical Commite: ISO/TC 34/SC 12 Sensory Analysis.
- ISO. International Organization for Standardization, 2014. Sensory analysis — Methodology — General guidance for conducting hedonic testes with consumers in a controlled area. ISO 11136 . Technical Commite: ISO/TC 34/SC 12 Sensory Analysis.
- ISO. International Organization for Standardization, 2005. Sensory analysis — Methodology — Paired Comparison Test. ISO 5495. Technical Commite: ISO/TC 34/SC 12 Sensory Analysis.

- Jurášková, D., Ribeiro, S.C., Bastos, R., Coelho, E., Coimbra, M.A., Silva, C.C.G., 2024. Exopolysaccharide (EPS) produced by *Leuconostoc mesenteroides* SJC113: characterization of functional and technological properties and application in fat-free cheese. *Macromol—A Journal of Macromolecular Research* 4, 680–696. <https://doi.org/10.3390/macromol4030040>
- Khare, A., Gaur, S., 2020. Cholesterol-lowering effects of *Lactobacillus* species. *Current Microbiology* 77, 638–644. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-01903-w>
- Khider, M., Nasr, N.M., Atallah, K.M., Metry, W.A., 2022. Functional UF-low and full-fat Labneh supplemented with Oats (*Avena sativa* L.) powder and probiotic bacteria. *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences* 8, 21–32. <https://doi.org/10.1007/s43994-022-00003-8>
- Klajn, V.M., Ames, C.W., da Cunha, K.F., Lorini, A., Hackbart, H.C. dos S., Filho, P.J.S., Cruxen, C.E. dos S., Fiorentini, Â.M., 2021. Probiotic fermented oat dairy beverage: viability of *Lactobacillus casei*, fatty acid profile, phenolic compound content and acceptability. *Journal of Food Science and Technology* 58, 3444–3452. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-04973-1>
- Leksono, B.Y., Purwijantiningsih, E., Wibisono, G.I.B., 2024. Cell surface and adherence properties of Indonesian indigenous lactic acid bacteria as probiotic candidate. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati* 1–11. <https://doi.org/10.24002/biota.v9i1.8124>
- Lima, L.F.O., Habu, S., Gern, J.C., Nascimento, B.M., Parada, J.-L., Nosedá, M.D., Gonçalves, A.G., Nisha, V.R., Pandey, A., Socol, V.T., Socol, C.R., 2008. Production and characterization of the exopolysaccharides produced by *Agaricus brasiliensis* in submerged fermentation. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 151, 283–294. <https://doi.org/10.1007/s12010-008-8187-2>
- Luan, C., Yan, J., Jiang, N., Zhang, C., Geng, X., Li, Z., Li, C., 2022. *Leuconostoc mesenteroides* LVBH107 antibacterial activity against *Porphyromonas gingivalis* and anti-inflammatory activity against *P. gingivalis* lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 Cells. *Nutrients* 14, 2584. <https://doi.org/10.3390/nu14132584>
- Lynch, K.M., Zannini, E., Coffey, A., Arendt, E.K., 2018. Lactic acid bacteria exopolysaccharides in foods and beverages: isolation, properties, characterization, and health benefits. *Annual Review of Food Science and Technology* 9, 155–176. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030117-012537>

- Madureira, A.R., Amorim, M., Gomes, A.M., Pintado, M.E., Malcata, F.X., 2011. Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International* 44, 465–470.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.010>
- Massaut, K.B., Pereira, E. dos S., Moreira, A.N., Silva, W.P. da, Fiorentini, Â.M., 2024. Potentially functional lactose-free ice cream with *Lactocaseibacillus casei* CSL3, ginger, and honey. *Brazilian Journal of Microbiology* 55, 1735–1744.
<https://doi.org/10.1007/s42770-024-01310-4>
- Moghim, B., Dana, M.G., Shapouri, R., 2021. Investigation of some antibiotic resistance genes of indigenous Lactobacilli isolated From traditional yogurt in Zanjan province of Iran. *Research Square*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-612605/v1>
- Papadopoulou, O.S., Argyri, A.A., Varzak, E.E., Tassou, C.C., Chorianopoulos, N.G., 2018. Greek functional Feta cheese: Enhancing quality and safety using a *Lactobacillus plantarum* strain with probiotic potential. *Food Microbiology* 74, 21–33.
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.02.005>
- Pawlos, M., Szajnar, K., Znamirska-Piotrowska, A., 2024. Probiotic milk and oat beverages with increased protein content: survival of probiotic bacteria under simulated *in vitro* digestion conditions. *Nutrients* 16, 3673–3673.
<https://doi.org/10.3390/nu16213673>
- Petrović, T.Ž., Ilić, P., Mladenović, M., Djilas, M., Tanackov, S.K., Čomić, L., 2021. Probiotic potential of *Lactobacillus* and *Leuconostoc* strains isolated from traditional spontaneously fermented sheep ham. *The Journal of Animal and Plant Sciences* 32.
<https://doi.org/10.36899/japs.2022.3.0487>
- Pieniz, S., de Moura, T.M., Cassenego, A.P.V., Andreazza, R., Frazzon, A.P.G., Camargo, F.A. de O., Brandelli, A., 2015. Evaluation of resistance genes and virulence factors in a food isolated *Enterococcus durans* with potential probiotic effect. *Food Control* 51, 49–54. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.11.012>
- Prete, R., Dell’Orco, F., Sabatini, G., Montagano, F., Battista, N., Corsetti, A., 2024. Improving the antioxidant and anti-inflammatory activity of fermented milks with exopolysaccharides-producing *Lactiplantibacillus plantarum* strains. *Foods* 13, 1663.
<https://doi.org/10.3390/foods13111663>

- Ruas-Madiedo, P., Salazar, N., Clara, G., 2009. Byosynthesis and chemical composition of exopolysaccharides, in: *Bacterial Polysaccharides: Current Innovations and Future Trends* . Caister Academic Press, United Kingdon.
- Schifano, E., Tomassini, A., Preziosi, A., Montes, J., Aureli, W., Mancini, P., Miccheli, A., Uccelletti, D., 2021. *Leuconostoc mesenteroides* strains isolated from carrots show probiotic features. *Microorganisms* 9, 2290.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms9112290>
- Shahbazi, S., Nateghi, L., Aghababayan, A., 2016. Effect of fatty acids on hydrophobicity of the cell membrane of *Lactobacillus* species. *Applied Food Biotechnology* 3, 194–200.
<https://doi.org/10.22037/afb.v3i3.12375>
- Sørensen, H.M., Rochfort, K.D., Maye, S., MacLeod, G., Brabazon, D., Loscher, C., Freeland, B., 2022. Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: production, purification and health benefits towards functional food. *Nutrients* 14, 2938.
<https://doi.org/10.3390/nu14142938>
- Tian, H., Gu, Y., IV, Z., Wang, L., 2024. The exopolysaccharides produced by *Leuconostoc mesenteroides* XR1 and its effect on silk drawing phenomenon of yoghurt. *International Journal of Biological Macromolecules* 262, 129952–129952.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129952>
- Vijayalakshmi, S., Kim, J.-R., Chelliah, R., Barathikannan, K., Hirad, A.H., Oh, D.-H., 2024. Structural characterization and immunomodulatory activity of an Exopolysaccharide produced by probiotic *Leuconostoc mesenteroides* 201607 isolated from fermented food. *Applied microbiology* 4, 329–340.
<https://doi.org/10.3390/applmicrobiol4010022>
- Vinderola, C.G., Reinheimer, J.A., 2003. Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative “*in vitro*” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Research International* 36, 895–904. [https://doi.org/10.1016/s0963-9969\(03\)00098-x](https://doi.org/10.1016/s0963-9969(03)00098-x)
- Vinholes, J., Grosso, C., Andrade, P.B., Gil-Izquierdo, A., Valentão, P., Pinho, P.G. de, Ferreres, F., 2011. *In vitro* studies to assess the antidiabetic, anti-cholinesterase and antioxidant potential of *Spergularia rubra*. *Food Chemistry* 129, 454–462.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.098>
- Wang, B., Song, Q., Zhao, F., Han, Y., Zhou, Z., 2019. Production optimization, partial characterization and properties of an exopolysaccharide from *Lactobacillus sakei* L3.

- International Journal of Biological Macromolecules 141, 21–28.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.241>
- Wang, L., Tian, H., Liu, W., Zheng, H., Wu, H., Guan, Y., Lu, Q., Zili Lv, 2023. Effects of EPS-producing *Leuconostoc mesenteroides* XR1 on texture, rheological properties, microstructure and volatile flavor of fermented milk. Food Bioscience 56, 103371–103371. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103371>
- Xun, S., Zhao, J., Zheng, L., Chen, X., Zhang, X., 2016. Flow and heat transfer of Ostwald-de Waele fluid over a variable thickness rotating disk with index decreasing. International Journal of Heat and Mass Transfer 103, 1214–1224.
<https://doi.org/10.1016/j.ijheatmasstransfer.2016.08.066>
- Yehuala, G.A., Shibeshi, N.T., Kim, S.-H., Park, M.-K., 2024. Characterization of autochthonous lactic acid bacteria isolated from a traditional Ethiopian beverage, Tella. Foods 13, 575–575. <https://doi.org/10.3390/foods13040575>
- Zapaśnik, A., Sokołowska, B., Bryła, M., 2022. Role of lactic acid bacteria in food preservation and safety. Foods 11, 1283. <https://doi.org/10.3390/foods11091283>
- Ziarno, M., Zaręba, D., Kowalska, E., Florowski, T., 2025. The effect of varying oat beverage ratios on the characteristics of fermented dairy–oat beverages. Applied Sciences 15, 3219–3219. <https://doi.org/10.3390/app15063219>

5 Considerações Finais e Perspectivas Futuras

Os resultados obtidos neste trabalho evidenciam que *Leuconostoc mesenteroides* KLM6 apresentou multiplicação e produção de EPS favorecidos pela adição de extrato hidrossolúvel de aveia à uma bebida láctea fermentada, propiciando características tecnológicas e estabilidade do produto melhoradas. A produção de EPS por *L. mesenteroides* KLM6 contribuiu para aumento da viscosidade além de oferecer benefícios funcionais associados à saúde intestinal em função de seu efeito prebiótico e probiótico. Os resultados de análises microbiológicas demonstraram que a incorporação de extrato vegetal promoveu a viabilidade das BAL presentes podendo ser utilizado como matriz complementar nas fermentações lácteas.

Como perspectivas futuras, a caracterização de EPS, por meio de técnicas cromatográficas pode indicar as potenciais aplicações industriais. Ensaio de citotoxicidade, testes *in vivo*, e de atividade antimicrobiana também podem ser considerados para pesquisas futuras com EPS produzidos por BAL.

6 Referências

- ABDELLAH, M.; AHCNE, H.; BENALIA, Y.; SAAD, B.; ABDELMALEK, B. Screening for exopolysaccharide-producing strains of thermophilic lactic acid bacteria isolated from Algerian raw camel milk. **African Journal of Microbiology Research**, vol. 8, no. 22, p. 2208–2214, 2014. <https://doi.org/10.5897/ajmr2014.6759>.
- ABDELSHAFY, A. M.; MUSTAFA, M. A.; HASSAN, M. A.; AL-ASMARI, F. Probiotic-fermentation of oat: safety, strategies for improving quality, potential food applications and biological activities. **Trends in Food Science & Technology**, vol. 151, p. 104640, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104640>.
- AHN, J.; PARK, J.-Y. Potential of γ -aminobutyric acid-producing *Leuconostoc mesenteroides* strains isolated from kimchi as a starter for high- γ -aminobutyric acid kimchi fermentation. **Preventive Nutrition and Food Science**, vol. 28, no. 4, p. 492–501, 2023. <https://doi.org/10.3746/pnf.2023.28.4.492>.
- ALE, E. C.; BATISTELA, V. A.; CORREA OLIVAR, G.; FERRADO, J. B.; SADIQ, S.; AHMED, H. I.; REINHEIMER, J. A.; VERA-CANDIOTI, L.; LAWS, A. P.; BINETTI, A. G. Statistical optimisation of the exopolysaccharide production by *Lactobacillus fermentum* Lf2 and analysis of its chemical composition. **International Journal of Dairy Technology**, vol. 73, no. 1, p. 76–87, 2019. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12639>.
- ALE, E. C.; IBÁÑEZ, R. A.; WILBANKS, D. J.; PERALTA, G. H.; CEYLAN, F. D.; BINETTI, A. G.; BOLLING, B. W.; LUCEY, J. A. Technological role and metabolic profile of two probiotic EPS-producing strains with potential application in yoghurt: Impact on rheology and release of bioactive peptides. **International Dairy Journal**, vol. 137, p. 105533–105533, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105533>.
- ALE, E. C.; PEREZLINDO, M. J.; PAVÓN, Y.; PERALTA, G. H.; COSTA, S.; SABBAG, N.; BERGAMINI, C.; REINHEIMER, J. A.; BINETTI, A. G. Technological, rheological and sensory characterizations of a yogurt containing an exopolysaccharide extract from *Lactobacillus fermentum* Lf2, a new food additive. **Food Research International**, vol. 90, p. 259–267, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.045>.

ALI, P.; SHAH, A. A.; HASAN, F.; HERTKORN, N.; GONSIOR, M.; SAJJAD, W.; CHEN, F. A glacier bacterium produces high yield of cryoprotective exopolysaccharide. **Frontiers in Microbiology**, vol. 10, 2020. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03096>.

ALMEIDA, K. E. de; BONASSI, I. A.; ROÇA, R. de O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo minas frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, vol. 21, no. 2, p. 187–192, 2001. <https://doi.org/10.1590/s0101-20612001000200012>.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, Dc: Apha Press, An Imprint Of American Public Health Association, 2002.

ANGELIN, J.; KAVITHA, M. Exopolysaccharides from probiotic bacteria and their health potential. **International Journal of Biological Macromolecules**, vol. 162, p. 853–865, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.190>.

AOAC INTERNATIONAL. **Official Methods of Analysis**. 22nd ed., 2023.

ARASTEH, H. R.; ATAEE, M.; SHARIFAN, A. Evaluation of vitamin B9 and B12 production, and physicochemical and organoleptical properties in synbiotic cheese. **Biomass Conversion and Biorefinery**, vol. 13, no. 12, p. 10877–10883, 2021. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01876-1>.

AYIVI, R. D.; GYAWALI, R.; KRASTANOV, A.; ALJALOU, S. O.; WORKU, M.; TAHERGORABI, R.; SILVA, R. C. da; IBRAHIM, S. A. Lactic acid bacteria: food safety and human health applications. **Dairy**, vol. 1, no. 3, p. 202–232, 2020. <https://doi.org/10.3390/dairy1030015>.

AYYASH, M.; ABU-JDAYIL, B.; OLAIMAT, A.; ESPOSITO, G.; ITSARANUWAT, P.; OSAILI, T.; OBAID, R.; KIZHAKKAYIL, J.; LIU, S.-Q. Physicochemical, bioactive and rheological properties of an exopolysaccharide produced by a probiotic *Pediococcus pentosaceus* M41. **Carbohydrate Polymers**, vol. 229, p. 115462, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115462>.

AZARI-ANPAR, M.; JAHANBIN, K.; DEGRAEVE, P.; YAZDI, F. T.; ADT, I.; OULAHAL, N.; LE CERF, D. Structural characterization of exopolysaccharide from

Leuconostoc mesenteroides P35 and its binding interaction with bovine serum albumin using surface plasmon resonance biosensor. **International Journal of Biological Macromolecules**, vol. 246, p. 125599–125599, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125599>.

BAEK, J. H.; HAN, D. M.; CHOI, D. G.; JEON, C. O. Unraveling the carbohydrate metabolic characteristics of *Leuconostoc mesenteroides* J18 through metabolite and transcriptome analyses. **Food Chemistry**, vol. 435, p. 137594–137594, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137594>.

BENGOA, A. A.; DUEÑAS, M. T.; PRIETO, A.; GARROTE, G. L.; ABRAHAM, A. G. Exopolysaccharide-producing *Lactocaseibacillus paracasei* strains isolated from kefir as starter for functional dairy products. **Frontiers in Microbiology**, vol. 14, 2023. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1110177>.

BESSEGATO, T.; SILVA, J. R.; SILVA, K. M. de S.; ZANON, E. O.; CAMISA, J.; COSTA, G. N. Fermented beverage based on water-soluble soybean extract. **Bioscience Journal**, no. 2, p. 518–526, 2019. <https://doi.org/10.14393/BJ-v35n2a2019-42263>.

BIBI, A.; XIONG, Y.; RAJOKA, M. S. R.; MEHWISH, H. M.; RADICETTI, E.; UMAIR, M.; SHOUKAT, M.; KHAN, M. K. I.; AADIL, R. M. Recent Advances in the Production of Exopolysaccharide (EPS) from *Lactobacillus* spp. and Its Application in the Food Industry: A Review. **Sustainability**, vol. 13, no. 22, p. 12429, 2021. <https://doi.org/10.3390/su132212429>.

BISSON, G.; COMUZZI, C.; GIORDANI, E.; POLETTI, D.; BOARO, M.; MARINO, M. An exopolysaccharide from *Leuconostoc mesenteroides* showing interesting bioactivities versus foodborne microbial targets. **Carbohydrate Polymers**, vol. 301, p. 120363, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120363>.

BISSON, G.; MELCHIOR, S.; COMUZZI, C.; ANDREATTA, F.; RONDINELLA, A.; ZANOCCO, M.; CALLIGARIS, S.; MARINO, M. Unrevealing the potentialities in food formulations of a low-branched dextran from *Leuconostoc mesenteroides*. **Food Chemistry**, p. 140718–140718, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140718>.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Guia para Instrução Processual de Petição de Avaliação de Probióticos para Uso em Alimentos**. Brasil, 2021.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Portaria SDA/MAPA nº 1.174, de 3 de setembro de 2024. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de bebida láctea.** Brasil, 2024.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE/AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Instrução Normativa nº 161, de 1º de julho de 2022 - Padrões Microbiológicos de Alimentos.** Brasil, 2022.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE/AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **RDC nº 241, de 26 de julho de 2018 - Requisitos para comprovação da segurança e dos benefícios à saúde dos probióticos para uso em alimentos.** Brasil, 2018.

BROADBENT, J. R.; MCMAHON, D. J.; WELKER, D. L.; OBERG, C. J.; MOINEAU, S. Biochemistry, Genetics, and Applications of Exopolysaccharide Production in *Streptococcus thermophilus*: A Review1. **Journal of Dairy Science**, vol. 86, no. 2, p. 407–423, 2003. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73619-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73619-4).

CHUN, B. H.; KIM, K. H.; JEON, H. H.; LEE, S. H.; JEON, C. O. Pan-genomic and transcriptomic analyses of *Leuconostoc mesenteroides* provide insights into its genomic and metabolic features and roles in kimchi fermentation. **Scientific Reports**, vol. 7, no. 1, 2017. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12016-z>.

CLEMENS, R.; VAN KLINKEN, B. J.-W. Oats, more than just a whole grain: an introduction. **British Journal of Nutrition**, vol. 112, no. S2, p. S1–S3, 2014. <https://doi.org/10.1017/s0007114514002712>.

COLLADO, M. C.; MERILUOTO, J.; SALMINEN, S. Adhesion and aggregation properties of probiotic and pathogen strains. **European Food Research and Technology**, vol. 226, no. 5, p. 1065–1073, 2007. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0632-x>.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos. 2024.

CÔTÉ, G. L.; SKORY, C. D. Cloning, expression, and characterization of an insoluble glucan-producing glucansucrase from *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-1118. **Applied Microbiology and Biotechnology**, vol. 93, no. 6, p. 2387–2394, 2011. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3562-2>.

- DA COSTA, R. J.; DA SILVA, A. P.; DA FONSECA, R. N.; HÜBNER, S. de O.; NALÉRIO, E. S.; MARQUES, J. de L.; VITOLA, H. R. S.; DA SILVA, W. P.; DUVAL, E. H.; FIORENTINI, Â. M. Characterization of *Enterococcus faecium* EO1 isolated from mutton and activity of bacteriocin-like substances in the control of *Listeria monocytogenes* in fresh mutton sausage. **LWT**, vol. 141, p. 110954, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110954>.
- DAS, T. K.; PRADHAN, S.; CHAKRABARTI, S.; MONDAL, K. C.; GHOSH, K. Current status of probiotic and related health benefits. **Applied Food Research**, vol. 2, no. 2, p. 100185, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100185>.
- DAVE, R. I.; SHAH, N. P. Evaluation of media for selective enumeration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, and *Bifidobacteria*. **Journal of Dairy Science**, vol. 79, no. 9, p. 1529–1536, 1996. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(96\)76513-x](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(96)76513-x).
- DE PAULA, A. T.; JERONYMO-CENEVIVA, A. B.; SILVA, L. F.; TODOROV, S. D.; FRANCO, B. D. G. M.; PENNA, A. L. B. *Leuconostoc mesenteroides* SJRP55: a potential probiotic strain isolated from Brazilian water buffalo mozzarella cheese. **Annals of Microbiology**, vol. 65, no. 2, p. 899–910, 2014. <https://doi.org/10.1007/s13213-014-0933-9>.
- DE PAULA, A. T.; JERONYMO-CENEVIVA, A. B.; TODOROV, S. D.; PENNA, A. L. B. The two faces of *Leuconostoc mesenteroides* in food systems. **Food Reviews International**, vol. 31, no. 2, p. 147–171, 2015. <https://doi.org/10.1080/87559129.2014.981825>.
- DE VUYST, L.; DEGEEST, B. Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. **FEMS Microbiology Reviews**, vol. 23, no. 2, p. 153–177, 1999. [https://doi.org/10.1016/s0168-6445\(98\)00042-4](https://doi.org/10.1016/s0168-6445(98)00042-4).
- DECKER, E. A.; ROSE, D. J.; STEWART, D. Processing of oats and the impact of processing operations on nutrition and health benefits. **British Journal of Nutrition**, vol. 112, no. S2, p. S58–S64, 2014. <https://doi.org/10.1017/s000711451400227x>.
- DEN BESTEN, G.; VAN EUNEN, K.; GROEN, A. K.; VENEMA, K.; REIJNGOUD, D.-J.; BAKKER, B. M. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. **Journal of Lipid Research**, vol. 54, no. 9, p. 2325–2340, 2013. <https://doi.org/10.1194/jlr.r036012>.

DEVNANI, B.; ONG, L.; KENTISH, S. E.; SCALES, P. J.; GRAS, S. L. Physicochemical and rheological properties of commercial almond-based yoghurt alternatives to dairy and soy yoghurts. **Future Foods**, vol. 6, p. 100185, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100185>.

DIEZ-OZAETA, I.; ASTIAZARAN, O. J. Fermented foods: An update on evidence-based health benefits and future perspectives. **Food Research International**, vol. 156, p. 111133, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111133>.

DOMÍNGUEZ-MURILLO, A. C.; URÍAS-SILVAS, J. E. Plant-based milk substitutes as probiotic vehicles: health effect and survival, a review. **Food Chemistry Advances**, p. 100830–100830, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2024.100830>.

DUBOC, P.; MOLLET, B. Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. **International Dairy Journal**, vol. 11, no. 9, p. 759–768, 2001. [https://doi.org/10.1016/s0958-6946\(01\)00119-4](https://doi.org/10.1016/s0958-6946(01)00119-4).

DUBOIS, Michel.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, Fred. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, vol. 28, no. 3, p. 350–356, 1956. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>.

FAO/WHO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO; WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. **Probiotics in food: health and nutritional properties and guidelines for evaluation**. Roma, 2006.

FDA. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Microorganisms & microbial-derived ingredients used in food (Partial List)**, 2018.

FREIRE, T. T.; SILVA, A. L. T. e; FERREIRA, B. K. O.; SANTOS, T. M. dos. Lactic acid bacteria its characteristics and importance: review. **Research, Society and Development**, vol. 10, no. 11, p. e513101119964–e513101119964, 2021. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i11.19964>.

FUNCK, G. D.; MARQUES, J. de L.; CRUXEN, C. E. dos S.; SEHN, C. P.; HAUBERT, L.; DANNENBERG, S.; KLAJN, V. M.; SILVA, W. P.; FIORENTINI, Â. M. Probiotic potential of *Lactobacillus curvatus* P99 and viability in fermented oat dairy beverage. **Journal of Food Processing and Preservation**, vol. 43, no. 12, 2019. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14286>.

GALLE, S.; SCHWAB, C.; DAL BELLO, F.; COFFEY, A.; GÄNZLE, M. G.; ARENDT, E. K. Influence of in-situ synthesized exopolysaccharides on the quality of gluten-free sorghum sourdough bread. **International Journal of Food Microbiology**, vol. 155, no. 3, p. 105–112, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.01.009>.

GARCÍA-CANO, I.; ROCHA-MENDOZA, D.; ORTEGA-ANAYA, J.; WANG, K.; KOSMERL, E.; JIMÉNEZ-FLORES, R. Lactic acid bacteria isolated from dairy products as potential producers of lipolytic, proteolytic and antibacterial proteins. **Applied Microbiology and Biotechnology**, vol. 103, no. 13, p. 5243–5257, 2019. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09844-6>.

GARG, V.; VELUMANI, D.; LIN, Y.-C.; HAYE, A. A comprehensive review of probiotic claim regulations: updates from the Asia-Pacific regions, the United States, and Europe. **PharmaNutrition**, vol. 30, p. 100423, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.phanu.2024.100423>.

GOPAL, P. K. Bacteria, beneficial: probiotic lactic acid bacteria: an overview. **Encyclopedia of Dairy Sciences**, no. 3, p. 32–33, 2020. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818766-1.00018-0>.

HABIB, B.; VAID, S.; BANGOTRA, R.; SHARMA, S.; BAJAJ, B. K. Bioprospecting of probiotic lactic acid bacteria for cholesterol lowering and exopolysaccharide producing potential. **Biologia**, vol. 77, no. 7, p. 1931–1951, 2022. <https://doi.org/10.1007/s11756-022-01058-y>.

HEMME, D.; FOUCAUD-SCHEUNEMANN, C. *Leuconostoc*, characteristics, use in dairy technology and prospects in functional foods. **International Dairy Journal**, vol. 14, no. 6, p. 467–494, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.10.005>.

HILL, C.; GUARNER, F.; REID, G.; GIBSON, G. R.; MERENSTEIN, D. J.; POT, B.; MORELLI, L.; CANANI, R. B.; FLINT, H. J.; SALMINEN, S.; CALDER, P. C.; SANDERS, M. E. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature reviews. Gastroenterology & hepatology**, England, vol. 11, no. 8, p. 506–14, 2014. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>.

ISANGA, J.; ZHANG, G. Production and evaluation of some physicochemical parameters of peanut milk yoghurt. **LWT - Food Science and Technology**, vol. 42, no. 6, p. 1132–1138, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.01.014>.

ISO. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Sensory analysis - Methodology - General guidance for conducting hedonic testes with consumers in a controlled area. ISO 11136** . Technical Commite: ISO/TC 34/SC 12 Sensory Analysis, 2014.

ISO. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Sensory analysis — Methodology — Paired Comparison Test. ISO 5495**. Technical Commite: ISO/TC 34/SC 12 Sensory Analysis, 2005.

ISO. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Sensory analysis — Selection and training of sensory assessors. ISO 8586**. Technical Commite: ISO/TC 34/SC 12 Sensory Analysis, 2023.

JAEGER, S. R.; DUPAS DE MATOS, A.; ODURO, A. F.; HORT, J. Sensory characteristics of plant-based milk alternatives: product characterisation by consumers and drivers of liking. **Food Research International**, vol. 180, p. 114093–114093, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114093>.

JEON, H. H.; KIM, K. H.; CHUN, B. H.; RYU, B. H.; HAN, N. S.; JEON, C. O. A proposal of *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *jonggajibkimchii* subsp. nov. and reclassification of *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *suionicum* (Gu *et al.*, 2012) as *Leuconostoc suionicum* sp. nov. based on complete genome sequences. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, vol. 67, no. 7, p. 2225–2230, 2017. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001930>.

JOSHI, T. J.; S.V, S.; MOHAN, L.; NANDAGOPAL, P.; ARAKAL, J. J. Functional metabolites of probiotic lactic acid bacteria in fermented dairy products. **Food and Humanity**, vol. 3, p. 100341–100341, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.foohum.2024.100341>.

JURÁŠKOVÁ, D.; RIBEIRO, S. C.; BASTOS, R.; COELHO, E.; COIMBRA, M. A.; SILVA, C. C. G. Exopolysaccharide (EPS) produced by *Leuconostoc mesenteroides* SJC113: characterization of functional and technological properties and application in fat-free cheese.

Macromol—A Journal of Macromolecular Research, vol. 4, no. 3, p. 680–696, 2024.
<https://doi.org/10.3390/macromol4030040>.

KAUR, N.; DEY, P. Bacterial exopolysaccharides as emerging bioactive macromolecules: from fundamentals to applications. **Research in Microbiology**, vol. 174, no. 4, p. 104024, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2022.104024>.

KHARE, A.; GAUR, S. Cholesterol-lowering effects of *Lactobacillus* species. **Current Microbiology**, vol. 77, no. 4, p. 638–644, 2020. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-01903-w>.

KHIDER, M.; NASR, N. M.; ATALLAH, K. M.; METRY, W. A. Functional UF-low and full-fat Labneh supplemented with Oats (*Avena sativa* L.) powder and probiotic bacteria. **Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences**, vol. 8, no. 1-2, p. 21–32, 2022. <https://doi.org/10.1007/s43994-022-00003-8>.

KLAJN, V. M.; AMES, C. W.; DA CUNHA, K. F.; LORINI, A.; HACKBART, H. C. dos S.; FILHO, P. J. S.; CRUXEN, C. E. dos S.; FIORENTINI, Â. M. Probiotic fermented oat dairy beverage: viability of *Lactobacillus casei*, fatty acid profile, phenolic compound content and acceptability. **Journal of Food Science and Technology**, vol. 58, no. 9, p. 3444–3452, 2021. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-04973-1>.

KNIREL, Y. A.; VAN CALSTEREN, M.-R. Bacterial Exopolysaccharides. **Elsevier eBooks**, p. 21–95, 2020. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819475-1.00005-5>.

KORCZ, E.; VARGA, L. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Techno-functional application in the food industry. **Trends in Food Science & Technology**, vol. 110, p. 375–384, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.014>.

KWOK, E.; YANG, J.; TAHERI, P.; CHEN, L. Impact of ultrasound on nutrition recovery and physicochemical properties of oat beverage. **Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie/Food science & technology**, p. 116303–116303, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116303>.

LEKSONO, B. Y.; PURWIJANTININGSIH, E.; WIBISONO, G. I. B. Cell surface and adherence properties of Indonesian indigenous lactic acid bacteria as probiotic candidate.

Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati, p. 1–11, 2024.

<https://doi.org/10.24002/biota.v9i1.8124>.

LI, Y.; LIU, Y.; CAO, C.; ZHU, X.; WANG, C.; WU, R.; WU, J. Extraction and biological activity of exopolysaccharide produced by *Leuconostoc mesenteroides* SN-8. **International Journal of Biological Macromolecules**, vol. 157, p. 36–44, 2020.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.150>.

LIANG, S.; WANG, X.; LI, C.; LIU, L. Biological activity of lactic acid bacteria exopolysaccharides and their applications in the food and pharmaceutical industries. **Foods**, vol. 13, no. 11, p. 1621–1621, 2024. <https://doi.org/10.3390/foods13111621>.

LIMA, L. F. O.; HABU, S.; GERN, J. C.; NASCIMENTO, B. M.; PARADA, J.-L.; NOSEDA, M. D.; GONÇALVES, A. G.; NISHA, V. R.; PANDEY, A.; SOCCOL, V. T.; SOCCOL, C. R. Production and characterization of the exopolysaccharides produced by *Agaricus brasiliensis* in submerged fermentation. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, vol. 151, no. 2-3, p. 283–294, 2008. <https://doi.org/10.1007/s12010-008-8187-2>.

LOEFFLER, M.; HILBIG, J.; VELASCO, L.; WEISS, J. Usage of in situ exopolysaccharide-forming lactic acid bacteria in food production: Meat products—A new field of application? **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, vol. 19, no. 6, p. 2932–2954, 2020. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12615>.

LONDON, L. E. E.; CHAURIN, V.; AUTY, M. A. E.; FENELON, M. A.; FITZGERALD, G. F.; ROSS, R. Paul.; STANTON, C. Use of *Lactobacillus mucosae* DPC 6426, an exopolysaccharide-producing strain, positively influences the techno-functional properties of yoghurt. **International Dairy Journal**, vol. 40, p. 33–38, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2014.08.011>.

LUAN, C.; YAN, J.; JIANG, N.; ZHANG, C.; GENG, X.; LI, Z.; LI, C. *Leuconostoc mesenteroides* LVBH107 antibacterial activity against *Porphyromonas gingivalis* and anti-inflammatory activity against *P. gingivalis* lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 Cells. **Nutrients**, vol. 14, no. 13, p. 2584, 2022. <https://doi.org/10.3390/nu14132584>.

LULE, V. K.; SINGH, R.; POPHALY, S. D.; POONAM; TOMAR, S. K. Production and structural characterisation of dextran from an indigenous strain of *Leuconostoc mesenteroides*

BA08 in Whey. **International Journal of Dairy Technology**, vol. 69, no. 4, p. 520–531, 2016. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12271>.

LYNCH, K. M.; ZANNINI, E.; COFFEY, A.; ARENDT, E. K. Lactic acid bacteria exopolysaccharides in foods and beverages: isolation, properties, characterization, and health benefits. **Annual Review of Food Science and Technology**, vol. 9, no. 1, p. 155–176, 2018. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030117-012537>.

MA'UNATIN, A.; HARIJONO; ZUBAIDAH, E.; RIFA'I, M. Immunomodulatory activity of exopolysaccharides produced by *Leuconostoc mesenteroides* strains isolated from palm (*Borassus flabellifer* L.) sap. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, vol. 456, no. 1, p. 012058, 2020. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/456/1/012058>.

MACEDO, M. G.; LACROIX, C.; GARDNER, N. J.; CHAMPAGNE, C. P. Effect of medium supplementation on exopolysaccharide production by *Lactobacillus rhamnosus* RW-9595M in whey permeate. **International Dairy Journal**, vol. 12, no. 5, p. 419–426, 2002. [https://doi.org/10.1016/s0958-6946\(01\)00173-x](https://doi.org/10.1016/s0958-6946(01)00173-x).

MADUREIRA, A. R.; AMORIM, M.; GOMES, A. M.; PINTADO, M. E.; MALCATA, F. X. Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, vol. 44, no. 1, p. 465–470, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.010>.

MAEDA, H.; ZHU, X.; SUZUKI, S.; SUZUKI, K.; KITAMURA, S. Structural characterization and biological activities of an exopolysaccharide kefir produced by *Lactobacillus kefirianofaciens* WT-2B^T. vol. 52, no. 17, p. 5533–5538, 2004. <https://doi.org/10.1021/jf049617g>.

MAFTEI, N.-M.; RAILEANU, C. R.; BALTA, A. A.; AMBROSE, L.; BOEV, M.; MARIN, D. B.; LISA, E. L. The potential impact of probiotics on human health: an update on their health-promoting properties. **Microorganisms**, vol. 12, no. 2, p. 234, 2024. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12020234>.

MAJUMDAR, A.; GIL-GONZÁLEZ, A. B.; GRAU, A. B.; SARDARI, R. R. R.; LARSSON, O.; THYAGARAJAN, A.; HANSSON, A.; HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, O.; OLSSON,

O.; ZAMBRANO, J. A. Macromolecular characterization of high β -glucan oat lines. **Heliyon**, vol. 10, no. 2, p. e24552–e24552, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e24552>.

MÅRTENSSON, O.; ÖSTE, R.; HOLST, O. Lactic acid bacteria in an oat-based non-dairy milk substitute: fermentation characteristics and exopolysaccharide formation. **LWT - Food Science and Technology**, vol. 33, no. 8, p. 525–530, 2000. <https://doi.org/10.1006/fstl.2000.0718>.

MASSAUT, K. B.; PEREIRA, E. dos S.; MOREIRA, A. N.; SILVA, W. P. da ; FIORENTINI, Â. M. Potentially functional lactose-free ice cream with *Lacticaseibacillus casei* CSL3, ginger, and honey. **Brazilian Journal of Microbiology**, vol. 55, no. 2, p. 1735–1744, 2024. <https://doi.org/10.1007/s42770-024-01310-4>.

MATHUR, H.; BERESFORD, T. P.; COTTER, P. D. Health benefits of lactic acid bacteria (LAB) fermentates. **Nutrients**, vol. 12, no. 6, p. 1679, 2020. <https://doi.org/10.3390/nu12061679>.

MENDE, S.; ROHM, H.; JAROS, D. Lactic Acid Bacteria: Exopolysaccharides. **Encyclopedia of Dairy Sciences**. Academic Press, 2021. p. 160–167. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22982-X>.

MIDIK, F.; TOKATLI, M.; ELMACI, S. B.; ÖZÇELİK, F. Influence of different culture conditions on exopolysaccharide production by indigenous lactic acid bacteria isolated from pickles. **Archives of Microbiology**, vol. 202, no. 4, p. 875–885, 2020. <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01799-6>.

MIYAMOTO, J.; SHIMIZU, H.; HISA, K.; MATSUZAKI, C.; INUKI, S.; ANDO, Y.; NISHIDA, A.; IZUMI, A.; YAMANO, M.; USHIRODA, C.; IRIE, J.; KATAYAMA, T.; OHNO, H.; ITOH, H.; YAMAMOTO, K.; KIMURA, I. Host metabolic benefits of prebiotic exopolysaccharides produced by *Leuconostoc mesenteroides*. **Gut Microbes**, vol. 15, no. 1, p. 2161271, 2023. <https://doi.org/10.1080/19490976.2022.2161271>.

MOGHIMI, B.; DANA, M. G.; SHAPOURI, R. Investigation of some antibiotic resistance genes of indigenous Lactobacilli isolated From traditional yogurt in Zanjan province of Iran. **Research Square**, 2021. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-612605/v1>.

MOKOENA, M. P. Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins: Classification, Biosynthesis and Applications against Uropathogens: A Mini-Review. **Molecules**, vol. 22, no. 8, p. 1255, 2017. <https://doi.org/10.3390/molecules22081255>.

MORADI, M.; GUIMARÃES, J. T.; SAHIN, S. Current applications of exopolysaccharides from lactic acid bacteria in the development of food active edible packaging. **Current Opinion in Food Science**, vol. 40, p. 33–39, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.06.001>.

NADZIR, M. M.; NURHAYATI, R. W.; IDRIS, F. N.; NGUYEN, M. H. Biomedical applications of bacterial exopolysaccharides: a review. **Polymers**, vol. 13, no. 4, p. 530, 2021. <https://doi.org/10.3390/polym13040530>.

NAMI, Y.; PANAHI, B.; MOHAMMADZADEH JALALY, H.; HEJAZI, M. A. Isolation and assessment of novel exopolysaccharide-producing *Weissella confusa* ABRIIFBI-96 isolated from an Iranian homemade dairy fermented food “Tof” as a main starter culture for probiotic fermented milk. **LWT**, vol. 197, p. 115910, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.115910>.

NASROLLAHZADEH, M.; SAJJADI, M.; NEZAFAT, Z.; SHAFIEI, N. Polysaccharide biopolymer chemistry. **Biopolymer-Based Metal Nanoparticle Chemistry for Sustainable Applications**, p. 45–105, 2021. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-822108-2.00019-3>.

NEMATI, V.; MOZAFARPOUR, R. Exopolysaccharides isolated from fermented milk-associated lactic acid bacteria and applied to produce functional value-added probiotic yogurt. **LWT**, vol. 199, p. 116116–116116, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116116>.

NETRUSOV, A. I.; LIYASKINA, E. V.; KURGAEVA, I. V.; LIYASKINA, A. U.; YANG, G.; REVIN, V. V. Exopolysaccharides producing bacteria: a review. **Microorganisms**, vol. 11, no. 6, p. 1541, 2023. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061541>.

NEUBERGER, A.; DU, D.; LUISI, B. F. Structure and mechanism of bacterial tripartite efflux pumps. **Research in Microbiology**, vol. 169, no. 7-8, p. 401–413, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2018.05.003>.

OMOGBAI, B.; IKENEBOMEH, M. J.; OJEABURU, S. I. Microbial utilization of stachyose in soymilk yogurt production. **African Journal of Biotechnology**, vol. 4, no. 9, p. 905–908, 2005.

ÖZER, B.; KIRMACI, H. A. Fermented Milks | Products of Eastern Europe and Asia.

Elsevier eBooks, p. 900–907, 2014. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-384730-0.00123-3>.

PACHEKREPAPOL, U.; LUCEY, J. A.; GONG, Y.; NARAN, R.; AZADI, P.

Characterization of the chemical structures and physical properties of exopolysaccharides produced by various *Streptococcus thermophilus* strains. **Journal of Dairy Science**, vol. 100, no. 5, p. 3424–3435, 2017. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12125>.

PALANIVELU, J.; THANIGAIVEL, S.; VICKRAM, S.; DEY, N.; MIHAYLOVA, D.;

DESSEVA, I. Probiotics in Functional Foods: Survival Assessment and Approaches for Improved Viability. **Applied Sciences**, vol. 12, no. 1, p. 455, 2022.

<https://doi.org/10.3390/app12010455>.

PAPADOPOULOU, O. S.; ARGYRI, A. A.; VARZAKIS, E. E.; TASSOU, C. C.;

CHORIANOPOULOS, N. G. Greek functional Feta cheese: Enhancing quality and safety using a *Lactobacillus plantarum* strain with probiotic potential. **Food Microbiology**, vol. 74, p. 21–33, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.02.005>.

PARKER, M. N.; LOPETCHARAT, K.; DRAKE, M. A. Consumer acceptance of natural sweeteners in protein beverages. **Journal of Dairy Science**, vol. 101, no. 10, p. 8875–8889, 2018. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14707>.

PATEL, S.; MAJUMDER, A.; GOYAL, A. Potentials of exopolysaccharides from lactic acid bacteria. **Indian Journal of Microbiology**, vol. 52, no. 1, p. 3–12, 2011.

<https://doi.org/10.1007/s12088-011-0148-8>.

PAWLOS, M.; SZAJNAR, K.; ZNAMIROWSKA-PIOTROWSKA, A. Probiotic milk and

oat beverages with increased protein content: survival of probiotic bacteria under simulated *in vitro* digestion conditions. **Nutrients**, vol. 16, no. 21, p. 3673–3673, 2024.

<https://doi.org/10.3390/nu16213673>.

PÉREZ-BURGOS, M.; GARCÍA-ROMERO, I.; JUNG, J.; SCHANDER, E.; VALVANO, M.

A.; SØGAARD-ANDERSEN, L. Characterization of the exopolysaccharide biosynthesis pathway in *Myxococcus xanthus*. **Journal of bacteriology**, vol. 202, no. 19, 2020.

<https://doi.org/10.1128/jb.00335-20>.

PETROVIĆ, T. Ž.; ILIĆ, P.; MLADENović, M.; DJILAS, M.; TANACKOV, S. K.; ČOMIĆ, L. Probiotic potential of *Lactobacillus* and *Leuconostoc* strains isolated from traditional spontaneously fermented sheep ham. **The Journal of Animal and Plant Sciences**, vol. 32, no. 3, 2021. <https://doi.org/10.36899/japs.2022.3.0487>.

PIENIZ, S.; DE MOURA, T. M.; CASSENEGO, A. P. V.; ANDREAZZA, R.; FRAZZON, A. P. G.; CAMARGO, F. A. de O.; BRANDELLI, A. Evaluation of resistance genes and virulence factors in a food isolated *Enterococcus durans* with potential probiotic effect. **Food Control**, vol. 51, p. 49–54, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.11.012>.

PRETE, R.; DELL'ORCO, F.; SABATINI, G.; MONTAGANO, F.; BATTISTA, N.; CORSETTI, A. Improving the antioxidant and anti-inflammatory activity of fermented milks with exopolysaccharides-producing *Lactiplantibacillus plantarum* strains. **Foods**, vol. 13, no. 11, p. 1663, 2024. <https://doi.org/10.3390/foods13111663>.

RAMOS, I. M.; SESEÑA, S.; POVEDA, J. M.; PALOP, M. L. Screening of actic acid bacteria strains to improve the properties of non-fat set yogurt by in situ EPS production. **Food and Bioprocess Technology**, vol. 16, no. 11, p. 2541–2558, 2023. <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03080-7>.

RANA, S.; UPADHYAY, L. S. B. Microbial exopolysaccharides: Synthesis pathways, types and their commercial applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, vol. 157, p. 577–583, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.084>.

RAZAVI, R.; TAJIK, H.; MORADI, M.; MOLAEI, R.; EZATI, P. Antimicrobial, microscopic and spectroscopic properties of cellulose paper coated with chitosan sol-gel solution formulated by epsilon-poly-l-lysine and its application in active food packaging. **Carbohydrate Research**, vol. 489, p. 107912, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2020.107912>.

RINNINELLA, E.; RAOUL, P.; CINTONI, M.; FRANCESCHI, F.; MIGGIANO, G.; GASBARRINI, A.; MELE, M. What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. **Microorganisms**, vol. 7, no. 1, p. 14, 2019. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7010014>.

RUAS-MADIEDO, P.; SALAZAR, N.; CLARA, G. Biosynthesis and chemical composition of exopolysaccharides. **Bacterial Polysaccharides: Current Innovations and Future Trends**. United Kingdom: Caister Academic Press, 2009.

SCHIFANO, E.; TOMASSINI, A.; PREZIOSI, A.; MONTES, J.; AURELI, W.; MANCINI, P.; MICCHELI, A.; UCCELLETTI, D. *Leuconostoc mesenteroides* strains isolated from carrots show probiotic features. **Microorganisms**, vol. 9, no. 11, p. 2290, 2021. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112290>.

SHAH, N. P. Probiotic Bacteria: Selective Enumeration and Survival in Dairy Foods. **Journal of Dairy Science**, vol. 83, no. 4, p. 894–907, 2000. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(00\)74953-8](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(00)74953-8).

SHAHBAZI, S.; NATEGHI, L.; AGHABABYAN, A. Effect of fatty acids on hydrophobicity of the cell membrane of *Lactobacillus* species. **Applied Food Biotechnology**, vol. 3, no. 3, p. 194–200, 2016. <https://doi.org/10.22037/afb.v3i3.12375>.

SHOKRYAZDAN, P.; JAHROMI, M. F.; LIANG, J. B.; HO, Y. W. Probiotics: from isolation to application. **Journal of the American College of Nutrition**, vol. 36, no. 8, p. 666–676, 2017. <https://doi.org/10.1080/07315724.2017.1337529>.

SINGH, R.; DE, S.; BELKHEIR, A. Avena sativa(Oat), A Potential Nutraceutical and Therapeutic Agent: An Overview. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, vol. 53, no. 2, p. 126–144, 2013. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.526725>.

SØRENSEN, H. M.; ROCHFORD, K. D.; MAYE, S.; MACLEOD, G.; BRABAZON, D.; LOSCHER, C.; FREELAND, B. Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: production, purification and health benefits towards functional food. **Nutrients**, vol. 14, no. 14, p. 2938, 2022. <https://doi.org/10.3390/nu14142938>.

SUTHERLAND, I. W. Bacterial exopolysaccharides. **Advances in microbial physiology/Advances in Microbial Physiology**, p. 143–213, 1972. [https://doi.org/10.1016/s0065-2911\(08\)60190-3](https://doi.org/10.1016/s0065-2911(08)60190-3).

TANG, Y.; LI, S.; YAN, J.; PENG, Y.; WENG, W.; YAO, X.; GAO, A.; CHENG, J.; RUAN, J.; XU, B. Bioactive Components and Health Functions of Oat. **Food Reviews International**, p. 1–20, 2022. <https://doi.org/10.1080/87559129.2022.2029477>.

TAYLAN, O.; YILMAZ, M. T.; DERTLI, E. Partial characterization of a levan type exopolysaccharide (EPS) produced by *Leuconostoc mesenteroides* showing immunostimulatory and antioxidant activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, vol. 136, p. 436–444, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.078>.

TIAN, H.; GU, Y.; LV, Z.; WANG, L. The exopolysaccharides produced by *Leuconostoc mesenteroides* XR1 and its effect on silk drawing phenomenon of yoghurt. **International Journal of Biological Macromolecules**, vol. 262, p. 129952–129952, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129952>.

TRIANTAFYLLOU, A. **A liquid oat base and a process for preparing it using protein-deamidase. WO2014/123466A1. World Intellectual Property Organization**, 2014. Available at: <https://patents.google.com/patent/CA2899717C/en>.

VIJAYALAKSHMI, S.; KIM, J.-R.; CHELLIAH, R.; BARATHIKANNAN, K.; HIRAD, A. H.; OH, D.-H. Structural characterization and immunomodulatory activity of an Exopolysaccharide produced by probiotic *Leuconostoc mesenteroides* 201607 isolated from fermented food. **Applied microbiology**, vol. 4, no. 1, p. 329–340, 2024. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol4010022>.

VINDEROLA, C. G.; REINHEIMER, J. A. Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative “*in vitro*” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. **Food Research International**, vol. 36, no. 9-10, p. 895–904, 2003. [https://doi.org/10.1016/s0963-9969\(03\)00098-x](https://doi.org/10.1016/s0963-9969(03)00098-x).

VINHOLES, J.; GROSSO, C.; ANDRADE, P. B.; GIL-IZQUIERDO, A.; VALENTÃO, P.; PINHO, P. G. de; FERRERES, F. *In vitro* studies to assess the antidiabetic, anti-cholinesterase and antioxidant potential of *Spergularia rubra*. **Food Chemistry**, vol. 129, no. 2, p. 454–462, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.098>.

WANG, B.; SONG, Q.; ZHAO, F.; HAN, Y.; ZHOU, Z. Production optimization, partial characterization and properties of an exopolysaccharide from *Lactobacillus sakei* L3. **International Journal of Biological Macromolecules**, vol. 141, p. 21–28, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.241>.

WANG, L.; GU, Y.; ZHENG, X.; ZHANG, Y.; DENG, K.; WU, T.; CHENG, H. Analysis of physicochemical properties of exopolysaccharide from *Leuconostoc mesenteroides* strain XR1 and its application in fermented milk. **LWT**, vol. 146, p. 111449, 2021.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111449>.

WANG, L.; TIAN, H.; LIU, W.; ZHENG, H.; WU, H.; GUAN, Y.; LU, Q.; ZILI LV. Effects of EPS-producing *Leuconostoc mesenteroides* XR1 on texture, rheological properties, microstructure and volatile flavor of fermented milk. **Food Bioscience**, vol. 56, p. 103371–103371, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103371>.

WANG, Y.; WU, J.; LV, M.; SHAO, Z.; HUNGWE, M.; WANG, J.; BAI, X.; XIE, J.; WANG, Y.; GENG, W. Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, vol. 9, no. 612285, 2021. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285>.

WEGH, C. A. M.; GEERLINGS, S. Y.; KNOL, J.; ROESELERS, G.; BELZER, C. Postbiotics and their potential applications in early life nutrition and beyond. **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 20, no. 19, p. 4673, 2019. <https://doi.org/10.3390/ijms20194673>.

WERNING, M. L.; HERNÁNDEZ-ALCÁNTARA, A. M.; RUIZ, M. J.; SOTO, L. P.; DUEÑAS, M. T.; LÓPEZ, P.; FRIZZO, L. S. Biological functions of exopolysaccharides from lactic acid bacteria and their potential benefits for humans and farmed animals. **Foods**, vol. 11, no. 9, p. 1284–1284, 2022. <https://doi.org/10.3390/foods11091284>.

WU, J.; HAN, X.; YE, M.; LI, Y.; WANG, X.; ZHONG, Q. Exopolysaccharides synthesized by lactic acid bacteria: biosynthesis pathway, structure-function relationship, structural modification and applicability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, vol. 63, no. 24, p. 7043–7064, 2023. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2043822>.

XING, H.; DU, R.; ZHAO, F.; HAN, Y.; XIAO, H.; ZHOU, Z. Optimization, chain conformation and characterization of exopolysaccharide isolated from *Leuconostoc mesenteroides* DRP105. **International Journal of Biological Macromolecules**, vol. 112, p. 1208–1216, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.02.068>.

XU, D.; HU, Y.; WU, F.; JIN, Y.; XU, X.; GÄNZLE, M. G. Comparison of the functionality of exopolysaccharides produced by sourdough lactic acid bacteria in bread and steamed bread. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 68, no. 33, p. 8907–8914, 2020. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c02703>.

XUN, S.; ZHAO, J.; ZHENG, L.; CHEN, X.; ZHANG, X. Flow and heat transfer of Ostwald-de Waele fluid over a variable thickness rotating disk with index decreasing. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, vol. 103, p. 1214–1224, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ijheatmasstransfer.2016.08.066>.

YEHUALA, G. A.; SHIBESHI, N. T.; KIM, S.-H.; PARK, M.-K. Characterization of autochthonous lactic acid bacteria isolated from a traditional Ethiopian beverage, Tella. **Foods**, vol. 13, no. 4, p. 575–575, 2024. <https://doi.org/10.3390/foods13040575>.

ZANNINI, E.; WATERS, D. M.; COFFEY, A.; ARENDT, E. K. Production, properties, and industrial food application of lactic acid bacteria-derived exopolysaccharides. **Applied Microbiology and Biotechnology**, vol. 100, no. 3, p. 1121–1135, 2015. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7172-2>.

ZAPAŚNIK, A.; SOKOŁOWSKA, B.; BRYŁA, M. Role of lactic acid bacteria in food preservation and safety. **Foods**, vol. 11, no. 9, p. 1283, 2022. <https://doi.org/10.3390/foods11091283>.

ZHANG, K.; LIU, S.; LIANG, S.; XIANG, F.; WANG, X.; LIAN, H.; LI, B.; LIU, F. Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: Structure, biological activity, structure-activity relationship, and application in the food industry: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, vol. 257, p. 128733–128733, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128733>.

ZHENG, J.; WITTOUCK, S.; SALVETTI, E.; FRANZ, C. M. A. P.; HARRIS, H. M. B.; MATTARELLI, P.; O'TOOLE, P. W.; POT, B.; VANDAMME, P.; WALTER, J.; WATANABE, K.; WUYTS, S.; FELIS, G. E.; GÄNZLE, M. G.; LEBEER, S. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, vol. 70, no. 4, p. 2782–2858, 2020. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>.

ZIARNO, M.; CICHONSKA, P. Lactic acid bacteria-fermentable cereal- and pseudocereal-based beverages. **Microorganisms**, vol. 9, no. 12, p. 2532, 2021. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9122532>.

ZIARNO, M.; ZAREBA, D.; KOWALSKA, E.; FLOROWSKI, T. The effect of varying oat beverage ratios on the characteristics of fermented dairy–oat beverages. **Applied Sciences**, vol. 15, no. 6, p. 3219–3219, 2025. <https://doi.org/10.3390/app15063219>.

APÊNDICE A

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e Formulário de Painelistas Treinados

Análise Sensorial - Bebida Láctea Fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia - Treinados

* Indica uma pergunta obrigatória

1. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO *

Introdução: Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) tem como objetivo fornecer informações sobre a análise sensorial de uma bebida láctea fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia, da qual você está sendo convidado(a) a participar. Solicitamos que você leia com atenção e tire todas as suas dúvidas antes de concordar com os termos descritos.

Objetivo do estudo: O presente estudo visa avaliar a textura de uma nova formulação de bebida láctea fermentada contendo extrato hidrossolúvel de aveia. A análise incluirá aspectos **consistência e viscosidade**.

Procedimentos: Caso aceite participar, você será solicitado(a) a:
Degustar amostras da bebida láctea fermentada em um ambiente controlado. Avaliar os atributos de textura e viscosidade, preenchendo o questionário específico para registrar suas impressões. O tempo estimado para a participação é de aproximadamente 30 minutos.

Benefícios: Não haverá benefícios diretos para você ao participar do estudo, no entanto, suas respostas contribuirão para o desenvolvimento de produtos alimentícios de maior qualidade e aceitação.

Riscos: Os riscos associados à participação são mínimos. No entanto, caso você tenha alergia ou intolerância a algum dos componentes do produto (leite ou aveia, por exemplo), pedimos que não participe. Em caso de qualquer desconforto durante a degustação, você pode interromper sua participação a qualquer momento sem prejuízo.

Confidencialidade: Todas as informações fornecidas serão mantidas sob sigilo, e sua identidade será preservada. Os dados coletados serão usados exclusivamente para fins de pesquisa e serão divulgados de forma anônima.

Voluntariedade e direito de recusa: Sua participação é inteiramente voluntária, e você pode recusar-se a participar ou desistir a qualquer momento, sem necessidade de justificativa e sem qualquer prejuízo ou penalização.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Pelotas e registrado na Plataforma Brasil CAAE (Certificado de Apresentação para Apreciação 718 Ética) sob o parecer nº 76600723.8.0000.5317

Caso tenha dúvidas ou necessite de mais informações, entre em contato com o responsável pelo estudo:

Nome do Pesquisador Responsável: Silvana de Souza Sigali

Instituição: Universidade Federal de Pelotas

Telefone: (53) 999315250

E-mail: silvanasigali@gmail.com

"Declaro que fui devidamente informado(a) sobre os objetivos, procedimentos, riscos e benefícios do estudo, e concordo voluntariamente em participar da análise sensorial da bebida láctea fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia. Compreendo que posso desistir da participação a qualquer momento, sem qualquer penalidade."

Marcar apenas uma oval.

☐ Concordo Pular para a pergunta 2

☐ Não concordo

Teste de Consistência

2. Você está recebendo uma amostra identificada como P (padrão) e uma amostra codificada como 625. *

Primeiramente, compare a consistência derramando o conteúdo da colher sobre o copo e observe a velocidade com que o líquido escorre.

Lave a colher no copo com água entre as amostras.

Identifique se a amostra codificada é melhor, igual ou inferior ao padrão no quesito consistência.

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Extremamente melhor
- ☐ Muito melhor
- ☐ Moderadamente melhor
- ☐ Ligeiramente melhor
- ☐ Igual ao padrão
- ☐ Ligeiramente inferior
- ☐ Moderadamente inferior
- ☐ Muito inferior
- ☐ Extremamente inferior

3. Comentários sobre o teste de consistência

Teste de Viscosidade

4. Você está recebendo uma amostra identificada como P (padrão) e uma amostra codificada 625. *

Compare a viscosidade sorvendo a bebida com o auxílio da colher e observe o esforço aplicado.

Lave a colher no copo com água entre as amostras.

Identifique se a amostra codificada é melhor, igual ou inferior ao padrão no quesito fluidez.

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Extremamente melhor
- ☐ Muito melhor
- ☐ Moderadamente melhor
- ☐ Ligeiramente melhor
- ☐ Igual ao padrão
- ☐ Ligeiramente inferior
- ☐ Moderadamente inferior
- ☐ Muito inferior
- ☐ Extremamente inferior

5. Comentários sobre o teste de viscosidade

APÊNDICE B

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e Formulário para Avaliadores

Análise Sensorial Bebida Láctea Fermentada com Extrato de Aveia - Consumidor

* Indica uma pergunta obrigatória

1. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO *

Introdução: Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) tem como objetivo fornecer informações sobre a análise sensorial de uma bebida láctea fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia, da qual você está sendo convidado(a) a participar. Solicitamos que você leia com atenção e tire todas as suas dúvidas antes de concordar com os termos descritos.

Objetivo do estudo: O presente estudo visa avaliar os atributos de cor, aroma, sabor, textura, aspecto global e intenção de compra de uma nova formulação de bebida láctea fermentada contendo extrato hidrossolúvel de aveia.

Procedimentos: Caso aceite participar, você será solicitado(a) a:

Degustar amostras da bebida láctea fermentada em um ambiente controlado. Avaliar os atributos de cor, aroma, sabor, textura, aspecto global e intenção de compra preenchendo o questionário específico para registrar suas impressões. O tempo estimado para a participação é de aproximadamente 30 minutos.

Benefícios: Não haverá benefícios diretos para você ao participar do estudo, no entanto, suas respostas contribuirão para o desenvolvimento de produtos alimentícios de maior qualidade e aceitação.

Riscos: Os riscos associados à participação são mínimos. No entanto, caso você tenha alergia ou intolerância a algum dos componentes do produto (**leite ou aveia, por exemplo**), pedimos que não participe. Em caso de qualquer desconforto durante a degustação, você pode interromper sua participação a qualquer momento sem prejuízo.

Confidencialidade: Todas as informações fornecidas serão mantidas sob sigilo, e sua identidade será preservada. Os dados coletados serão usados exclusivamente para fins de pesquisa e serão divulgados de forma anônima.

Voluntariedade e direito de recusa: Sua participação é inteiramente voluntária, e você pode recusar-se a participar ou desistir a qualquer momento, sem necessidade de justificativa e sem qualquer prejuízo ou penalização.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Pelotas e registrado na Plataforma Brasil CAAE (Certificado de Apresentação para Apreciação 718 Ética) sob o parecer nº 76600723.8.0000.5317

Caso tenha dúvidas ou necessite de mais informações, entre em contato com o responsável pelo estudo:

Nome do Pesquisador Responsável: Silvana de Souza Sigali

Instituição: Universidade Federal de Pelotas

Telefone: (53) 999315250

E-mail: silvanasigali@gmail.com

"Declaro que fui devidamente informado(a) sobre os objetivos, procedimentos, riscos e benefícios do estudo, e concordo voluntariamente em participar da análise sensorial da bebida láctea fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia. Compreendo que posso desistir da participação a qualquer momento, sem qualquer penalidade."

Marque todas que se aplicam.

☐ Concordo

☐ Não concordo

Você está recebendo uma amostra de **bebida láctea fermentada com extrato de aveia**. Avalie cuidadosamente a amostra e utilize a escala para descrever o quanto você gostou ou desgostou da amostra em relação a cada um dos atributos

2. Gênero *

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Feminino
- ☐ Masculino
- ☐ Outro: _____

3. Faixa etária *

Marcar apenas uma oval.

- ☐ 18 - 25 anos
- ☐ 26 - 33 anos
- ☐ 34 - 40 anos
- ☐ 41 - 50 anos
- ☐ 51 - 60 anos
- ☐ 60+ anos

4. Cor *

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Desgostei muitíssimo
- ☐ Desgostei muito
- ☐ Desgostei regularmente
- ☐ Desgostei ligeiramente
- ☐ Indiferente
- ☐ Gostei ligeiramente
- ☐ Gostei regularmente
- ☐ Gostei muito
- ☐ Gostei muitíssimo

5. **Aroma ***

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Desgostei muitíssimo
- ☐ Desgostei muito
- ☐ Desgostei regularmente
- ☐ Desgostei ligeiramente
- ☐ Indiferente
- ☐ Gostei ligeiramente
- ☐ Gostei regularmente
- ☐ Gostei muito
- ☐ Gostei muitíssimo

6. **Sabor ***

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Desgostei muitíssimo
- ☐ Desgostei muito
- ☐ Desgostei regularmente
- ☐ Desgostei ligeiramente
- ☐ Indiferente
- ☐ Gostei ligeiramente
- ☐ Gostei regularmente
- ☐ Gostei muito
- ☐ Gostei muitíssimo

7. **Textura ***

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Desgostei muitíssimo
- ☐ Desgostei muito
- ☐ Desgostei regularmente
- ☐ Desgostei ligeiramente
- ☐ Indiferente
- ☐ Gostei ligeiramente
- ☐ Gostei regularmente
- ☐ Gostei muito
- ☐ Gostei muitíssimo

8. **Aspecto Global ***

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Desgostei muitíssimo
- ☐ Desgostei muito
- ☐ Desgostei regularmente
- ☐ Desgostei ligeiramente
- ☐ Indiferente
- ☐ Gostei ligeiramente
- ☐ Gostei regularmente
- ☐ Gostei muito
- ☐ Gostei muitíssimo

9. Comentários:

Teste de intenção de compra

10. Avalie a amostra segundo a sua intenção de consumo, utilizando a escala abaixo: *

Marcar apenas uma oval.

- ☐ Compraria sempre
- ☐ Compraria muito frequentemente
- ☐ Compraria frequentemente
- ☐ Compraria ocasionalmente
- ☐ Compraria raramente
- ☐ Compraria muito raramente
- ☐ Nunca compraria

11. Comentários

APÊNDICE C

Parâmetros de qualidade da bebida láctea fermentada com extrato hidrossolúvel de aveia (FDBO).

	UFC/mL	m (UFC) (limite inferior)	M (UFC) (limite superior)
<i>Salmonella</i> spp/25 mL	Ausência	Ausência	-
<i>Escherichia coli</i> /mL	<1	3	10
Bolores e Leveduras/mL	68,75	10 ²	10 ³

m: limite inferior aceitável de contagem de microrganismos

M: limite superior de contagem de microrganismos

Fonte: Brasil, 2022

ANEXO

Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Huma

FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PELOTAS - UFPEL



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS PROBIÓTICAS: PRODUÇÃO E AVALIAÇÃO DE EXOPOLISSACARÍDEOS COMO AGENTE TECNOLÓGICO EM PRODUTOS

Pesquisador: SILVANA DE SOUZA SIGALI

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 76600723.8.0000.5317

Instituição Proponente: Faculdade de Medicina

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.602.496

Apresentação do Projeto:

Conforme o pesquisador responsável:

Resumo - Já está estabelecido que algumas bactérias ácido-láticas são capazes de produzir um metabólito chamado exopolissacarídeo (EPS). Os exopolissacarídeos são carboidratos de cadeia longa e alta massa molecular e sua aplicação em produtos lácteos é de interesse tecnológico uma vez que sua presença pode proporcionar maior viscosidade e cremosidade. Aliado a isso, este estudo propõe a busca por uma bactéria ácido-lática que além de produzir exopolissacarídeos, também possua potencial probiótico. O objetivo do estudo é avaliar o efeito da produção de exopolissacarídeos por uma bactéria ácido-lática com potencial probiótico em uma bebida láctea fermentada com extrato de aveia nas propriedades físico-químicas, reológicas e sensoriais. Serão preparadas três bebidas lácteas fermentadas com extrato de aveia em três diferentes temperaturas de fermentação contendo a cultura iniciadora *Streptococcus thermophilus* e a cepa produtora de EPS e, uma bebida láctea com extrato de aveia (controle), contendo apenas a cultura iniciadora *Streptococcus thermophilus*. Serão realizadas as análises de quantificação de EPS, parâmetros microbiológicos exigidos pela Instrução Normativa 161 de julho de 2022 (*Salmonella*/25g, *Escherichia coli* e bolores e leveduras). Também, a viabilidade da bactéria ácido-lática probiótica no produto e no trato gastrointestinal simulado. Em análises físico-químicas serão realizadas análises de lipídeos, proteínas, fibras, cinzas, umidade, carboidratos, pH, acidez titulável e atividade antioxidante. Também serão avaliadas a viscosidade e a sinérese. Por fim, será realizada

Endereço: Av Duque de Caxias 250, prédio da Direção - Térreo, sala 03

Bairro: Fragata

CEP: 96.030-001

UF: RS

Município: PELOTAS

Telefone: (53)3310-1801

Fax: (53)3221-3554

E-mail: cepfamed@ufpel.edu.br

FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PELOTAS - UFPEL



Continuação do Parecer: 6.602.496

avaliação sensorial, através dos testes duo-trio e intenção de compra com painelistas que receberão treinamento, onde serão apresentadas cinco escalas de texturas sendo a menos viscosa o leite puro e a mais viscosa um iogurte comercial. A viscosidade poderá ser avaliada tanto pela fluidez com que se movimenta para fora da colher como sentindo a viscosidade dentro da boca. É esperado que a presença de bactérias ácido-láticas produtoras de exopolissacarídeos afetem positivamente a viscosidade da bebida láctea produzida.

Metodologia - O projeto será realizado com repetição biológica e as análises microbiológicas, físico-químicas, reológicas e sensoriais serão realizadas em triplicata nos tempos 0, 7, 14, 21 e 28 dias. **Elaboração da bebida láctea fermentada com extrato de aveia:** a produção do extrato de aveia e da bebida láctea fermentada seguirá o procedimento utilizado por Klajn et al. (2021) e Funk et al. (2019). Para cada 500 g de aveia em flocos são adicionados 750 mL de água e mantido de molho por 1 h, triturados em processador de alimentos e peneirados em peneira fina. O extrato líquido permanecerá sob refrigeração até o preparo da bebida láctea. A bebida láctea conterá 40% de leite em pó sem lactose, 30% de soro de leite, 30% do extrato de aveia e 10% de açúcar. Passará por tratamento térmico e será adicionada a cultura iniciadora *Streptococcus thermophilus* e a bactéria probiótica produtora de EPS. O processo fermentativo ocorrerá em 3 tratamentos com 3 diferentes temperaturas e o controle somente com a cultura iniciadora *Streptococcus thermophilus*. **Análises:** A extração e quantificação do EPS produzido será avaliada seguindo as metodologias de Dabour et al. (2005), Ali et al. (2020), Lima et al. (2008) e DuBois et al. (1956). Os parâmetros microbiológicos serão avaliados segundo APHA (2015) para os microrganismos exigidos na Instrução Normativa 161 de julho de 2022 que são *Salmonella*, *Escherichia coli* e *Bolores e Leveduras*. A viabilidade da bactéria probiótica ao longo do armazenamento será avaliada segundo APHA (2015) e a simulação do trato gastrointestinal seguirá a metodologia de Huang e Adams (2004). As análises de lipídeos, proteínas, umidade e pH seguirão as metodologias de Adolfo Lutz (2008). Para determinação de fibras será utilizada a metodologia de Brasil (2008) e para acidez titulável, Brasil (2022). A atividade antioxidante será determinada pela captura do radical livre DPPH e, também, pela captura do radical livre ABTS^{•+}, ambas pelas metodologias de Rufino et al. (2007). Para determinação da viscosidade do produto será utilizada a metodologia de Freire (2023) e a determinação da sinérese utilizará como base a metodologia de Farnsworth et al. (2006), com modificações de Freire (2023). Para a análise sensorial será realizada uma avaliação através do teste duo-trio e teste de intenção de compra. Para avaliação da bebida láctea fermentada com extrato de aveia será realizada a análise sensorial com 15 painelistas treinados, através do Teste Duo-Trio no 28º dia de armazenamento com a finalidade de determinar se existe

Endereço: Av Duque de Caxias 250, prédio da Direção - Térreo, sala 03
Bairro: Fragata **CEP:** 96.030-001
UF: RS **Município:** PELOTAS
Telefone: (53)3310-1801 **Fax:** (53)3221-3554 **E-mail:** cepfamed@ufpel.edu.br

FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PELOTAS - UFPEL



Continuação do Parecer: 6.602.496

diferença sensorial entre uma amostra referência (comercial) e 2 amostras elaboradas no estudo, quanto a viscosidade. Após a escolha da amostra no teste duo-trio, a mesma será Avaliada quanto a intenção de compra. Os painelistas serão convidados para participar da pesquisa e assinarão o TCLE, após concordarem em participar e serem esclarecidos quanto à justificativa, objetivos, procedimentos, riscos e benefícios da pesquisa, sobre a privacidade e confidencialidade e sobre a participação voluntária na pesquisa, serão informados do direito de desistir e retirar seu consentimento a qualquer momento. As orientações e esclarecimentos serão feitos antes de ser realizada a análise sensorial do produto. Também será esclarecido sobre os aspectos éticos, deixando os avaliadores cientes de que o produto não oferece nenhum risco à saúde, já que este passará por análises microbiológicas com o objetivo de certificar que o alimento está em conformidade com os padrões higiênico-sanitários exigidos pela legislação. Após os devidos esclarecimentos, o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), deverá ser apresentado aos interessados, firmando as suas participações na avaliação sensorial do produto. Todas as análises sensoriais envolvendo este projeto serão realizadas no Laboratório de Análise Sensorial da Universidade Federal de Pelotas, em cabines individuais.

Objetivo da Pesquisa:

Conforme o pesquisador responsável:

Objetivo Primário:

Avaliar o efeito da produção de EPS por bactéria ácido-lática probiótica em bebida láctea fermentada com extrato de aveia nas propriedades físico-químicas, reológicas e sensoriais, durante o armazenamento em refrigeração.

Objetivos Secundários:

- Elaborar uma bebida láctea fermentada com extrato de aveia;
- Determinar a melhor temperatura de fermentação para produção de EPS em bebida láctea com extrato de aveia;
- Quantificar a produção de EPS em uma bebida láctea fermentada com extrato de aveia;
- Determinar as propriedades físico-químicas e reológicas da bebida láctea fermentada com extrato de aveia;
- Avaliar a viabilidade da bactéria probiótica durante o armazenamento do produto e nas condições do TGI simuladas e os parâmetros microbiológicos em bebida láctea fermentada com

Endereço: Av Duque de Caxias 250, prédio da Direção - Térreo, sala 03
Bairro: Fragata **CEP:** 96.030-001
UF: RS **Município:** PELOTAS
Telefone: (53)3310-1801 **Fax:** (53)3221-3554 **E-mail:** cepfamed@ufpel.edu.br

FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PELOTAS - UFPEL



Continuação do Parecer: 6.602.496

extrato de aveia;

- Avaliar sensorialmente a bebida láctea produzida com BAL produtoras de EPS.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Conforme o pesquisador responsável:

Riscos:

O produto a ser desenvolvido não oferece riscos à saúde do consumidor, em virtude de que a cultura iniciadora utilizada *Streptococcus thermophilus*, é uma cultura comercial, já aplicada em alimentos, assim como os demais ingredientes, os quais serão e informados aos painelistas. No entanto, não deve participar aquele que possuir algum tipo de alergia e/ou reação adversa aos componentes da formulação: leite em pó integral sem lactose, soro de leite, extrato de aveia e açúcar. A bactéria produtora de exopolissacarídeos será identificada molecularmente e passará por todos os testes de segurança (DNase, gelatinase, hemolisina e susceptibilidade a antimicrobianos) para que assim possa ser aplicada em alimentos. As Boas Práticas de Fabricação (BPF), serão aplicadas durante o processamento e armazenamento do produto, serão realizadas análises microbiológicas a cada período que antecede a avaliação sensorial, a fim de que se possa monitorar a segurança microbiológica do produto.

Benefícios:

A bebida láctea fermentada com extrato de aveia apresentará potencial probiótico, ou seja, proverá benefícios a saúde daquele que a consome regularmente como a diminuição dos níveis de colesterol, aumento da tolerância a lactose, facilitação da digestão e maior resistência a infecções que podem afetar o trato gastrointestinal. Os painelistas que participarem da pesquisa, estarão contribuindo para o desenvolvimento de um novo produto fermentado, que será uma alternativa de consumo para a população em geral, em qualquer faixa etária.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto de Pesquisa do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFPel.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

OK

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto aprovado. O projeto não apresenta pendências.

Endereço: Av Duque de Caxias 250, prédio da Direção - Térreo, sala 03

Bairro: Fragata

CEP: 96.030-001

UF: RS

Município: PELOTAS

Telefone: (53)3310-1801

Fax: (53)3221-3554

E-mail: cepfamed@ufpel.edu.br

**FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PELOTAS - UFPEL**



Continuação do Parecer: 6.602.496

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2254790.pdf	27/11/2023 16:04:09		Aceito
Outros	FICHADANALISESENSORIAL.pdf	27/11/2023 15:36:09	SILVANA DE SOUZA SIGALI	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.pdf	27/11/2023 15:34:02	SILVANA DE SOUZA SIGALI	Aceito
Outros	Oficiodeencaminhamento.pdf	27/11/2023 15:13:20	SILVANA DE SOUZA SIGALI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	27/11/2023 15:09:40	SILVANA DE SOUZA SIGALI	Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRosto.pdf	27/11/2023 15:03:36	SILVANA DE SOUZA SIGALI	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PELOTAS, 27 de Dezembro de 2023

Assinado por:
Patricia Abrantes Duval
(Coordenador(a))

Endereço: Av Duque de Caxias 250, prédio da Direção - Térreo, sala o3
Bairro: Fragata **CEP:** 96.030-001
UF: RS **Município:** PELOTAS
Telefone: (53)3310-1801 **Fax:** (53)3221-3554 **E-mail:** cepfamed@ufpel.edu.br