



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**EFEITO DO SORO DE LEITE EM CULTURAS PRODUTORAS DE
EXOPOLISSACARÍDEOS**

ANA CAROLINA GUEDES PINHEIRO

RECIFE, 2020

ANA CAROLINA GUEDES PINHEIRO

**EFEITO DO SORO DE LEITE EM CULTURAS PRODUTORAS DE
EXOPOLISSACARÍDEOS**

Monografia apresentada ao curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal Rural de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Maria Taciana
Cavalcanti Viera Soares

RECIFE, 2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P654e PINHEIRO, ANA
EFEITO DO SORO DE LEITE EM CULTURAS PRODUTORAS DE EXOPOLISSACARÍDEOS /
ANA PINHEIRO. - 2020.
25 f.

Orientadora: Maria Taciana Cavalcanti Vieira
Soares. Inclui referências.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Bacharelado em Ciências Biológicas, Recife, 2022.

1. soro de leite. 2. bactérias ácido lácticas. 3. exopolissacarídeos. I. Soares, Maria
Taciana Cavalcanti Vieira, orient. II. Título

574

CDD

ANA CAROLINA GUEDES PINHEIRO

**EFEITO DO SORO DE LEITE EM CULTURAS PRODUTORAS DE
EXOPOLISSACARÍDEOS**

Comissão avaliadora:

Prof^ª Dr.^a. Maria Taciana Cavalcanti Viera Soares – UFRPE SEDE
Orientadora

Prof^ª Dr.^a. Meire dos Santos Falcão de Lima – UNINASSAU

MSc. Priscilla Régia de Andrade Calaça – UFRPE

Prof^ª Dr.^a. Pollyana Herculano Bandeira – UNI São Miguel
(Suplente)

RECIFE, 2020

DEDICATÓRIA

Dedico a Deus, minha família e a Wilker Vitor, os grandes responsáveis pela conquista desse mérito.

Sumário

1. Resumo	7
2. Introdução	8
3. Revisão Bibliográfica	10
3.1 Resíduos Agroindustriais	10
3.1.1 Soro de Leite	10
3.2 Bactérias Ácido Láticas	10
3.3 Exopolissacarídeos	13
4. Objetivos	15
4.1 Objetivo Geral	15
4.2 Objetivos Específicos	15
5. Materiais e Métodos	15
4.1 Caracterização do soro de leite bovino	15
4.2 Seleção de BAL produtora de EPS e meio de cultura	15
4.3 Extração e quantificação de EPS	16
5. Resultados e Discussão	16
5.1 Caracterização do soro de leite bovino	16
5.2 Seleção de BAL produtora de EPS	16
6. Considerações finais	18
7. Referências	18

1. Resumo

O descarte inapropriado dos resíduos agroindustriais é uma problemática de importância nos tempos atuais, tendo em vista que se este for feito de forma indevida pode vir a acarretar prejuízos ambientais, como a destruição de ecossistemas. O soro de leite é um exemplo desses resíduos agroindustriais, resultante do processamento do leite em indústrias de derivados lácteos, se trata de um resíduo altamente nutritivo e, por este motivo, pode ser poluente se descartado de forma incorreta em ambientes aquáticos ou no solo. Sua reutilização vem sendo objeto de estudo, por ter várias utilidades como na indústria alimentícia, farmacêutica, cosmética, entre outras. Além disso pode ser utilizado como meio alternativo para o crescimento de bactérias, como nas culturas de bactérias ácido lácticas (BAL). Neste trabalho foi utilizado o soro de leite para o crescimento destas bactérias e posterior obtenção de exopolissacarídeos (EPS), produzidos por estas e de grande importância industrial e alimentícia. O objetivo geral é selecionar as bactérias ácido lácticas que produzem a maior quantidade de EPS usando o soro de leite como seu substrato. O soro de leite foi caracterizado quanto a sua acidez (método Dornic); quanto ao pH (pHmetro digital); quanto ao teor de proteínas (método de Bradford, 1976); quanto ao teor de cinzas (gravimetria após incineração em forno de mufla); e quanto ao teor de lactose (cromatografia líquida). Além disso foram extraídas as proteínas do soro pelo método do ácido térmico de Florêncio et al. (2009). A seleção da melhor produtora de EPS foi feita entre 30 BAL pertencentes ao LABTECBIO/CENAPESQ - UFRPE, da coleção de isolados de queijo coalho artesanal que foram produzidos no Agreste e no Sertão do estado de Pernambuco, onde estavam presentes os gêneros *Lactobacillus sp.*, *Enterococcus sp.*, *Lactococcus sp.* e *Streptococcus sp.* Estas estavam estocadas em LDR e glicerol e congeladas a -20° C, foram reativadas em caldo de MRS e, após 18 horas, 1% do do pré-inóculo foi cultivado no meio alternativo do soro de leite. A extração de EPS foi realizada após a centrifugação deste material e posterior precipitação no etanol gelado, onde foi novamente centrifugado e o pellet diluído em água ultrapura. A quantificação do EPS ocorreu a partir da utilização do método do ácido fenol-sulfúrico. Os resultados obtidos quanto a caracterização do soro de leite foram os seguintes: acidez titulável entre 21° a 23° Dornic; pH 4,3; o teor de proteínas 1,10 mg/mL; cinzas 0,38% e lactose 0,96%. Quanto à seleção das melhores BAL produtoras de EPS, destacaram-se as pertencentes ao gênero *Lactobacillus sp.*, que demonstraram a maior quantidade produzida de EPS, 6,33 mg/ml. O que leva a conclusão de que o soro de leite é um excelente meio de cultivo para BAL, principalmente ao gênero *Lactobacillus sp.*, no que tange a produção de EPS.

2. Introdução

Com o desenvolvimento industrial e a preocupação crescente com as questões ambientais, a geração de resíduos orgânicos é um tópico importante a ser debatido, a fim de se encontrar soluções para o descarte adequado destes ou até mesmo sua reutilização. (CUCUI, 2018) Os resíduos agroindustriais são gerados diariamente no processamento de alimentos, e seu descarte inapropriado causa sérios danos ambientais. (FILHO, 2017) Por conta de seu alto teor orgânico, ou seja, sua alta carga nutritiva, esses resíduos podem ser reaproveitados de várias formas, gerando subprodutos interessantes, (CORREA, 2019) como o soro de leite. (YADAV, 2015)

O soro de leite é um subproduto industrial gerado a partir do processamento do leite durante a fabricação de queijos, (YADAV, 2015) em sua composição está presente cerca de 55% dos nutrientes do leite, como vitaminas, proteínas solúveis, lactose, lipídios e sais minerais. (GAJO, 2016) Dependendo do processo de coagulação este pode ser caracterizado em soro doce (quando sofre coagulação enzimática e possui pH entre 6,0 e 6,8) ou em soro ácido (quando sofre coagulação ácida com pH inferior a 6,0). (VASCONCELOS, 2018) Por sua condição de efluente, seu descarte impróprio no meio ambiente pode alterar o equilíbrio de ecossistemas, como na eutrofização de ecossistemas aquáticos. (HAUSJELL, 2019; GIRALDO, 2017) Seu reaproveitamento, além de importante do ponto de vista ambiental, é interessante no meio industrial, por suas características como um excelente meio nutritivo, podendo ser utilizado no enriquecimento de meios de cultura para o crescimento bacteriano, (HAUSJELL, 2019) como para o crescimento de bactérias do ácido lático (BAL), onde atua fornecendo carboidratos, proteínas, lipídeos e peptídeos, produtos do metabolismo bacteriano (SIQUEIRA, 2013)

As bactérias ácido lácticas (BAL) são um grupo diverso de bactérias que tem como característica principal a formação do ácido lático como produto da sua fermentação metabólica (MATOULKOVÁ, 2015) São Gram-positivas, encontradas no trato gastrointestinal de humanos e ruminantes. (AARTI, 2018) Compostas por alguns gêneros como, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Weisella*, *Leuconostoc*, *Paralactobacillus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus* e *Streptococcus*, (MATOULKOVÁ, 2015) possuem propriedades probióticas, (COLOMBO, 2018) propriedades fermentativas, (ZANNINI, 2016),

propriedades antimicrobianas (ARENA, 2018), além de atuarem como estimulantes do sistema imunológico (SANTOS, 2016), possuírem potencial anti-inflamatório, (KOSTELAC, 2021) também compreendem espécies patogênicas a animais e humanos, como espécies pertencentes aos gêneros *Streptococcus*, *Lactococcus* e *Enterococcus*. (ZANNINI, 2016) O gênero *Lactobacillus* é comumente encontrado no intestino delgado humano e animal, (XIAO, 2015) auxiliando no equilíbrio da microbiota intestinal, (STAUDACHER, 2017) e na modulação do sistema imune, além da sua importância do ponto de vista das indústrias, onde pode atuar na fermentação industrial. (ZHAO, 2020) Entre suas propriedades de interesse, também se destaca a produção de compostos bioativos, benéficos a saúde humana, como os exopolissacarídeos (EPS). (BOVO et al., 2010)

Os EPS são biopolímeros de membrana celular das BAL, classificados em homopolissacarídeos, quando são compostos por um único tipo de polissacarídeo ou heteropolissacarídeos, sendo composto por mais de um tipo de polissacarídeo. (ZIADI, 2018; IGNATOVA-IVANOVA, 2016) podem estar aderidos à membrana celular formando a cápsula, ou serem excretados no meio extracelular. (BANCALARI, 2019) Suas principais funções consistem no fornecimento de adesão as BAL, formação de biofilmes, (MALIK, 2015) e proteção contra a dessecação (IGNATOVA-IVANOVA, 2016; BAJPAI, 2016) São utilizados na indústria alimentar, fornecendo propriedades de melhoramento de textura, aroma e sabor aos alimentos; (HAN, 2016; ADAMU-GOVERNOR, 2018; ZIADI, 2018) na indústria médica e farmacêutica, podem apresentar atividades antivirais, anticancerígenas, redutoras de colesterol sanguíneo, entre outras. (MALIK, 2015; BAJPAI, 2016)

A produção e purificação de EPS se trata de um processo industrial dispendioso, pelo seu baixo rendimento e purificação de alto custo. A biossíntese de EPS envolve três etapas de importância, sendo elas: a produção de um substrato precursor, a síntese intracelular de polissacarídeos e a posterior excreção do biopolímero, então exopolissacarídeo para o meio extracelular. Este processo depende de fatores como temperatura, pH, quantidade de oxigênio disponível, concentração de carbono e nitrogênio, além da espécie microbiana envolvida. (NOUHA, 2018) Sua extração, para posterior purificação, pode se dar tanto de formas físicas, quanto de formas químicas, tendo se obtido sucesso em diversos protocolos físicos, com exceção daqueles que envolvem aquecimento. (COMTE, 2006)

Por este motivo, tendo em vista os benefícios trazidos por este biopolímero, torna-se interessante a busca por novas fontes de produção do mesmo, visando diminuição de custos. (LIN et al., 2019)

3. Revisão Bibliográfica

3.1 Resíduos Agroindustriais

Quando falamos de consciência ambiental, é importante salientar sobre os danos ambientais causados pelo descarte inapropriado dos resíduos agroindustriais, que consistem em resíduos líquidos ou sólidos, gerados a partir do processamento de produtos de origem animal no ramo industrial. Usualmente o resíduo proveniente da produção é bem maior do que a quantidade produzida do material de interesse, (FILHO, 2017) sendo assim, dependendo da forma de descarte destes resíduos, estes podem acarretar em grandes problemas ao equilíbrio dos ecossistemas. Considerando a problemática da consciência ambiental, torna-se interessante a obtenção de novas formas de reaproveitamento destes resíduos, tendo em vista a diminuição do impacto ambiental causado por estes pela cadeia produtiva. (CUCUI et al., 2018)

Novas formas de reaproveitamento de resíduos agroindustriais estão sendo manipuladas pelas indústrias, onde estes podem ser reduzidos, modificados, ou ainda, tratados para serem reutilizados industrialmente. (CORREA, 2019) Estas estratégias, proporcionam a utilização de materiais acessíveis, biodegradáveis e nutritivos, que antes seriam apenas descartados na natureza. (FERREIRA, 2016)

Na indústria queijeira, destaca-se um resíduo proveniente do processamento de queijos, (COSTA, 2018) que pode vir a enriquecer meios de crescimento de microorganismos de interesse, como o soro de leite, subproduto de alto teor nutritivo que proporciona um excelente meio de cultura para o crescimento de microorganismos de capacidade probiótica. (RAOL, 2015; ARAGÓN-ROJAS, 2018) Resíduos agroindustriais também tem utilidade como bioprodutos de alto valor nutritivo, podendo ser úteis na nutrição animal, como na alimentação de ruminantes; (FERREIRA, 2016) como subprodutos agroindustriais na obtenção de substratos para compostagem, onde vem a fornecer adubos orgânicos, (CORREA, 2019) na produção de biocombustíveis, como o biogás, através do processo de biorrefinaria, (ANJUM, 2018) e na formação de bioplásticos. (SUKRUANSUWAN & NAPATHORN, 2018) Podem até ser utilizados na alimentação humana, por conta de suas propriedades nutritivas, como acontece na sua utilização em bebidas fermentadas, como o kéfir; (AIELLO, 2020) ou como o soro de leite, que ao invés de ser descartado no meio ambiente pode ser reutilizado e vir a servir como matéria prima de novos produtos, sendo valorizado nas alimentações humana e animal ou, ainda, na agricultura. (NUNES, 2018)

3.1.1 Soro de leite

Em indústrias que realizam o processamento do leite para sua conversão em derivados lácteos frequentemente é gerado um subproduto, altamente nutritivo. Contendo cerca de 70 a

90% da porção líquida do leite, e 50% de seus constituintes sólidos, denominamos soro de leite, este coproduto de alto valor nutricional. (LIZ, 2020; NUNES, 2018; ALVES, 2014) Estima-se que para cada 1 kg de queijo fabricado, sejam gerados de 6 a 9 L de soro de leite. (HAUSJELL, 2019; YADAV, 2015; TEIXEIRA, 2008)

O soro de leite quanto ao seu aspecto visual, possui uma coloração amarelada à esverdeada. (YADAV, 2015) Sua composição consiste em: alto teor de água, lactose, peptídeos biologicamente ativos, baixo teor de gordura, minerais, vitaminas hidrossolúveis e proteínas do soro, (ALVES, 2014; ESCALANTE, 2018) que são as restantes após a coagulação das caseínas do leite e detêm alto valor biológico. (YADAV, 2015)

O excedente deste subproduto é uma grande questão para as indústrias de processamento lácteo quanto ao seu destino, pois, apesar de altamente biodegradável, possui elevada carga orgânica e baixa alcalinidade. ((LOVATO, 2019; YADAV, 2015) Seu descarte inapropriado é responsável por grandes problemas ambientais, acarretando em prejuízos aos ecossistemas. (LIZ, 2020) Caso este descarte seja realizado no solo, pode causar alterações na estrutura dele, já se for feito no ambiente aquático pode causar danos a vida marinha, pela diminuição da concentração de oxigênio nesses ambientes. (HAUSJELL, 2019)

Existem várias aplicações possíveis para o reaproveitamento do soro de leite por conta da carga nutritiva de seus componentes. Possuem proteínas importantes (contendo os aminoácidos essenciais), além de açúcares que podem servir como fontes de carbono a serem utilizados em processos biotecnológicos. (NUNES, 2018)

Dentre suas aplicações, o soro de leite pode ser utilizado como insumo para a produção de lactulose, um dissacarídeo de importância na indústria farmacêutica, pelo seu uso como prebiótico atuando na constipação intestinal e na encefalopatia hepática. A lactulose é sintetizada a partir da lactose, componente presente em cerca de 80% da massa sólida do soro de leite. (ALBUQUERQUE, 2018)

O soro de leite também pode ter bons resultados na fertirrigação, que consiste na aplicação de fertilizantes na água de irrigação de plantas como a *Schinus molle* L., conhecida como pimenteira brasileira, importante por conter componentes antifúngicos, antibacterianos, antivirais, analgésicos e antiinflamatórios. (ABOU-DAHAB, 2019)

As águas residuais remanescentes da produção de queijo, restando o soro de leite, após receberem tratamento prévio de precipitação do NaOH, podem ser utilizadas na irrigação de tomates em ambientes que possuem condições salinas adversas. (PRAZERES, 2016)

Entre suas aplicações, ressalta-se o uso do soro de leite como substrato para o crescimento de microrganismos capazes de produzir metabólitos de interesse industrial, como na produção de lipase por *Candida lipolytica*, um bioproduto importante na indústria de produção de alimentos, detergentes, produtos farmacêuticos e têxteis. (SILVA, 2015) Além disso, o soro de leite pode vir a fornecer os nutrientes necessários para o crescimento de bactérias ácido lácticas (BAL), através da sua utilização como meio de cultura, onde estas virão a produzir metabólitos importantes, como o ácido láctico, exopolissacarídeos (EPS), e outros metabólitos de importância econômica. (ANTUNES, 2015; MALAKA, 2020)

3.2 Bactérias ácido lácticas

As bactérias ácido lácticas consistem em bactérias Gram-positivas, em formato de bastões ou cocos não-móveis, não produtoras de esporos, capazes de desenvolvimento em ambientes microaerófilos ou exclusivamente anaeróbicos, além disso, são catalase e oxidase negativas. Habitam o intestino humano e animal, além de serem encontradas, em carnes e laticínios, mas também associadas a plantas e alimentos fermentados. Seu nome deriva de seu principal produto de fermentação, o ácido láctico. (FESSARD, 2019; ALVAREZ-SIEIRO, 2016; SU, 2015; YU, 2015)

As BAL podem ser classificadas em dois grandes grupos: bactérias mesófilas e bactérias termófilas. As mesófilas, se desenvolvem em temperatura ótima de crescimento entre 30 a 33°C, enquanto as termófilas tem seu desenvolvimento ótimo entre 40 a 45°C. As primeiras são, geralmente, representadas pelos gêneros *Lactococcus* e *Leuconostoc*, e as segundas são representadas pelos gêneros de *Streptococcus* e *Lactobacillus*. (JAY, 2005) Através do seu processo de fermentação, estas bactérias metabolizam seus açúcares, gerando energia e ácido láctico, onde são caracterizadas como homofermentativas, quando possuem este como único produto da sua fermentação, ou heterofermentativas, quando além deste, geram lactato, dióxido de carbono, ácido acético e etanol. (BLAJMAN, 2020; RICE, 2020)

Utilizadas como culturas iniciadoras, são de importância na tecnologia de alimentos, onde atuam no processo de produção de queijos, leite fermentado, iogurtes, além do processamento de carnes, vegetais e bebidas alcoólicas. (VERA-PEÑA, 2019; WU, 2015) Detêm o status GRAS (*Generally Recognized as Safe*), que garante que são seguras para o uso em alimentos. (WANG, 2016; WU, 2015) Possuem importantes propriedades antimicrobianas, devido a produção de peptídeos antibacterianos, que atuam na defesa contra a invasão de microrganismos patogênicos. (GUTIÉRREZ, 2016) Algumas BAL, como *Enterococcus*, *Lactobacillus* e *Lactococcus*, apresentam propriedades probióticas, auxiliando no bom funcionamento gastrointestinal, trazendo melhorias ao sistema imune, entre outros benefícios para a saúde humana e animal. (DIAS, 2018; MÖRSCHBACHER, 2018)

As BAL são responsáveis pela síntese de moléculas bioativas de importância na indústria, como polissacarídeos que fornecem propriedades interessantes do ponto de vista alimentar, mas também do ponto de vista médico e farmacêutico. Ainda que o mercado seja dominado por polissacarídeos derivados de plantas e algas, as bactérias podem vir a fornecer um rico acervo dessas biomoléculas. (ZHU, 2020; ZEIDAN, 2017) Os exopolissacarídeos (EPS) são biopolímeros da membrana celular das BAL que podem estar levemente aderidos a esta, ou serem excretados no meio extracelular, derivando daí seu nome. São relevantes na interação da bactéria com o meio extracelular, onde possuem funções de adesão a superfícies, formação de biofilmes, manutenção da estrutura celular, proteção contra dessecação, entre outras. (ZHU, 2020; CASTRO-BRAVO, 2018; ZEYDAN, 2017) Na indústria alimentar são aproveitadas sua capacidade de modificar a textura de alimentos fermentados, melhorando sua consistência e conferindo um sabor agradável, além de fornecer valor nutricional a estes alimentos. Na indústria médica e farmacêutica são benéficas suas funções antitumorais, antimutagênicas, antibacterianas, além de redutoras de colesterol e reguladoras da função gastrointestinal. (ZHU, 2020; CASTRO-BRAVO, 2018)

Entre as bactérias do ácido lático, pela sua capacidade de produção de exopolissacarídeos, destacam-se aqui, as pertencentes a 4 importantes gêneros: Enterococcus, Lactobacillus, Lactococcus e Streptococcus.

Terceiro maior gênero no grupo das BAL, as bactérias do gênero Enterococcus são comumente encontradas em regiões como o trato gastrointestinal de humanos e animais, encontradas em alimentos como laticínios e carnes, além de serem encontradas na água, solo e plantas. (GARCIA-SOLACHE, 2019; ZHONG, 2017) Sua temperatura ideal de crescimento varia em torno de 42,7 a 47,8° C, convivendo normalmente na microbiota intestinal humana, porém em condições anormais podem vir a ser bactérias oportunistas, se tornando patogênicas ao organismo. (FISHER, 2019) Por serem boas reguladoras do funcionamento intestinal, são utilizadas como probióticos em humanos e animais. (HANCHI, 2018)

Lactobacillus é um gênero de bactérias gram-positivas, não esporuladas, catalase negativas, anaeróbicas facultativas e estritamente fermentativas, tem alta tolerância ao pH e são encontradas no trato gastrointestinal e vaginal humano. (CAPURSO, 2019; HUANG, 2018) Tem como utilidade o seu uso como probiótico, pra melhoria de textura e sabor de queijos, iogurtes e produtos fermentados em geral, além de algumas cepas, apresentarem a produção de compostos antioxidantes. (LI, 2019; SLOVER, 2008; ÄVALL-JÄÄSKELÄINEN, 2005)

As bactérias pertencentes ao gênero Lactococcus são esféricas, não esporuladas, gram positivas, anaeróbicas facultativas, produzindo o ácido lático a partir da lactose resultante da fermentação do leite. (SONG, 2017) Esse gênero é composto por centenas de cepas que são importantes como culturas iniciadoras na fermentação de laticínios como queijos e iogurtes, além de produzirem bacteriocinas que ajudam na preservação dos alimentos, aumentando seu tempo de prateleira. (KELLEHER, 2019)

O gênero Streptococcus compreende bactérias gram positivas, em formato de cocos que podem estar agrupados em pares ou cadeias, são aeróbicas facultativas, possuindo apenas um produto final na sua fermentação, o ácido lático, são homofermentativas. Comumente encontradas constituindo a microbiota bucal, onde podem ser responsáveis pelo surgimento de cáries, trato respiratório podendo causar pneumonia, intestino e trato genital. Ainda que possuam espécies que são patogênicas ao homem, sendo oportunistas ou não, a maioria das espécies deste gênero não são causadoras de doenças. (JIANG, 2020; DU TOIT, 2014)

Os exopolissacarídeos produzidos por esses gêneros são utilizados na indústria alimentícia, na produção de laticínios, como na melhora do sabor, textura e viscosidade de iogurtes (BROADBENT, 2003); na fermentação dos alimentos, ajudando na preservação de suas propriedades, prolongando sua vida útil; (MENDE, 2015) usados na indústria como agentes emulsificantes, antioxidantes e estabilizantes; (HOU, 2010; PAN, 2010) ou responsáveis por atividades antitumorais e imunomoduladoras. (NEHAL, 2019)

3.3 Exopolissacarídeos

Exopolissacarídeos (EPS), consistem em polímeros de cadeia longa, gerados como produtos do metabolismo de bactérias ácido lácticas, fazendo parte de sua parede celular e, sendo os biopolímeros extracelulares mais abundantes na matriz extracelular bacteriana, onde são

secretados. (IGNATOVA-IVANOVA & IVANOV, 2016; MALIK et al., 2015; BAJPAI et al., 2016; ZIADI et al., 2018; ZANNINI et al., 2016)

Os EPS podem ser classificados quanto ao tipo dos seus açúcares, em homoexopolissacarídeos, quando possuem apenas um tipo de monossacarídeo ou, em heteroexopolissacarídeos, quando possuem mais de um tipo de monossacarídeo. As duas formas de exopolissacarídeos são secretadas pela célula bacteriana para o meio extracelular. (ADAMU-GOVERNOR, 2018; IGNATOVA-IVANOVA & IVANOV, 2016; BAJPAI et al., 2016)

Usando, geralmente, a glicose, frutose e galactose como substrato, as bactérias ácido lácticas produzem EPS com acentuada complexidade estrutural, formando variados tipos, que diferem em forma, tamanho, estrutura química, e molecular, dependendo da cepa de BAL e das condições e composição do meio de cultura. A quantidade de EPS produzida também pode variar, de acordo com as cepas de BAL. (IGNATOVA-IVANOVA & IVANOV, 2016; MALIK, 2015) Essa grande variedade estrutural, confere diversas vantagens a setores alimentícios, médicos e farmacêuticos, devido à gama de produtos que podem ser ofertados a estes setores, além disso possuem o status GRAS, biocompatibilidade e não são tóxicos. (IGNATOVA-IVANOVA & IVANOV, 2016; BAJPAI, 2016; HAN, 2016)

Para as BAL, os EPS são importantes por conferir habilidades de sobrevivência, como na formação de biofilmes, auxiliando na adesão a superfícies, são importantes na absorção de nutrientes, na defesa contra antimicrobianos, além de ajudando-as quando estas se encontram em condições desfavoráveis, como em condições de ressecamento e na defesa contra microrganismos competidores. (BAJPAI et al., 2016, CAGGIANIELLO et al., 2016; ZANNINI et al., 2016) Além de fornecer o suporte necessário às comunidades microbianas para que estas sobrevivam em condições adversas, como em extremos de salinidade e temperatura, também são utilizados como bioabsorventes, biofloculantes e na remoção de metais pesados. (KIRAN, 2015)

Devido a seu arsenal de estruturas químicas, os EPS podem ser empregados em vários ramos industriais, como nas indústrias alimentícia, farmacêutica, médica e cosmética. Seu uso industrial se torna interessante por possuir capacidades emulsificantes, gelificantes e biosurfactantes. (BAJPAI et al., 2016, CAGGIANIELLO et al., 2016, KODALI et al., 2009)

EPS fornecem propriedades estruturais aos alimentos, sendo excelentes aditivos alimentares, melhorando sua textura, como em iogurtes; (CAGGIANIELLO et al., 2016) aroma, sabor e validade, como o EPS encontrado no Kefir, na forma do heteropolissacarídeo Kefiran, produzido por *Lactobacillus kefir* e *Lactobacillus kefiranofaciens*. (RYAN et al. 2015)

São benéficos à saúde humana, pelas suas propriedades antioxidantes, antitumorais, antibacterianas, redutoras de colesterol no sangue, funções imunomoduladoras, (RYAN et al. 2015) e, até mesmo, podem auxiliar em distúrbios gastrointestinais, como a gastrite. (BAJPAI et al., 2016) Outras propriedades medicinais, consistem em: úteis em cultura de tecidos, medicamentos, como antivirais, (ARENA et al., 2006) e tratamento do câncer cervical, além de serem atuantes como prebióticos. (RUSSO et al., 2012; CAGGIANIELLO et al., 2016)

O EPS purificado pode fornecer benefícios ao crescimento e viabilidade de microrganismos com capacidades probióticas. (ZANNINI et al., 2016; RUSSO et al., 2012)

Como no caso do probiótico *Bifidobacterium bifidum*, em que os EPS são sua fonte de carbono. (HONGPATTARAKEREA et al., 2012).

4. Objetivos

4.1 Objetivo Geral

Selecionar bactérias ácido lácticas produtoras de exopolissacarídeos utilizando o soro de leite como substrato.

4.2 Objetivos Específicos

- ✓ Caracterizar o soro de leite obtido das fábricas de produção de queijo de coalho quanto ao teor de acidez, proteína, lactose, pH e cinzas;
- ✓ Selecionar BAL isolada a partir do queijo de coalho artesanal que produzem de EPS utilizando o soro de leite como meio indutor.

5. Materiais e Métodos

5.1 Caracterização do soro de leite bovino

A acidez foi determinada utilizando o método Dornic; o pH foi determinado utilizando um pHmetro digital; o teor de proteínas utilizou o método de Bradford (1976); as cinzas foram quantificadas por gravimetria após incineração em forno de mufla à 550°C; a quantificação da lactose foi realizada por cromatografia líquida, utilizando um padrão de lactose. Para a extração das proteínas presentes no soro foi utilizado o método ácido térmico, segundo Florêncio et al. (2009).

5.2 Seleção de BAL produtora de EPS e meio de cultura

Foram avaliadas 30 bactérias ácido lácticas (BAL) pertencentes à coleção de isolados de queijo de Coalho artesanal produzido nos municípios da região Agreste e Sertão do Estado de Pernambuco, pertencentes ao LABTECBIO / CENAPESQ – UFRPE, que inclui os gêneros *Lactobacillus sp*, *Enterococcus sp*, *Lactococcus sp*. e *Streptococcus sp* estocadas em leite desnatado reconstituído (LDR) a 12% e 20% de glicerol, sob congelamento de -20°C. Para

reativação as culturas foram cultivadas em caldo de Man Rogosa e Sharpe - MRS (Himedia, M369) a 30 ou 37 °C em aerobiose por 18h. 1% do pré inóculo (10^9 UFC) foi cultivado em meio alternativo como o soro de queijo de coalho desproteínizado e previamente caracterizado.

5.3 Extração e quantificação de EPS

Após o tempo de cultivo o material fermentado foi centrifugado (10.000 rpm, 10 min 4°C). O meio livre de células foi tratado com etanol gelado 95% (3 v/v) para precipitação de EPS, durante 24h sob temperatura de 4°C, em seguida a solução foi centrifugada (5.000 rpm, 20 min a 4°C) e o pellet diluído em água ultrapura. A quantificação de açúcar total foi realizada pelo método do ácido fenol-sulfúrico (Dubois, 1956). O total de proteína foi determinado pelo método de Folin's Lowry (1951).

6. Resultados e Discussão

6.1 Caracterização do soro de leite bovino

O soro de leite foi caracterizado de forma tradicional, os resultados obtidos foram: acidez titulável entre 21° a 23° Dornic; pH 4,3; o teor de proteínas 1,10 mg/mL; cinzas 0,38% e lactose 0,96%.

Acidez Titulável	pH	Teor de proteínas	Cinzas	Lactose
21° a 23° Dornic	4,3	1,10 mg/mL	0,38%	0,96%

A composição do soro do leite é extremamente variada, pois o leite sofre influências externas, ou seja do meio ambiente em que o animal se encontra, assim como de sua alimentação; e internas, tais como o tempo de ordenha e de parição do animal, além da espécie animal e também da raça, sendo considerado uma média. (DE ALMEIDA, 2009)

Em literatura consultada, Lievore et al. (2015) em seus estudos químicos de caracterização e aplicação do soro de leite em leites fermentados, observou uma acidez de 0,61%, (de acordo com a Instrução Normativa n° 68 - Brasil, 2006) pH 4,37, o teor proteico de 0,84 %, cinzas 0,61%, lactose de 4,18%. El-Hatmi et al. (2015), estudando o soro de leite bovino obteve valores de pH de 6,58, a 20°C, acidez 14,1° D, cinzas 0,710% e proteína 2,59%. Sendo assim, os nossos valores estão próximos do observado por outros autores.

6.2 Seleção de BAL produtora de EPS

Das 30 bactérias selecionadas para determinar a melhor produtora de exopolissacarídeo (EPS), 19 pertenciam ao gênero *Enterococcus*, 7 do gênero *Streptococcus*, 2 gênero *Lactobacillus*, e 2 não foram identificadas. Sendo a maior produtora de EPS a bactéria 96 V

pertencente ao gênero *Lactobacillus*, com 6,33 mg/ml. Todos os resultados são mostrados na Tabela 01.

Na literatura é conhecido o efeito de EPS no crescimento de microorganismos probióticos, como por exemplo: O EPS glucan-DM5 estimulou o crescimento de *L. plantarum* DM5, *L. acidophilus* NRRL B-4496 e *B. infantis* NRRL B-41661. (DAS et al., 2014) O EPS β -D-glucano também contribuiu para o crescimento de *Pediococcus parvulus*. (RUSSO et al., 2012)

Existem vários autores que reportam a utilização de bactérias ácido lácticas como produtoras de EPS, como por exemplo: Bancalari et al. (2019), que observaram a produção de EPS do *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 2214 de 4,64 mg/ml, em 13 horas de cultivo, Ali et al. (2018), utilizando diferentes cepas de *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus*, obteve uma variação de 0,120 a 0,175 mg/mL de EPS em amostras de iogurtes, em 24 horas de cultivo. Os valores obtidos foram diferentes dos que os deste trabalho, provavelmente pela diferença nos tempos de cultivo.

Diferentes resultados foram obtidos por Huang et al. (2017), em seu trabalho com amostras isoladas de picles de mostarda, como *Lactobacillus plantarum*, e três cepas de *Lactobacillus pentosus* (NLD 4, SLC13, NLD16), teve um rendimento de 0,34 mg/mL \pm 0,04, 0,32 mg/mL \pm 0,02, 0,43 mg/mL \pm 0,04 e 0,35 mg/mL \pm 0,01, respectivamente. Estando esses valores muito abaixo dos apresentados neste trabalho.

Em outro trabalho, Mostefaoui et al. (2014) isolou bactérias ácido lácticas no leite cru de camela capazes de produzir EPS em soro de leite, entre estas o *Enterococcus* sp. produziu 0,07 a 0,242 mg/mL de EPS, *Streptococcus* 0,126 a 0,319 mg/mL de EPS, e *Lactobacillus* 0,16 a 0,74 mg/mL de EPS. Wang et al. (2008), obteve um rendimento de até 1,215mg/mL, com *Lactobacillus kefiranofaciens* ZW3 e outras linhagens, rendimento que podia aumentar para 1,675mg/mL se o meio fosse aquecido a 100° C por 30 minutos e, posteriormente, centrifugado e quantificado.

Os resultados apresentados pelo nosso estudo foram superiores aos analisados da literatura, destacando-se a produção de EPS pelo gênero *Lactobacillus*, que obteve o maior rendimento de exopolissacarídeos nesta pesquisa. Resultados semelhantes foram encontrados por Hamet (2015) e Bomfim (2019) que também obtiveram alto rendimento de exopolissacarídeos por bactérias do gênero *Lactobacillus*. Em contraste a bactéria que obteve o menor rendimento foi a 124V pertencente ao gênero *Enterococcus*.

Tabela 1. Seleção de bactérias ácido lácticas produtoras de EPS crescidas em soro de leite bovino.

Número	Gênero	Quantificação de EPS (mg/mL)
2C	<i>Enterococcus</i>	4,04
3C	<i>Enterococcus</i>	3,55
7C	<i>Enterococcus</i>	1,14
10C	<i>Enterococcus</i>	4,84
119V	<i>Enterococcus</i>	0,61
121V	<i>Enterococcus</i>	1,62
124V	<i>Enterococcus</i>	0,00

125V	<i>Enterococcus</i>	0,58
128V	<i>Enterococcus</i>	1,96
131V	<i>Enterococcus</i>	1,19
156V	<i>Enterococcus</i>	1,63
162V	<i>Enterococcus</i>	3,49
165V	<i>Enterococcus</i>	2,06
166V	<i>Enterococcus</i>	1,63
175V	<i>Enterococcus</i>	3,16
178V	<i>Enterococcus</i>	1,10
187V	<i>Enterococcus</i>	2,56
190V	<i>Enterococcus</i>	1,43
197V	<i>Enterococcus</i>	2,04
8C	<i>Streptococcus</i>	4,51
13C	<i>Streptococcus</i>	4,36
14C	<i>Streptococcus</i>	5,81
15C	<i>Streptococcus</i>	4,23
122V	<i>Streptococcus</i>	2,38
129V	<i>Streptococcus</i>	1,05
185V	<i>Streptococcus</i>	1,71
96V	<i>Lactobacillus</i>	6,33
181V	<i>Lactobacillus</i>	2,69
168V	NÃO IDENTIFICADO	-
172V	NÃO IDENTIFICADO	-

7. Considerações finais

Os resultados apresentados aqui se mostraram superiores aos encontrados na literatura, exibindo o grande potencial de produção de exopolissacarídeos por bactérias ácido lácticas, usando como substrato o soro de leite. Demonstrando a importância das bactérias ácido lácticas na produção de exopolissacarídeos utilizando um meio alternativo que ajuda a diminuir os possíveis impactos na natureza do descarte de resíduo agroindustrial com alta demanda proteica. Exopolissacarídeos estes que podem ter várias utilidades como demonstrado neste trabalho, apresentando alto potencial econômico e industrial.

8. Referências

AARTI, C. et al. In vitro investigation on probiotic, anti-Candida, and antibiofilm properties of *Lactobacillus pentosus* strain LAP1. **Archives of Oral Biology**, v. 89, p. 99-106, 2018.

ABOU-DAHAB, T. A. M.; EWIS, S. T.A.; EL-KADY, A. F.Y. Towards sustainable landscape: Feasibility of using different cheese whey types in the fertigation of *Schinus molle* L. seedlings. **Journal of Cleaner Production**, v. 235, p. 1051-1060, 2019.

ADAMU-GOVERNOR, O. L. et al. Screening for gum-producing Lactic acid bacteria in Oil palm (*Elaeis guineensis*) and raphia palm (*Raphia regalis*) sap from South-West Nigeria. **Food Science & Nutrition**, v. 6, p. 2047–2055, 2018.

AIELLO, F. et al. Improving kefir bioactive properties by functional enrichment with plant and agro-food waste extracts. **Fermentation**, v. 6, n. 3, p. 83, 2020.

ALI, K. et al. Isolation and characterization of exopolysaccharide-producing strains of *Lactobacillus bulgaricus* from curd. **Food Science & Nutrition**, v. 7, p.1207–1213, 2019.

ALVAREZ-SIEIRO, P. et al. Bacteriocins of lactic acid bacteria: extending the family. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 100, n. 7, p. 2939-2951, 2016.

ALVES, M. P. et al. Soro de leite: Tecnologias para o processamento de coprodutos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 69, n. 3, p. 212-226, mai/jun, 2014.

ANJUM, M.; QADEER, S.; KHALID, A. Anaerobic co-digestion of catering and agro-industrial waste: a step forward toward waste biorefinery. **Frontiers in Energy Research**, v. 6, p. 116, 2018.

ANTUNES, S. et al. Conversion of cheese whey into a fucose-and glucuronic acid-rich extracellular polysaccharide by *Enterobacter A47*. **Journal of biotechnology**, v. 210, p. 1-7, 2015.

ARAGÓN-ROJAS, S.; QUINTANILLA-CARVAJAL, M. X.; HERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, H. Multifunctional role of the whey culture medium in the spray drying microencapsulation of lactic acid bacteria. **Food Technology and Biotechnology**, v. 56, n. 3, p. 381-397, 2018.

ARENA, M.P., CAPOZZI, V., RUSSO, P. *et al.* Immunobiosis and probiosis: antimicrobial activity of lactic acid bacteria with a focus on their antiviral and antifungal properties. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 102, p. 9949–9958, 2018.

ARENA, A. et al. Antiviral and immunoregulatory effect of a novel exopolysaccharide from a marine thermotolerant *Bacillus licheniformis*. **International Immunopharmacology**, v. 6, p. 8–13, 2006.

ÅVALL-JÄÄSKELÄINEN, S.; PALVA, A. *Lactobacillus* surface layers and their applications. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 29, n. 3, p. 511-529, 2005.

BAJPAI, V. K. et al. Exopolysaccharide and lactic acid bacteria: Perception, functionality and prospects. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, v. 11, p. 1-23, 2016.

BAJPAI, V. K. et al. Extraction, isolation and purification of exopolysaccharide from lactic acid bacteria using ethanol precipitation method. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, v. 11, p. 573-576, 2016.

BANCALARI, E. et al. Impedance microbiology to speed up the screening of lactic acid bacteria exopolysaccharide production. **International Journal of Food Microbiology**, v. 306, p. 108268, 2019.

BLAJMAN, J. E. et al. The role of homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria for alfalfa silage: a meta-analysis. **The Journal of Agricultural Science**, v. 158, n. 1-2, p. 107-118, 2020.

BOMFIM, V. B. **Produção e extração de exopolissacarídeos de cepas de *Lactobacillus spp.* potencialmente probióticas**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba. Paraíba, p. 80. 2019.

BOVO, F.; CORASSIN, C.H.; OLIVEIRA, C.A.F. Descontaminação de Aflatoxinas em Alimentos por Bactérias Ácido-Láticas. **UNOPAR Científica: Ciências biológicas e da saúde**, v. 12(2), p. 15-21, 2010.

BROADBENT, J. R. et al. Biochemistry, genetics, and applications of exopolysaccharide production in *Streptococcus thermophilus*: a review. **Journal of dairy science**, v. 86, n. 2, p. 407-423, 2003.

CAGGIANIELLO, G.; KLEEREBEZEM, M.; SPANO, G. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: from health-promoting benefits to stress tolerance mechanisms. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, p. 3877–3886, 2016.

CAPURSO, L. Thirty years of *Lactobacillus rhamnosus* GG: a review. **Journal of clinical gastroenterology**, v. 53, p. S1-S41, 2019.

CASTRO-BRAVO, N. et al. Interactions of surface exopolysaccharides from *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* within the intestinal environment. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 2426, 2018.

COLOMBO, M., CASTILHO, N. P. A., TODOROV, S. D. et al. Beneficial properties of lactic acid bacteria naturally present in dairy production. **BMC Microbiol**, v. 219, 2018.

COMTE, S.; GUIBAUD, G.; BAUDU, M. Relations between extraction protocols for activated sludge extracellular polymeric substances (EPS) and complexation properties of Pb and Cd with EPS: Part II. Consequences of EPS extraction methods on Pb²⁺ and Cd²⁺ complexation. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 38, n. 1-2, p. 246-252, 2006.

CORREA, B. A. et al. Reaproveitamento de resíduos orgânicos regionais agroindustriais da Amazônia Tocantina como substratos alternativos na produção de mudas de alface. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v.9, n.1, p.97-104, 2019.

COSTA, N. R. et al. Ohmic Heating: A potential technology for sweet whey processing. **Food Research International**, v. 106, p. 771-779, 2018.

CRUZ, A.G. et al. Processamento de produtos lácteos: Queijos, Leites Fermentados, Bebidas Lácteas, Sorvete, Manteiga, Creme de Leite, Doce de Leite, Soro em Pó e Lácteos Funcionais. 1 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

CUCUI, G. et al. Quantifying the Economic Effects of Biogas Installations for Organic Waste from Agro-Industrial Sector. **Sustainability**, v. 10, p. 2582, 2018.

DAS, D.; BARUAH, R.; GOYAL, A. A food additive with prebiotic properties of an -d-glucan from *Lactobacillus plantarum* DM5. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 69, p. 20–26, 2014.

DE ALBUQUERQUE, T. L. et al. Immobilization of β -galactosidase in glutaraldehyde-chitosan and its application to the synthesis of lactulose using cheese whey as feedstock. **Process Biochemistry**, v. 73, p. 65-73, 2018.

DE ALMEIDA, G. L. P. **Climatização na pré-ordenha de vacas da raça girolando e seus efeitos na produção e qualidade do leite e no comportamento animal**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Programa de Pós Graduação de Engenharia Agrícola, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Pernambuco, p.134. 2009.

DIAS, J.F. et al. Acid Lactic Bacteria as a Bio-Preservant for Grape Pomace Beverage. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 2, p. 58, 2018.

DOS SANTOS, T. F. et al. Immunomodulatory Effects of *Lactobacillus plantarum* Lp62 on Intestinal Epithelial and Mononuclear Cells. **BioMed Research International**, v. 2016, p. 8, 2016.

DU TOIT, M. et al. The genus *Streptococcus*. **Lactic acid bacteria: biodiversity and taxonomy**, p. 457-505, 2014.

EL-HATMI, H. et al. Comparison of composition and whey protein fractions of human, camel, donkey, goat and cow milk. **Mljekarstvo**, v. 65 (3), p. 159-167, 2015.

ESCALANTE, H. et al. Anaerobic digestion of cheese whey: Energetic and nutritional potential for the dairy sector in developing countries. **Waste Management**, v. 71, p. 711–718, 2018.

FERREIRA, A. C. H. et al. In situ degradability of elephant grass ensiled with increasing levels of pineapple agro-industrial byproduct. **In: Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 37, n. 4, suplemento 1, p. 2807-2818, 2016.

FESSARD, A.; REMIZE, F. Genetic and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from tropically grown fruits and vegetables. **International journal of food microbiology**, v. 301, p. 61-72, 2019.

FILHO, D. V. C. et al. Aproveitamento de resíduos agroindustriais na elaboração de subprodutos. **In: II CONGRESSO INTERNACIONAL DAS CIÊNCIAS AGRÁRIAS. COINTER – PDVAgro**, 2017.

FISHER, K.; PHILLIPS, C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. **Microbiology**, v. 155, n. 6, p. 1749-1757, 2009.

GARCÍA-SOLACHE, M.; RICE, L. B. The *Enterococcus*: a model of adaptability to its environment. **Clinical microbiology reviews**, v. 32, n. 2, p. e00058-18, 2019.

GUTIÉRREZ, S. et al. Effect of fermented broth from lactic acid bacteria on pathogenic bacteria proliferation. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 4, 2016.

HAN, X. et al. Improvement of the Texture of Yogurt by Use of Exopolysaccharide Producing Lactic Acid Bacteria. **BioMed Research International**, v. 2016, p. 6, 2016.

HANCHI, H. et al. The genus Enterococcus: between probiotic potential and safety concerns—an update. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 1791, 2018.

HASNA, H. et al. The Genus Enterococcus: Between Probiotic Potential and Safety Concerns—An Update. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1791, 2018.

HAUSJELL, J. et al. Valorisation of cheese whey as substrate and inducer for recombinant protein production in *E. coli* HMS174(DE3). **Bioresource Technology Reports**, v. 8, p. 100340, 2019.

HILL, D. et al. The *Lactobacillus casei* group: history and health related applications. **Frontiers in microbiology**, p. 2107, 2018.

HONGPATTARAKEREA, T. et al. In vitro prebiotic evaluation of exopolysaccharides produced by marine isolated lactic acid bacteria. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 846–852, 2012.

HOU, Z. et al. Investigation into the physicochemical stability and rheological properties of β -carotene emulsion stabilized by soybean soluble polysaccharides and chitosan. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 15, p. 8604-8611, 2010.

HUANG, J. et al. Characterization of high exopolysaccharide producing *Lactobacillus* strains isolated from mustard pickles for potential probiotic applications. **International Microbiology**, v. 20(2), p. 75-84, 2017.

HUANG, C. et al. Identification and classification for the *Lactobacillus casei* group. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1974, 2018.

IGNATOVA-IVANOVA, T.; IVANOV, R. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria as corrosion inhibitors. **Sociedade Americana de Nutrição (ASN)**, v. 3, n. 1, p. 51-59, 2016.

JAY, J.M. *Microbiologia de Alimentos*. 6 ed. São Paulo: Artmed, 2005.

JIANG, S., LI, M., FU, T. et al. Clinical Characteristics of Infections Caused by *Streptococcus Anginosus* Group. **Sci Rep**, v. 10, p. 9032, 2020.

KELLEHER, P. et al. The *Lactococcus lactis* pan-plasmidome. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 707, 2019.

KIRAN, G. S. et al. Characterization of an exopolysaccharide from probiont *Enterobacter faecalis* MSI12 and its effect on the disruption of *Candida albicans* biofilm. **RSC Advances**, v. 5, n. 88, p. 71573-71585, 2015.

KODALI, V.P.; DAS, S.; SEN, R. An exopolysaccharide from a probiotic: Biosynthesis 427 dynamics, composition and emulsifying activity. **Food Research International**, v. 42, p. 695-99, 2009.

- KOSTELAC, D. et al. Lactic acid bacteria isolated from equid milk and their extracellular metabolites show great probiotic properties and anti-inflammatory potential. **International Dairy Journal**, v. 122, p. 104828, 2021.
- LI, Z. et al. Enhanced antioxidant activity for apple juice fermented with *Lactobacillus plantarum* ATCC14917. **Molecules**, v. 24, n. 1, p. 51, 2018.
- LIEVORE, P. et al. Chemical characterisation and application of acid whey in fermented milk. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52(4), p. 2083–2092, 2015.
- LIN, T. et al. Optimal economic productivity of exopolysaccharides from lactic acid bacteria with production possibility curves. **Food Science & Nutrition**, v. 7, p. 2336–2344, 2019.
- LIZ, G. R. de et al. Stability of bifidobacteria entrapped in goat's whey freeze concentrate and inulin as wall materials and powder properties. **Food Research International**, v. 127, p. 108752, 2020.
- LOVATO, G. et al. Methane Production by Co-Digesting Vinasse and Whey in an AnSBBR: Effect of Mixture Ratio and Feed Strategy. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 187, p. 28–46, 2019.
- MALAKA, R. et al. Assessment of exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ropy strain in different substrate media. **Food science & nutrition**, v. 8, n. 3, p. 1657-1664, 2020.
- MALIK, A. et al. Sucrase Activity and Exopolysaccharide Partial Characterization From Three *Weissella confusa* Strains. **HAYATI Journal of Biosciences**, v. 22, p.130-135, 2015.
- MATOUKOVÁ, D.; KUBIZNIAKOVÁ, P. Microbiology of brewing – Lactic Acid Bacteria and Cultivation Methods of their Detection – Part I. **KVASNY PRUMYSL, [S. l.]**, v. 61, n. 3, p. 76-88, 2015.
- MENDE, S.; ROHM, H.; JAROS, D. Influence of exopolysaccharides on the structure, texture, stability and sensory properties of yoghurt and related products. **International Dairy Journal**, v. 52, p. 57-71, 2016.
- MÖRSCHBACHER, A.P. et al. Assessment of selenium bioaccumulation in lactic acid bacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 10, n. 12, 2018.
- MOSTEFAOUI, A. et al. Screening for exopolysaccharide-producing strains of thermophilic lactic acid bacteria isolated from Algerian raw camel milk. **African Journal of Microbiology Research**, v. 8(22), p. 2208-2214, 28 May, 2014.
- NEHAL, F. et al. Characterization, high production and antimicrobial activity of exopolysaccharides from *Lactococcus lactis* F-mou. **Microbial pathogenesis**, v. 132, p. 10-19, 2019.
- NOUHA, K. et al. Critical review of EPS production, synthesis and composition for sludge flocculation. **Journal of environmental sciences**, v. 66, p. 225-245, 2018.

NUNES, L. A. et al. O soro de leite, seus principais tratamentos e meios de valorização. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 11, n. 1, p. 301-326, 2018.

PAN, D.; MEI, X. Antioxidant activity of an exopolysaccharide purified from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 12. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, n. 3, p. 908-914, 2010.

PRAZERES, A. R. et al. Agricultural reuse of cheese whey wastewater treated by NaOH precipitation for tomato production under several saline conditions and sludge management. **Agricultural Water Management**, v. 167, p. 62-74, 2016.

RAOL, G. G. et al. Utilization of agro-industrial waste for β -galactosidase production under solid state fermentation using halotolerant *Aspergillus tubingensis* GR1 isolate. **3 Biotech**, v. 5, n. 4, p. 411-421, 2015.

RICE, T. et al. Isolation, characterisation and exploitation of lactic acid bacteria capable of efficient conversion of sugars to mannitol. **International journal of food microbiology**, v. 321, p. 108546, 2020.

RUSSO, P. et al. Beta-glucans improve growth, viability and colonization of probiotic microorganisms. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 6026-6039, 2012.

RYAN, P. M. et al. Sugar-coated: exopolysaccharide producing lactic acid bacteria for food and human health applications. **Food & Function**, v. 6, p. 679-693, 2015.

SILVA, M. A. et al. Reuse of whey cheese for lipase production by *Candida lipolytica*. **Chemical Engineering Transactions**, v. 43, p. 331-336, 2015.

SLOVER, C. M.; DANZIGER, L. *Lactobacillus*: a review. **Clinical Microbiology Newsletter**, v. 30, n. 4, p. 23-27, 2008.

SONG, A.A.L., IN, L.L.A., LIM, S.H.E. et al. A review on *Lactococcus lactis*: from food to factory. **Microb Cell Fact**, v. 16, p. 55, 2017.

STAUDACHER, H. M. et al. A Diet Low in FODMAPs Reduces Symptoms in Patients With Irritable Bowel Syndrome and A Probiotic Restores Bifidobacterium Species: A Randomized Controlled Trial. **Gastroenterology**, v. 153, p. 936-947, 2017.

SU, J. et al. Antioxidant properties of wine lactic acid bacteria: *Oenococcus oeni*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, p. 5189-5202, 2015.

SUKRUANSUWAN, V.; NAPATHORN, S.C. Use of agro-industrial residue from the canned pineapple industry for polyhydroxybutyrate production by *Cupriavidus necator* strain A-04. **Biotechnology for Biofuels**, v. 11, p. 202, 2018.

TEIXEIRA, L.; FONSECA, L. Perfil físico-químico do soro de queijos mozzarella e minas-padrão produzidos em várias regiões do estado de Minas Gerais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v. 60, n. 1, p. 243-250, 2008.

VERA-PEÑA, M. Y.; CORTÉS RODRÍGUEZ, Misael; VALENCIA-GARCÍA, Francia Elena. Secado por atomización de bacterias ácido lácticas: una revisión. **Ingeniería y Ciencia**, v. 15, n. 29, p. 179-213, 2019.

WANG, M. et al. Lactic acid bacteria as mucosal delivery vehicles: a realistic therapeutic option. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 100, 5691–5701, 2016.

WANG, Y. et al. Physicochemical properties of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* ZW3 isolated from Tibet kefir. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 43, p. 283–288, 2008.

WU, Q. et al. Towards galactose accumulation in dairy foods fermented by conventional starter cultures: Challenges and strategies. **Trends in Food Science & Technology**, v. 41, p. 24-36, 2015.

WYSZYNSKA, A. et al. Lactic acid bacteria—20 years exploring their potential as live vectors for mucosal vaccination. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, p. 2967–2977, 2015.

XIAO, L., FENG, Q., LIANG, S. *et al.* A catalog of the mouse gut metagenome. **Nat Biotechnol**, v. 33, p. 1103–1108, 2015.

YADAV, J. S. S. et al. Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. **Biotechnology Advances**, v. 33, p. 756–774, 2015.

YU, J. et al. Molecular identification and quantification of lactic acid bacteria in traditional fermented dairy foods of Russia. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 8, p. 5143-5154, 2015.

ZANNINI, E. et al. Production, properties, and industrial food application of lactic acid bacteria-derived exopolysaccharides. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, p. 1121–1135, 2016.

ZEIDAN, A. A. et al. Polysaccharide production by lactic acid bacteria: from genes to industrial applications. **FEMS microbiology reviews**, v. 41, n. Supp 1, p. S168-S200, 2017.

ZHAO, G. et al. The correlation between colonization and the biological properties of *Lactobacillus* sp. **Food Bioscience**, v. 36, p. 100613, 2020.

ZHONG, Z. et al. Comparative genomic analysis of the genus *Enterococcus*. **Microbiological research**, v. 196, p. 95-105, 2017.

ZHU, H. et al. Advances in Nutritional Function of Extracellular Polysaccharides from Lactic Acid Bacteria. **Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias**, v. 30, n. 1, p. 345-354, 2020.

ZIADI, M. et al. Evaluation of the Efficiency of Ethanol Precipitation and Ultrafiltration on the Purification and Characteristics of Exopolysaccharides Produced by Three Lactic Acid Bacteria. **Hindawi BioMed Research International**, v. 2018, p. 11, 2018.