

Fermentação de extrato vegetal de aveia com cepas de *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium animalis* BB-12 e *Streptococcus thermophilus*: propriedades físico-químicas, microbiológicas e sensoriais

Fermentation of oat extract with strains of *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium animalis* BB-12 and *Streptococcus thermophilus*: physicochemical, microbiological and sensory properties

DOI:10.34117/bjdv8n3-171

Recebimento dos originais: 14/02/2022

Aceitação para publicação: 12/03/2022

Geovana Piveta Ribeiro

Doutora em Ciência de Alimentos

Instituição: Universidade Estadual de Londrina – UEL

Endereço: Rodovia Celso Garcia Cid, PR-445, Km 380 - Campus Universitário

Londrina - PR, CEP: 86057-970

E-mail: piveta.geovana@hotmail.com

Mariana Souza Costa

Pesquisadora Sênior

Instituição: SL Cereais e Alimentos Ltda

Endereço: Rodovia do Café, Br 376, Km 289 S/n - Jd Industrial, Mauá da Serra - PR

86828-000

E-mail: marianasouza.costa@yahoo.com.br

Rafael Mizubuti Brito

Diretor de Pesquisa e Desenvolvimento

Instituição: Heynude

Endereço: Rodovia do Café, Br 376, Km 289 S/n - Jd Industrial, Mauá da Serra - PR

86828-000

E-mail: rafael@heynude.com.br

Wilma Aparecida Spinosa

Professora do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos

Instituição: Universidade Estadual de Londrina – UEL

Endereço: Rodovia Celso Garcia Cid, PR-445, Km 380 - Campus Universitário

Londrina - PR, CEP: 86057-970

E-mail: wilma.spinosa@uel.br

RESUMO

A fermentação de extratos vegetais por bactérias ácido lácticas e bifidobactérias tem se mostrado uma importante alternativa para melhorar os perfis nutricionais, sensoriais e de textura no desenvolvimento de novos produtos em substituição a produtos lácteos. O objetivo deste trabalho foi estudar a fermentação de um extrato vegetal de aveia com cepas de *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium animalis* BB-12 e *Streptococcus thermophilus* e avaliar os parâmetros físico-químicos, a viabilidade microbiológica e a aceitação sensorial do produto desenvolvido. O estudo do processo fermentativo foi realizado nos tempos 0, 2, 4, 8 e 16 horas, a 43 °C e foram determinados

os valores de pH, acidez total titulável, sólidos solúveis totais, viscosidade, cor, teor de β -glucana e contagem de células viáveis. A fermentação por 4 horas foi suficiente para atingir pH de 4,67 e contagem de células viáveis em nível de 10^6 UFC/g e por isso este tempo foi considerado padrão para a elaboração do fermentado de aveia. O produto foi desenvolvido e os mesmos parâmetros físico-químicos e microbiológicos avaliados ao longo dos dias 0, 7, 14 e 21 de armazenamento a 4 °C. O armazenamento por até 7 dias não ocasionou sinérese e alteração na cor. Além disso, o produto armazenado por este período foi bem aceito pelos avaliadores com relação a aparência, aroma, sabor, textura e aceitação global. A fermentação do extrato de aveia com cepas de *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium animalis* BB-12 e *Streptococcus thermophilus* foi tecnologicamente viável e a quantidade de inóculo foi eficiente para elaborar um produto fermentado de aveia similar a um iogurte convencional, acessível ao público vegano, vegetariano e intolerante à lactose.

Palavras-chave: viscosidade, β -glucana, aceitação sensorial, farelo de aveia.

ABSTRACT

Fermentation of plant-based extracts by lactic acid bacteria and bifidobacteria has proved to be an important alternative to improve nutritional, sensory and texture profiles in the development of new products to replace dairy products. The aim of this work was to study the fermentation of an oat extract with strains of *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium animalis* BB-12 and *Streptococcus thermophilus* and to evaluate the physicochemical parameters, microbiological viability and sensory acceptance of the developed product. The study of the fermentation process was carried out at 0, 2, 4, 8 and 16 hours, at 43 °C and the values of pH, total titratable acidity, total soluble solids, viscosity, color, β -glucan and viable cell count were determined. Fermentation for 4 hours was sufficient to reach a pH of 4.67 and a viable cell count at a level of 10^6 CFU/g and therefore this time was considered standard for the preparation of the oat fermented product. The product was developed and the same physicochemical and microbiological parameters evaluated along days 0, 7, 14 and 21 of storage at 4 °C. Storage for up to 7 days did not cause syneresis and color change. In addition, the product stored for this period was well accepted by the evaluators in terms of appearance, aroma, flavor, texture and overall acceptance. The fermentation of oat extract with strains of *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium animalis* BB-12 and *Streptococcus thermophilus* was technologically feasible and the amount of inoculum was efficient to produce a fermented oat product similar to conventional yogurt, accessible to the vegan, vegetarian and lactose intolerant public.

Keywords: viscosity, β -glucan, sensory acceptance, oat bran.

1 INTRODUÇÃO

Muitos consumidores têm buscado alternativas ao leite de vaca por questões de sustentabilidade, saúde, estilo de vida e alimentação, resultando em um aumento no desenvolvimento de produtos à base de cereais, sementes ou leguminosas. Entretanto, estas alternativas *plant based* são frequentemente desequilibradas nutricionalmente e com perfis de sabor que limitam sua aceitação. Por isso, a fermentação tem sido realizada com

o objetivo de melhorar os perfis sensoriais e nutricionais, além de propriedades de textura (Tangyu et al., 2019). A fermentação de cereais por bactérias ácido láticas e bifidobactérias pode aumentar a biodisponibilidade de vários minerais, melhorar a digestibilidade e conseqüentemente as características sensoriais. Além disso, as fibras presentes nestes cereais podem estimular o crescimento destas bactérias benéficas, colaborando para condições intestinais saudáveis dos consumidores (Gupta; Bajaj, 2017).

A aveia é um cereal com excelentes propriedades nutricionais, boa composição em aminoácidos, ácidos graxos, vitaminas, minerais, antioxidantes e fibras, principalmente β -glucana, que contribui positivamente para a viscosidade e solubilidade da molécula, trazendo benefícios tanto tecnológicos no desenvolvimento de novos produtos, quanto de saúde para quem os consome (Silva; Silva; Ribeiro, 2019). Algumas das bactérias já estudadas para o desenvolvimento de produtos à base de cereais são *Lactobacillus delbrueckii*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus rhamnosus* e do gênero *Bifidobacterium* (Masiá; Jensen; Buldo, 2020).

Lactobacillus acidophilus é bastante utilizado pela indústria a fim de obter produtos de fermentação de alta qualidade (Meng et al., 2021). É uma bactéria Gram-positiva, resistente à digestão gastrointestinal. Algumas linhagens apresentam efeito probiótico, com benefícios no tratamento da diarreia, função imunológica e anti-inflamatória. *Bifidobacterium animalis* também é Gram-positivo oriundo do intestino grosso de humanos, e muitas linhagens apresentam efeitos probióticos com benefícios à saúde, sendo os principais relacionados à redução dos níveis de colesterol e tratamento de doenças inflamatórias intestinais (Güney; Güngörmüşler, 2020). *Streptococcus thermophilus* é uma espécie iniciadora essencial, Gram-positiva, utilizada na elaboração de vários produtos fermentados e que em conjunto com outras culturas bacterianas contribui positivamente para a saúde intestinal. Quando crescem em matrizes vegetais, essas bactérias consomem carboidratos e conseqüentemente produzem ácidos, que levam a formação de um gel e contribuem para o aroma do produto (Boulay; Haddad; Rul, 2020). Além disso, a maioria dessas bactérias apresentam boas propriedades enzimáticas que degradam proteínas, outros compostos indigeríveis e alguns fatores antinutricionais, afetando positivamente as propriedades sensoriais e nutricionais (Samtiya et al., 2021).

Duru et al. (2019) desenvolveram um produto fermentado à base de aveia com cepas de *Lactobacillus acidophilus* e *Streptococcus thermophilus* adicionado de isoflavonas, e observaram que o extrato foi capaz de melhorar a capacidade antioxidante mas houve uma redução na contagem de bactérias probióticas durante o armazenamento,

além disso, o aroma do produto não foi bem aceito pelos avaliadores. Asadzadeh et al. (2020) utilizaram farelo de aveia para desenvolver um produto fermentado com *Bifidobacterium lactis*, e obtiveram um produto com boas qualidades funcionais, associando as propriedades nutricionais da aveia e das bactérias probióticas, entretanto utilizaram xarope de frutose, pectina e óleo de uva para melhorar a textura e aceitação do produto.

Embora a fermentação de extratos de aveia por bactérias ácido lácticas e bifidobactérias já tenha sido estudada por outros pesquisadores, é essencial entender o efeito que diferentes culturas bacterianas causam sob diferentes matérias-primas vegetais, tanto com foco nos parâmetros físicos quanto na aceitação sensorial. E fazer isso, sem a adição de produtos sintéticos ou melhoradores é um grande desafio, uma vez que o desejo dos consumidores é cada vez mais adquirir produtos naturais e de alto valor nutricional. Por isso, o objetivo deste trabalho foi estudar a fermentação de um extrato vegetal de aveia com cepas de *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium animalis* BB-12 e *Streptococcus thermophilus*, sem adição de outros ingredientes, e avaliar os parâmetros físico-químicos, a viabilidade microbiológica e a aceitação sensorial do produto desenvolvido.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

2.1.1 Aveia

O farelo de aveia utilizado para o preparo do extrato vegetal e consequente fermentado de aveia foi gentilmente doado pela empresa SL Cereais e Alimentos Ltda (Mauá da Serra-PR, Brasil). De acordo com o laudo técnico, o produto apresentava 5,88 g/100g de lipídeos, 20,90 g/100g de proteínas e 54,19 g/100g de carboidratos, ausência de micotoxinas e materiais estranhos e/ou impurezas, além de cor, odor e sabor conforme padrão.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Obtenção e fermentação do extrato de aveia

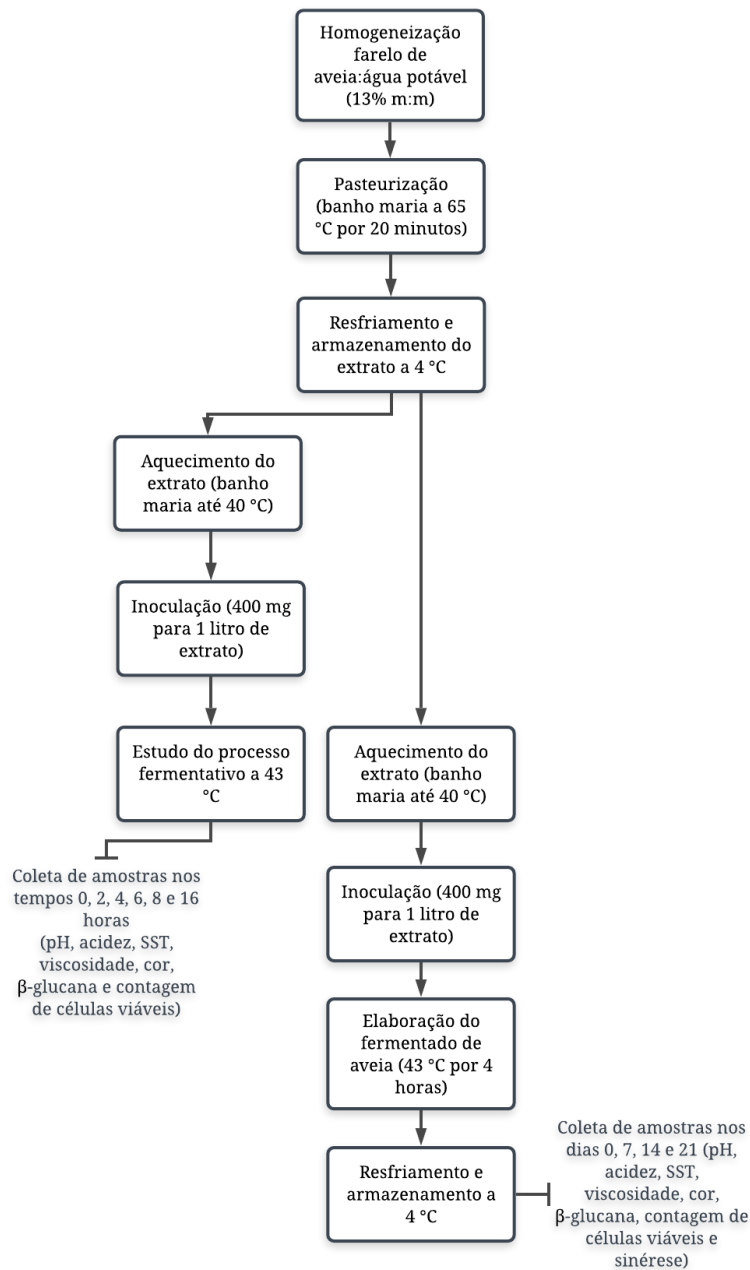
O extrato de aveia foi produzido pela homogeneização de 13% (m:m) de farelo de aveia em água potável, seguido de pasteurização em banho maria a 65 °C por 20 minutos, resfriamento em água gelada e armazenamento a 4 °C até a fermentação. Esta proporção

foi definida com base em testes preliminares, a fim de se obter um extrato vegetal com 12% de sólidos solúveis totais (Raikos et al., 2020).

O estudo do processo fermentativo foi realizado utilizando-se cepas de *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium animalis* BB-12 e *Streptococcus thermophilus* (BioRich®). Antes da inoculação, o extrato foi aquecido em banho maria até 40 °C, e o inóculo adicionado na proporção sugerida pelo fabricante (400mg para 1 litro de extrato). A fermentação aconteceu em um reator comercial (Izumi, Brasil) a 43 °C e foram coletadas amostras dos tempos 0, 2, 4, 8 e 16 horas para as determinações de pH, acidez total titulável, sólidos solúveis totais, viscosidade, cor, teor de β -glucana e contagem de células viáveis.

Uma vez observada que a fermentação por quatro horas foi suficiente para atingir pH 4,67, este foi considerado o tempo padrão para a elaboração do fermentado de aveia. O processo fermentativo foi repetido nas mesmas condições até quatro horas, sendo interrompido pelo resfriamento e armazenamento a 4 °C para as determinações de pH, acidez total titulável, sólidos solúveis totais, viscosidade, cor, teor de β -glucana, contagem de células viáveis e sinérese nos dias 0, 7, 14 e 21 de armazenamento. A organização metodológica está ilustrada na figura 1.

Figura 1. Fluxograma da metodologia de trabalho do estudo do processo fermentativo e elaboração do fermentado de aveia



ATT= acidez total titulável; SST= sólidos solúveis totais

2.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

O pH foi avaliado em um medidor digital de pH (Gehaka - PG2000, Brasil). A acidez total titulável foi quantificada pela titulação de 10 mL de amostra com NaOH 0,1 N utilizando fenolftaleína como indicador e expressando os resultados em g de ácido láctico/100g de produto (Soukoulis et al. 2007). Os sólidos solúveis totais foram expressos em °Brix, medido com refratômetro digital de bancada (Metler Toledo - LiquiPhysics™ Excellence RM40, Reino Unido) a 10°C. Os parâmetros de cor no sistema Cielab L*

(luminosidade), a^* (componente vermelho-verde) e b^* (componente amarelo-azul) foram determinados a 25 °C, em colorímetro (Konica Minolta - Chroma Meter CR-4000, Japão) com iluminante D65 (luz natural do dia). Para leitura as amostras foram colocadas em cubetas com área de 16 cm² e ângulo de 45/0o de iluminação e 10o de observação. O teor de β -glucana foi determinado com kit enzimático (Mixed-Linkage beta-glucan-(K-BGLU 02/17)) da Megazyme (Megazyme, Irlanda) de acordo com o método oficial 995.16 da AOAC (AOAC, 2005).

2.4 VISCOSIDADE

A viscosidade foi analisada no viscosímetro Brookfield (modelo DV-I +, Estados Unidos). A análise foi realizada a 10 °C, com 300 mL de amostra em um béquer de 400 mL de capacidade. O spindle utilizado para todas as amostras foi o S63, a 20 rpm, para deixar o torque entre 10 e 80% conforme orientação do fabricante. A leitura foi registrada após 40 segundos de rotação, em 10 repetições.

2.5 CONTAGEM MICROBIOLÓGICA

Para a seleção de *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium animalis* BB-12 e *Streptococcus thermophilus* diferentes meios foram preparados. A contagem foi realizada, após diluições em série, utilizando-se ágar MRS com solução de maltose 2% (m:m) com plaqueamento em superfície para *Lactobacillus acidophilus* LA-5 e ágar MRS com solução de glicose 2% (m:m) com plaqueamento em profundidade (pour plate) para *Bifidobacterium animalis* BB-12 (Walsh et al., 2010). *Streptococcus thermophilus* foi cultivado em ágar M-17 com plaqueamento em superfície (Raikos et al., 2020). Todos os meios foram incubados em triplicata a 37 °C por 48 horas e os resultados expressos em unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g).

2.6 SINÉRESE

A sinérese foi determinada pela separação gravitacional de 50g de amostra que foram pesadas sobre papel filtro disposto sob um funil e mantido reservado para drenagem por 120 minutos a 4 °C, o líquido separado foi determinado pela diferença de massa entre o frasco de massa conhecida e sistema líquido coletado e frasco coletor (Sinérese (%) = (peso do líquido coletado/peso inicial da amostra) x 100) (Raikos et al., 2020).

2.7 ACEITAÇÃO SENSORIAL

Como o produto fermentado por 4 horas e armazenado por 7 dias apresentou bons parâmetros de contagem microbiológica, sem a ocorrência de sinérese, foi considerada a amostra referência para a aceitação sensorial. A aceitação foi medida com escala hedônica híbrida de 10 cm (Villanueva et al., 2005), onde 0 = desgostei extremamente, 5 = nem gostei, nem desgostei e 10 = gostei extremamente e avaliaram-se os atributos aparência, aroma, sabor, textura e aceitação global com 100 consumidores voluntários, previamente esclarecidos sobre o teste, após assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE. Para o teste, porções de 15 gramas a 10 °C foram apresentadas em copos descartáveis, codificados com números aleatórios de três dígitos, acompanhadas de colher descartável. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, parecer n° 3.852.821.

2.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

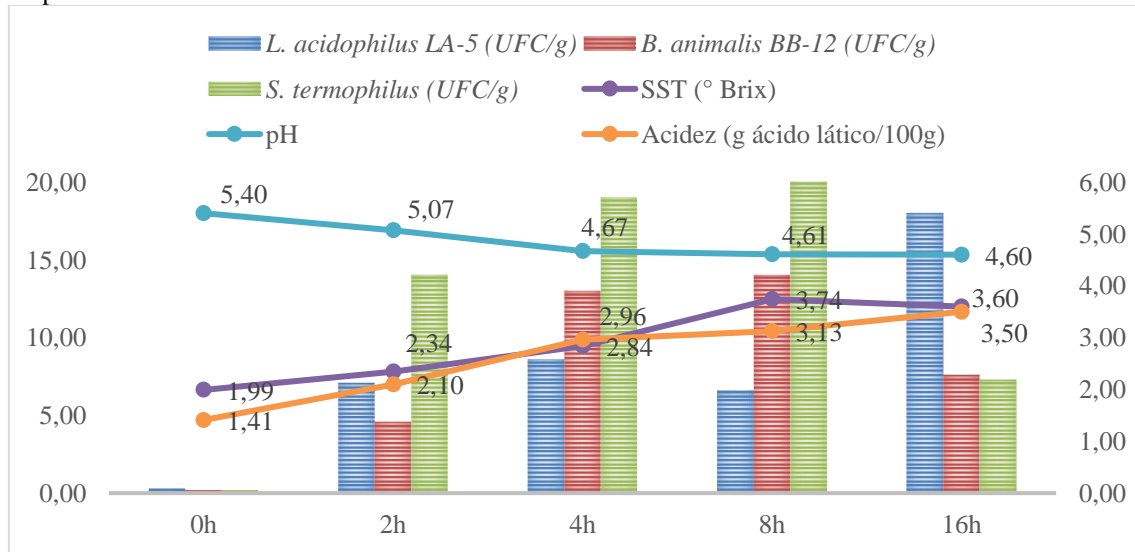
Os dados foram tratados por análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância, empregando-se o software Statistica 10.0.

3 RESULTADOS

Com o objetivo de determinar o tempo de fermentação necessário para se obter o fermentado de aveia foram avaliados o crescimento dos microrganismos, sólidos solúveis totais expressos em °Brix, redução do pH e aumento da acidez ao longo das dezesseis horas de processo fermentativo (Figura 2). A fermentação iniciou com contagens em nível de 10^5 UFC/g para todas as espécies, 1,99 °Brix, pH de 5,40 e acidez de 1,41 g/100g de ácido láctico. Nas primeiras duas horas de fermentação já houve crescimento exponencial de todas as culturas, com aumento significativo dos sólidos e acidez e redução do pH. Após quatro horas de fermentação não houve mais redução significativa do pH, sugerindo o ponto final da fermentação. Entre quatro e oito horas de processo, o crescimento de *Bifidobacterium animalis* BB-12 e *Streptococcus thermophilus* supera o crescimento de *Lactobacillus acidophilus* LA-5, e a partir deste tempo há redução no número de células viáveis dessas espécies e crescimento apenas de *Lactobacillus acidophilus* LA-5. A contagem de *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium animalis* BB-12 e *Streptococcus thermophilus* após as dezesseis horas de fermentação foi de $1,8 \times 10^7$

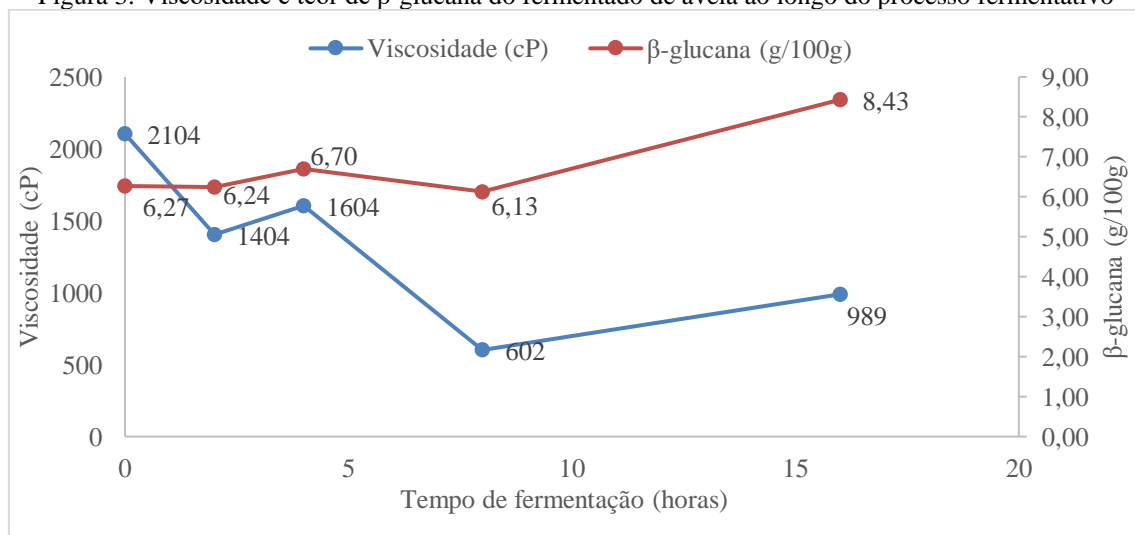
UFC/g, $7,6 \times 10^6$ UFC/g e $7,3 \times 10^6$ UFC/g, respectivamente, e o produto neste tempo atingiu 3,60 °Brix, pH de 4,60 e acidez de 3,50 g/100g de ácido lático.

Figura 2. Crescimento dos microrganismos e valores de sólidos solúveis totais (SST), pH e acidez ao longo do processo fermentativo



A figura 3 mostra a relação entre a viscosidade e o teor de β -glucana ao longo do processo fermentativo. Nas primeiras duas horas de fermentação houve uma queda na viscosidade e o teor de β -glucana permaneceu estável, porém entre duas e quatro horas de fermentação houve um aumento no teor de fibras e na viscosidade. Esse mesmo comportamento foi observado entre oito e dezesseis horas de fermentação, sugerindo que um aumento no teor de β -glucana influencia diretamente na viscosidade do produto.

Figura 3. Viscosidade e teor de β -glucana do fermentado de aveia ao longo do processo fermentativo



A fim de se observar as demais mudanças ao longo do processo fermentativo foram avaliados os parâmetros de cor (Tabela 1). Nota-se que houve um aumento no parâmetro luminosidade o que indica que o produto foi se tornando mais claro ao longo do processo, havendo diferença após duas horas e após oito horas de fermentação. Não houve variação nos parâmetros a^* e b^* , que correspondem aos componentes verde-vermelho e amarelo-azul, respectivamente.

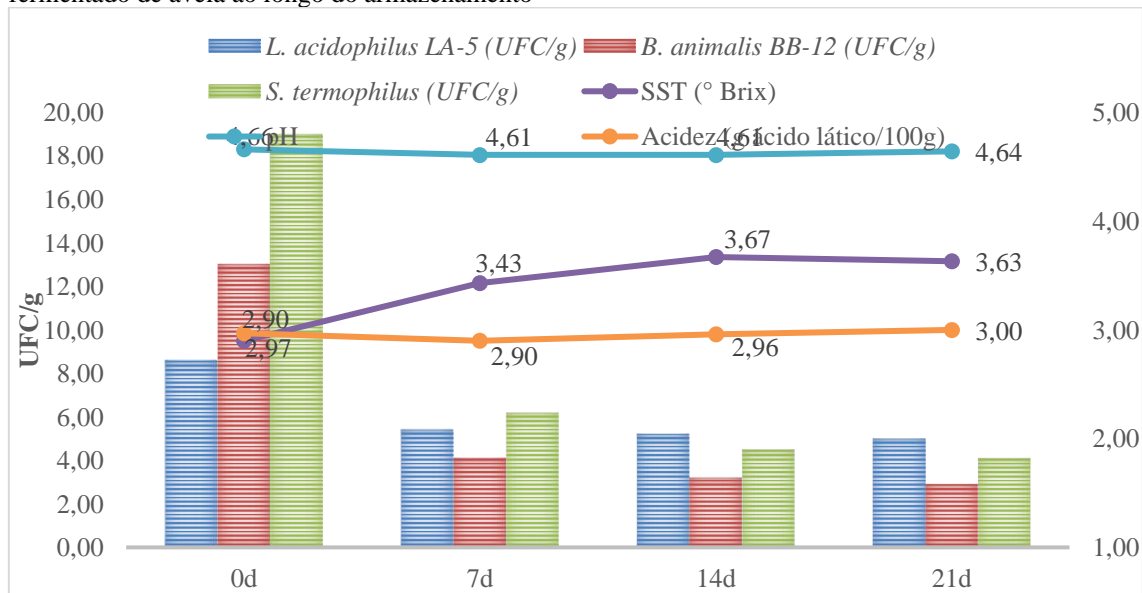
Tabela 1. Parâmetros de cor ao longo do processo fermentativo

Tempo	Cor		
	L*	a*	b*
0 horas	67,47±0,20 ^c	1,22±0,06 ^a	11,34±0,66 ^a
2 horas	69,07±0,08 ^b	1,37±0,09 ^a	11,57±0,06 ^a
4 horas	70,14±0,18 ^{ab}	1,40±0,11 ^a	11,71±0,64 ^a
8 horas	70,73±0,54 ^a	1,21±0,05 ^a	11,64±0,06 ^a
16 horas	70,90±0,30 ^a	1,26±0,05 ^a	12,22±0,06 ^a

Média ± Desvio padrão; Médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna, não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). L*: luminosidade (0: preto e 100: branco); a^* : componente verde-vermelho ($-a^*$: verde, $+a^*$: vermelho); b^* : componente amarelo-azul ($-b^*$: azul, $+b^*$: amarelo).

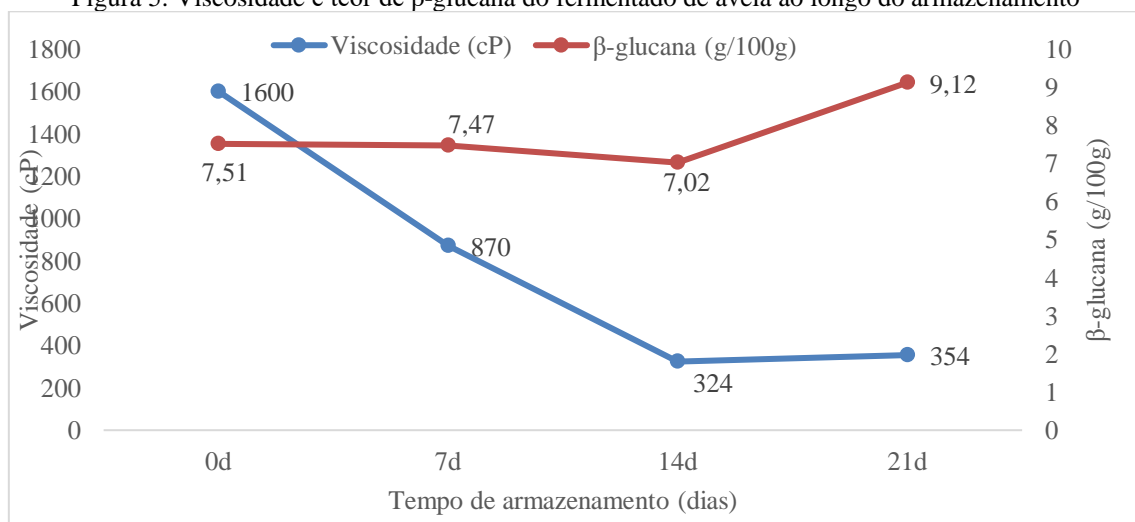
Uma vez observada que a fermentação por quatro horas foi suficiente para atingir pH estável, este foi considerado o tempo padrão para a elaboração do fermentado de aveia, que teve seus parâmetros físicos e microbiológicos analisados nos tempos 0, 7, 14 e 21 dias de armazenamento. A figura 4 mostra que os valores de sólidos solúveis totais, pH e acidez se mantiveram estáveis ao longo de todo o período de armazenamento, mesmo havendo uma queda na contagem de células todos os microrganismos. O fermentado de aveia apresentava no início do armazenamento contagem de $8,6 \times 10^6$ UFC/g de *Lactobacillus acidophilus* LA-5, $1,3 \times 10^7$ UFC/g de *Bifidobacterium animalis* BB-12 e $1,9 \times 10^7$ UFC/g de *Streptococcus thermophilus* e ao final dos vinte e um dias de armazenamento, $5,0 \times 10^6$ UFC/g de *Lactobacillus acidophilus* LA-5, $2,9 \times 10^6$ UFC/g de *Bifidobacterium animalis* BB-12 e $4,1 \times 10^6$ UFC/g de *Streptococcus thermophilus*.

Figura 4. Crescimento dos microrganismos e valores de sólidos solúveis totais (SST), pH e acidez do fermentado de aveia ao longo do armazenamento



A relação viscosidade e teor de β -glucana ao longo do armazenamento está ilustrada na figura 5 e difere do comportamento observado durante o processo fermentativo. Nos primeiros sete dias de armazenamento, mesmo o teor de fibras se mantendo estável, houve uma queda significativa na viscosidade do produto, que ainda apresentou uma redução até o décimo quarto dia de armazenamento. Entre os dias quatorze e vinte e um, mesmo havendo um aumento no teor de β -glucana, não houve variação significativa na viscosidade do produto.

Figura 5. Viscosidade e teor de β -glucana do fermentado de aveia ao longo do armazenamento



Com relação aos parâmetros de cor e sinérese (Tabela 2) observa-se que não houve variação nos parâmetros a* (componente verde-vermelho) e b* (componente amarelo-azul), entretanto houve um aumento de luminosidade após vinte e um dias de armazenamento. Além disso, nota-se que a sinérese começou a ocorrer no décimo quarto dia e não diferiu até o tempo final de armazenamento estudado.

Tabela 2. Parâmetros de cor e porcentagem de sinérese do fermentado de aveia ao longo do armazenamento

Tempo	Cor			Sinérese (%)
	L*	a*	b*	
0 dias	70,12±0,10 ^b	1,38±0,09 ^a	11,70±0,50 ^a	nd
7 dias	69,76±0,53 ^b	1,94±0,91 ^a	12,20±0,86 ^a	nd
14 dias	69,80±0,78 ^b	2,03±0,88 ^a	12,10±1,00 ^a	0,52±0,01 ^a
21 dias	72,48±0,25 ^a	1,79±0,04 ^a	10,80±0,18 ^a	0,60±0,01 ^a

Média ± Desvio padrão; Médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna, não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). L*: luminosidade (0: preto e 100: branco); a*: componente verde-vermelho (-a*: verde, +a*: vermelho); b*: componente amarelo-azul (-b*: azul, +b*: amarelo). nd= não detectado.

A fim de se avaliar a aceitação do produto desenvolvido, foi realizado o teste de aceitação com o fermentado de aveia armazenado por 7 dias. As notas de aceitação em todos os atributos avaliados foram superiores a 6,0 (em escala de 10 cm) indicando aprovação do produto (Tabela 5), sendo a maior média 7,81 para o atributo textura e a menor média 6,04 para o atributo sabor.

Tabela 5. Intensidade média dos atributos sensoriais do fermentado de aveia

Aparência	Aroma	Sabor	Textura	Aceitação Global
7,88±1,35	7,49±1,92	6,04±1,95	7,81±1,75	7,24±1,61

Média ± Desvio padrão. Valores médios de 100 avaliadores.

4 DISCUSSÃO

O crescimento mais rápido de *Streptococcus thermophilus* do que *Lactobacillus acidophilus* no início do processo (Figura 2) também foi observado por Meng et al. (2021) ao estudarem a fermentação de leite de vaca com cepas de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* e *Lactobacillus acidophilus*. Os autores atribuem esse comportamento à alta exigência nutricional das cepas de *Lactobacillus acidophilus*, que requerem uma variedade de vitaminas, íons e aminoácidos liberados somente após a atividade das outras bactérias utilizadas no meio. A presença do microrganismo *Streptococcus thermophilus* favorece o processo por se tratar de uma cultura *starter*. Ela causa uma rápida acidificação do meio relacionada à produção de

ácido láctico e também é capaz de produzir compostos secundários da fermentação como ácido fórmico, acetaldeído e/ou diacetil que favorecem o crescimento das demais espécies além de contribuir para as propriedades aromáticas e de textura dos produtos fermentados (Uriot et al., 2017). Desta forma, o processo de fermentação inicia-se com mais rapidez com o inóculo de *Streptococcus thermophilus*, continuando com os inóculos de *Lactobacillus acidophilus* LA-5 e *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*, nos quais o pH ótimo para início da atividade está situado entre 5,5 e 6,2 (Brandão et al., 2021). A contagem final em nível de 10^6 UFC/g corrobora os resultados de El-Batawy, Mahdy e Gohari (2019). Estes autores fermentaram extrato de aveia com *Streptococcus salivarius* sub sp. *thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum* e obtiveram contagens de $8,06 \times 10^6$ UFC/g de *Streptococcus thermophilus*, $7,01 \times 10^6$ UFC/g de *Lactobacillus acidophilus* e $7,15 \times 10^6$ UFC/g de *Bifidobacterium bifidum* no produto recém fermentado por dezesseis horas e concluíram que o principal substrato da aveia utilizado por estas bactérias é a maltose.

O tempo de quatro horas de fermentação até obter o pH final de 4,67 (Figura 2) é menor em relação a outros trabalhos publicados na literatura. Asadzadeh et al. (2020) compararam a fermentação de extratos elaborados com 5, 10 e 15% (m:m) de farelo de aveia em água para elaborar uma bebida prebiótica de uva utilizando *Bifidobacterium lactis* e após setenta e duas horas de fermentação o pH final médio foi de 5,60, independente da concentração de farelo utilizada. Raikos et al. (2020) obtiveram pH final de 4,0 após seis horas de fermentação de um extrato de aveia (12% (m:m) aveia:água) enriquecido com aquafaba utilizando *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, e *Streptococcus thermophilus*. El-Batawy, Mahdy e Gohari (2019) fermentaram extrato de aveia (21% de matéria seca) com *S. salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum* por dezesseis horas e o pH final foi 4,7.

Entretanto, a concentração de inóculo e temperatura do processo também influenciam no tempo de fermentação, o que pode ter contribuído para o menor tempo obtido. Raikos et al. (2020) utilizaram 0,25% (m:m) a 43 °C, El-Batawy, Mahdy e Gohari (2019) 3% (m:m) a 39 °C e Asadzadeh et al. (2020) fermentaram a 37 °C com uma concentração de inóculo a fim de obter contagem inicial ao nível de 10^9 UCF/g. Com isso observa-se que a concentração de farelo de aveia escolhida na preparação do extrato vegetal, a mistura da cultura láctea utilizada e a quantidade de inóculo foram eficientes para otimizar o tempo de fermentação e elaborar um produto fermentado de aveia. Além

disso, a fermentação com culturas lácteas mistas apresenta sempre menor tempo de processo do que com culturas lácteas puras, uma vez que os diferentes microrganismos atuam em faixas de pHs diferentes, tornando o processo de fermentação mais rápido (Brandão et al, 2021).

A concentração de farelo de aveia utilizada na elaboração do extrato vegetal a ser fermentado influencia no teor de β -glucana, que tem importância tanto em efeitos tecnológicos no desenvolvimento de novos produtos quanto em efeitos fisiológicos para quem os consome. Embora Tsetsegmaa e Tsetsegee (2012) citem que o teor de β -glucana não altera durante a fermentação por esta não ser utilizada pelas bactérias ácido lácticas como substrato, observamos neste estudo um aumento na sua concentração (Figura 3), o que pode ser resultado da hidrólise do amido e das proteínas ao longo do processo fermentativo, tornando as fibras mais disponíveis no meio. O efeito da β -glucana no aumento da viscosidade é devido à molécula ter alta capacidade de retenção de água e solubilidade, além das propriedades de geleificação após aquecimento, capaz de formar uma rede de polissacarídeos no qual moléculas de proteínas e lipídeos ficam incorporadas (El-Batawy; Mahdy; Gohari, 2019). Os valores de viscosidade durante todos os tempos analisados foram superiores aos obtidos por Gokavi et al. (2005) ao fermentarem um extrato com 5% de farinha de aveia integral (m:v) com *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* ssp. *casei* e *Lactobacillus acidophilus* por 12 horas (420 cP).

O aumento do parâmetro luminosidade (L^*) ao longo do processo fermentativo (Tabela 1) pode ser justificado pelo aumento no teor de β -glucanas. Esse mesmo comportamento foi observado por Raza et al. (2021) ao testarem diferentes concentrações de farinha de grão de bico na elaboração de iogurtes e observaram que a adição da farinha leva a um aumento no teor de fibras e consequentemente na luminosidade dos produtos quando comparado com as amostras controle. Os valores de L^* foram próximos ao do fermentado de aveia desenvolvido por Bernat et al. (2014), 69,9.

Ao longo do armazenamento a estabilidade do pH (Figura 4) difere dos resultados de Duru et al. (2019) que não observaram variação ao longo da primeira semana de armazenamento a 4 °C, porém, ao final dos 28 dias o pH caiu de 4,9 para 2,9. El-Batawy, Mahdy e Gohari (2019) também observaram um aumento da acidez ao longo de 21 dias de armazenamento a 4 °C, de 0,83 % para 1,21 %. Ambos atribuem esse comportamento à atividade dos microrganismos que pode continuar mesmo após a fermentação ter sido interrompida pela refrigeração. Porém, a redução na contagem de células viáveis ao longo do período de armazenamento estudado pode ter sido suficiente para diminuir a atividade

microbiana e não causar alteração nos valores de pH e acidez. A diminuição foi exponencial para todos os microrganismos assim como Asadzadeh et al. (2020) observaram no suco de uva probiótico com *Bifidobacterium lactis*. A viabilidade diminuiu extremamente com o aumento do tempo de armazenamento, e os autores citam que a redução pode ser influenciada pelo conteúdo de oxigênio, temperatura, presença de outros microrganismos e compostos inibidores além dos valores de pH e tempo de armazenamento.

Durante o processo fermentativo o teor de β -glucana influenciou diretamente a viscosidade do produto, porém isso não foi observado ao longo do armazenamento (Figura 5). Mesmo a quantidade de β -glucanas se mantendo estável no início, aconteceu uma redução significativa na viscosidade, a qual pode estar sendo influenciada pela sinérese. Esse fenômeno que ocorre devido ao encolhimento do gel e leva à separação do soro também foi relatado por Raikos et al. (2020) após 3 semanas de armazenamento de um fermentado de aveia a 4 °C, mesmo que os autores tenham utilizado aquafaba na formulação como agente geleificante a fim de melhorar a consistência e textura. Assim como aconteceu durante o processo fermentativo, o armazenamento ocasionou um aumento na luminosidade do produto, confirmado no tempo vinte e um dias (Tabela 2). Por fim, a aceitabilidade (Tabela 5) foi superior ao do produto fermentado de aveia desenvolvido por Duru et al. (2019). Convertendo para uma escala de 10 pontos, o produto elaborado por estes autores apresentou média de 4,88 para aroma, 3,88 para sabor e 5,50 para aceitação global. Importante notar que nesse caso também não foram utilizados corantes e/ou aromatizantes e a menor aceitação foi com relação ao atributo sabor, sendo justificado pela ausência de gosto doce.

5 CONCLUSÃO

A fermentação do extrato de aveia com cepas de *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium animalis* BB-12 e *Streptococcus thermophilus* foi tecnologicamente viável e o produto obtido apresentou características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais adequadas. Foi possível observar o comportamento de crescimento dos diferentes tipos de microrganismos na matriz vegetal por até dezesseis horas de fermentação, sendo a fermentação por quatro horas suficiente para elaborar o produto, e que armazenado por até sete dias não apresentou sinérese e foi bem aceito pelos avaliadores. Além disso, o novo produto se destaca como uma importante alternativa ao público intolerante à lactose, alérgico à proteína do leite de vaca, vegetariano e vegano.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à empresa SL Cereais e Alimentos Ltda. por apoio técnico e financeiro.

DECLARAÇÕES ÉTICAS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, parecer n° 3.852.821.

REFERÊNCIAS

- Asadzadeh, A.; Jalali, H.; Azizi, M. H.; Nafchi, A. M., 2020. Production of oat bran functional probiotic beverage using *Bifidobacterium lactis*. J. Food Meas., 15, 1301-1309.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18.ed. AOAC, Gaithersburg, Maryland.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2019. Official Methods of Analysis of AOAC International. 21.ed. AOAC, Gaithersburg, Maryland.
- Bernat, N.; Cháfer, M.; González-Martínez, C.; Rodríguez-García, J.; Chiralt, A., 2014. Optimisation of oat milk formulation to obtain fermented derivatives by using probiotic *Lactobacillus reuteri* microorganisms. Food Sci. Technol. Int., 0, 0.
- Boulay, M.; Haddad, M.; Rul, F., 2020. *Streptococcus thermophilus* growth in soya milk: Sucrose consumption, nitrogen metabolism, soya protein hydrolysis and role of the cell-wall protease PrtS. Int. J. Food Microbiol., 335, 16.
- Brandão, H. C. A. D. N. T de M.; Brandão, W. A. P. L. N. T. de M.; Mendonça, S. N. T. G.; Felsner, M. L., 2021. Probiotic fermented rice extract beverage: an alternative food for lactose intolerants and people allergic to bovine milk and soy protein. Braz. J. Food Technol., 24.
- Duru, K. C.; Kovaleva, E. G.; Danilova, I. G.; Belousova, A. V., 2019. Production and assessment of novel probiotic fermented oat flour enriched with isoflavones. LWT - Food Sci. Technol, 111, 9-15.
- El-Batawy, Osama Ibrahim; Mahdy, Samar Mohamed; Gohari, Safaa Talaat. 2019. Development of Functional Fermented Oat Milk by Using Probiotic Strains and Whey Protein. Int. J. Dairy Sci., 14, 1.
- Gokavi, Sumangala; Zhang, Lanwei; Huang, Ming-Kuei; Zhao, Xin; Guo, Mingruo., 2005. Oat-based Symbiotic Beverage Fermented by *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* ssp. *casei*, and *Lactobacillus acidophilus*. J. Food Sci., 70, 4.
- Güney, D.; Güngörmüşler, M., 2020. Development and Comparative Evaluation of a Novel Fermented Juice Mixture with Probiotic Strains of Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria. Probiotics Antimicrob. Proteins, 13, 495-505.
- Gupta, M.; Bajaj, B. K., 2017. Development of fermented oat flour beverage as a potential probiotic vehicle. Food Bioscience, 20, 104-109.
- Li, Su; Walsh, Helen; Gokavi, Sumangala; Guo, Mingruo, 2012. Interactions between *Lactobacillus acidophilus* strains and the starter cultures, *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* during fermentation of goats' milk. African J. Biotechnol., 11, 51.
- Masiá, C.; Jensen, P. E.; Buldo, P., 2020. Effect of *Lactobacillus rhamnosus* on Physicochemical Properties of Fermented Plant-Based Raw Materials. Foods, 9, 1182.

Meng, L.; Li, S.; Liu, G.; Fan, X.; Qiao, Y.; Zhang, A.; Lin, Y.; Zhao, X.; Huang, K., Feng, Z., 2021. The nutrient requirements of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and their application to fermented milk. *J. Dairy Sci.*, 104, 138–150.

Raikos, V.; Juskaite, L.; Vas, F.; Hayes, H. E., 2020. Physicochemical properties, texture, and probiotic survivability of oat-based yogurt using aquafaba as a gelling agent. *Food Sci Nutr.*, 0, 1-7.

Raza, H.; Ameer, K.; Zaaboul, F.; Shoaib, M.; Chao, C-C.; Ali, B.; Shahzad, M. T.; Abid, M.; Ren, X.; Zhang, L., 2021. Physicochemical, Rheological, & Sensory Characteristics of Yogurt Fortified with BallMilled Roasted Chickpea Powder (*Cicer arietinum* L.). *Food Sci. Technol.*, Ahead of Print.

Samtiya, M.; Aluko, R. E.; Puniya, A. K.; Dhewa, T. (2021). Enhancing Micronutrients Bioavailability through Fermentation of Plant-Based Foods: A Concise Review. *Fermentation*, 7, 63.

Silva, A. R. A.; Silva, M. M. N.; Ribeiro, B. D., 2019. Health Issues and Technological Aspects of Plant-based Alternative Milk. *Food Res. Int.*, 131.

Soukoulis, C., Panagiotidis, P., Koureli, R., & Tzia, C., 2007. Industrial yogurt manufacture: Monitoring of fermentation process and improvement of final product quality. *J. Dairy Sci.*, 90, 6, 2641–2654.

Statsoft, Inc. (2004). Statistica (Data Analysis Software System), version 10.0. www.statsoft.com.

Tangyu, M.; Muller, J.; Bolten, C. J.; Wittmann, C., 2019. Fermentation of plant-based milk alternatives for improved flavour and nutritional value, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 103, 9263–9275.

Tsetsegmaa, R.; Tsetsegee, D., 2012. Evaluation of a Fermented Oat Beverage. *Proceedings of IFOST*, 176-179.

Uriot, O.; Denis, S.; Junjua, M.; Roussel, Y.; Dary-Mourot, A.; Blanquet-Diot, S., 2017. *Streptococcus thermophilus*: From yogurt starter to a new promising probiotic candidate? *J. Funct. Foods*, 37, 74–89.

Villanueva, Nilda D. M. ; Petenate, Ademir J.; Da Silva, Maria A. A. P., 2005. Performance of the hybrid hedonic scale as compared to the traditional hedonic, self-adjusting and ranking scales. *Food Qual. Prefer.*, 16, 8, 691-703.

Walsh, H.; Ross, J.; Hendricks, G.; Guo, M., 2010. Physico-Chemical Properties, Probiotic Survivability, Microstructure, and Acceptability of a Yogurt-Like Symbiotic Oats-Based Product Using Pre-Polymerized Whey Protein as a Gelation Agent. *J. Food Sci.*, 75, 10.