

Avaliação das alterações físico-químicas em iogurte adicionado de culturas probióticas

Islaine Maria Faria Biscaia (CEFET-PR) islainebiscaia@hotmail.com

Dr. Carlos César Stadler (CEFET-PR) estadler@pg.cefetpr.com.br

Dr. Luiz Alberto Pilatti (CEFET-PR) lapilatti@pg.cefetpr.com.br

Resumo

A procura por alimentos cada vez mais saudáveis fez com que fosse estudada a incorporação de bactérias chamadas probióticas, por recompor a microbiota intestinal, em um alimento saudável como o iogurte. As bactérias probióticas são benéficas à saúde, e é por isso que atualmente o uso delas vêm se tornando cada vez maior e constante. Esses alimentos incorporados com bactérias probióticas são incluídos no grupo dos alimentos funcionais. No presente trabalho, houve o desenvolvimento de um iogurte tradicional e nele foi adicionado bactérias probióticas próprias e previamente estudadas, bem como a análise deste iogurte para verificação de sua viabilidade.

Palavras-chave: Probiótico, Bactérias Probióticas, Iogurte

1. Introdução

O iogurte desenvolvido é considerado um alimento probiótico, que são produtos que carregam de forma viável, bactérias da flora intestinal humana, quando estes forem destinados ao consumo humano (MITSUOKA, 1984).

Bactérias probióticas são aquelas responsáveis por recompor a microbiota intestinal, sendo agentes benéficos à saúde e podem ser usadas isoladas ou combinadas com outras bactérias lácticas, interagindo de diversas formas para o seu desenvolvimento e funcionabilidade. O uso de bactérias probióticas em produtos lácteos, na atualidade, é comum devido aos efeitos benéficos proporcionados como: redução dos efeitos da intolerância a lactose, possível diminuição do colesterol sérico, atividade anticarcinogênica e, mais recentemente, pesquisadores têm proposto sua utilização no tratamento auxiliar da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) pela inativação do vírus HIV (KIM, 1998; O'SULLIVAN et al, 1992).

As bactérias lácticas e as bactérias bífidas são as principais bactérias saprófitas comprometidas pelo uso de antibióticos. Quando, por algum modo, a microbiota intestinal foi desbalanceada por tratamentos com antibióticos, quimioterapia, radioterapia ou por situações de stress, os tratamentos usados para esses casos, podem causar reações diversas. Uma delas pode ser a diarreia, que elimina os microrganismos benéficos, importantes para o equilíbrio da flora intestinal. Por isso, as bactérias lácticas em conjunto com as bactérias bífidas agem no organismo de maneira benéfica e completa (MITSUOKA, 1984).

As bactérias bífidas são bacilos Gram positivos, anaeróbios, sensíveis ao oxigênio. Algumas destas bactérias são tolerantes ao ar, enquanto outros são extremamente sensíveis (MITSUOKA, 1984).

As bactérias mais comumente utilizadas para a suplementação do iogurte são *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum*, que podem ser isoladas do próprio trato intestinal do homem e dos animais.

Essas bactérias foram incorporadas ao iogurte, juntamente com as bactérias do processamento normal do iogurte que são *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*.

Os alimentos probióticos estão incluídos no grupo dos alimentos funcionais que recebem denominação internacional de *Foods for Specified Health Use* (FOSHU). Desta maneira, sua suplementação torna-se interessante como fator de proteção da flora intestinal e suas funções.

As culturas probióticas utilizadas no iogurte desenvolvido neste trabalho foram: *Lactobacillus acidophilus* denominada de La-5, obtida através de doação da empresa Chr Hansen e *Bifidobacterium bifidum* denominada de Bb-12, obtido por doação pela empresa Chr Hansen, além das bactérias próprias da elaboração do iogurte (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*) denominadas de YC-X11 da empresa Chr Hansen.

Foi desenvolvido um iogurte tradicional adicionado de cepas de bactérias probióticas em dois blocos (duplicata); escolhidas as bactérias probióticas de maneira eficaz para sua viabilidade e sobrevivência. O iogurte ficou armazenado sob refrigeração durante o período de trinta dias, tempo em que foram realizadas as análises físico-químicas em intervalos especificados, com base na preconização da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), no que diz respeito aos padrões de qualidade e identidade de iogurtes.

Avaliação das alterações físico-químicas em um iogurte adicionado de culturas probióticas.

O iogurte desenvolvido, adicionado de bactérias probióticas, é um produto alimentício com propriedade funcionais no que diz respeito à recomposição da microflora intestinal e melhorias no sistema imunológico (KIM, 1998; O'SULLIVAN et al, 1992).

2. Fermentação láctica

A fermentação láctica constitui uma das formas mais antigas de conservação de produtos oriundos da agricultura ou da indústria agroalimentar. Esse tipo de fermentação está relacionada em primeiro lugar com os produtos lácteos (iogurte, queijos, manteiga e creme), mas também com carnes, frios, pães, cerveja, vinho entre outros. A fermentação láctica é feita por diversas bactérias chamadas lácticas (BL) que convertem os açúcares do meio em ácido láctico (PIARD, LOIR, POQUET et al, 2001).

A fermentação é o processo metabólico em que os carboidratos e compostos afins são oxidados com liberação de energia em ausência de qualquer influência externa. As bactérias ácido lácticas, como microrganismos fermentadores, precisam de sistemas funcionais de transporte de elétrons ao grupo hemo ou a citocromos, e obtém sua energia por fosforilação oxidativa a nível de substrato (JAY, 1994).

3. Processamento do iogurte

O iogurte é o leite fermentado ou coalhada medicinal. É preparado por quase todos os povos da Europa oriental (Turquia, Bulgária, Sérvia, Grécia, România) e Arábia, onde constitui um alimento corrente e popular desde épocas remotas, como leite de grande digestibilidade. O paladar é ótimo e tem um aroma peculiar e agradável.

O iogurte é uma associação de microrganismos, que vivem em simbiose, formada pelo *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*.

Sendo o iogurte um produto biológico e de grande valor dietético, o emprego de conservantes ou inibidores (químicos) de fermentação deve ser excluído na sua manipulação, pois os inibidores vêm eliminar totalmente o seu valor terapêutico e torná-lo um produto de difícil digestão.

Como a cultura do iogurte é uma associação simbiótica, o pH e a temperatura ótima para o desenvolvimento do *Streptococcus thermophilus* estão ao redor de 6,8 e 38°C, enquanto que o *Lactobacillus bulgaricus* estão compreendidos em 6,0 e 43°C. As culturas de *Streptococcus thermophilus* alcançam 90° Dornic de acidez, enquanto que as culturas de *Lactobacillus bulgaricus*, chegam até 140° Dornic.

Entretanto, a cultura do iogurte deve conter uma porcentagem igual dos dois microrganismos, do contrário não se obterá a consistência e a característica desejável.

Na fermentação do iogurte, *Streptococcus thermophilus* se desenvolve inicialmente com grande intensidade gerando um ambiente favorável para o microorganismo *Lactobacillus bulgaricus*, que por consequência terão seu desenvolvimento intensificado.

Assim, as duas culturas se completam em um desenvolvimento simbiótico, porém devem sempre estar em igualdade de porcentagem. Para isso, deve-se sempre controlar as a equivalência das culturas certificando-se do equilíbrio entre as mesmas (BEHMER, 1999).

4. Bactérias utilizadas no desenvolvimento do iogurte

4.1. Bactérias lácticas

4.1.1. Gênero *Lactobacillus*

Outro gênero que integra o mundo dos agentes probióticos é o *Lactobacillus*, isolado pela primeira vez por MORO em 1900, a partir das fezes de lactentes amamentados ao peito materno. Este investigador atribuiu-lhes o nome de *Bacillus acidophilus*, designação genérica dos lactobacilos intestinais. Estes microrganismos são geralmente caracterizados como Gram positivos, incapazes de formar esporos, desprovidos de flagelos, possuindo forma bacilar ou cocobacilar, e aerotolerantes ou anaeróbios. O gênero compreende, neste momento, 56 espécies oficialmente reconhecidas; as mais utilizadas para fins de aditivo dietético são *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* e *L. casei*. ou *L. acidophilus*.

Pertencente ao gênero *Lactobacillus*, família *Lactobacillaceae*, estes microrganismos são bacilos geralmente largos e finos, que formam cadeias na maioria de suas espécies. São microaerófilos, catalase positivo, Gram negativos, e fermentam os açúcares produzindo ácido láctico com principal produto. Se são homofermentativos, fermentam o açúcar formando principalmente, ácido láctico e insignificantes quantidades de ácido acético, dióxido de carbono e outros produtos; se são heterofermentativos, produzem ácido láctico, e uma importante quantidade de compostos voláteis, entre eles se encontram o álcool (JAY, 1994). O *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, estão entre os lactobacilos homofermentativos. O *Streptococcus thermophilus*, pertencente ao gênero *Streptococcus*, família *Lactobacillaceae*, são cocos que formam cadeias curtas ou largas, e são homofermentativos (FRAZIER e WESTHOFF, 1993).

4.2. Bactérias bífidas

4.2.1. Gênero *Bifidobacterium*

As bifidobactérias foram isoladas pela primeira vez no final do século XIX por TISSIER, sendo, em geral, caracterizadas por serem microrganismos Gram-positivos, não formadores de esporos, desprovidos de flagelos, catalase negativos e anaeróbios (SGORBATI et al., 1995). No que diz respeito à sua morfologia, podem ter várias formas que incluem bacilos curtos e curvados, bacilos com a forma de cacete e bacilos bifurcados. Atualmente, o gênero *Bifidobacterium* inclui 30 espécies, 10 das quais são de origem humana (cáries dentárias, fezes e vagina), 17 de origem animal, 2 de águas residuais e 1 de leite fermentado; esta última tem a particularidade de apresentar uma boa tolerância ao oxigênio, ao contrário da maior parte das outras do mesmo gênero. As bifidobactérias estão inseridas na ordem das actinomicetas, dentro do grupo das bactérias Gram positivas (SGORBATI et al., 1995), e são caracterizadas por um conteúdo elevado de guanina e citosina que varia, em termos molares, de 54 a 67%; possuem também algumas diferenças notáveis ao nível das propriedades fisiológicas e bioquímicas, incluindo os constituintes da parede celular. São organismos heterofermentativos, que produzem ácidos acético e láctico na proporção molar de 3: 2 a partir de 2 moles de hexose, sem produção de CO₂, exceto durante a degradação do gluconato. Além da glicose, todas as bifidobactérias de origem humana são capazes de utilizar a galactose, a lactose e a frutose como fontes de carbono. Um estudo recente, que avaliou 290 estirpes de 29 espécies de bifidobactérias de origem animal ou humana (CROCIANI et al., 1994), apontou a possibilidade de algumas espécies serem capazes de fermentar hidratos de carbono complexos.

Segundo KIM (1988), bactérias lácticas e bifidobactérias são considerados microrganismos que trazem benefício a organismos humanos e animais. Assim, o desenvolvimento de pesquisas com relação a tais bactérias apresenta grande interesse em diferentes setores da cadeia alimentar. Vários produtos comerciais contendo bactérias lácticas e/ou bifidobactérias estão disponíveis e sua funcionalidade e viabilidade comercial são amplamente discutidos no que diz respeito aos benefícios que trazem:

- constipação, diarreia e outras desordens intestinais podem ser satisfatoriamente tratadas pela *L.acidophilus*;
- outra propriedade da *L. acidophilus* é o efeito antagônico que apresenta com relação a microrganismos enteropatogênicos como *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* e *Clostridium perfringens*;
- benefícios em pacientes com intolerância à lactose parece função da *L. acidophilus*;
- possíveis efeitos na redução sérica de colesterol e degradação de nitrosaminas.

A atividade redutora dos níveis séricos de colesterol pelas bactérias lácticas também é relatada por GOPAL e colaboradores (1996).

Desde 1941, quando METCHNIKOFF lançou as primeiras idéias de que o consumo regular de produtos lácteos fermentados poderiam oferecer certos benefícios salutar para seu consumidor, efeitos profiláticos e terapêuticos de iogurte e produtos correlatos têm sido objeto de muitas pesquisas (TAMIME et al, 1995).

A influência das culturas lácteas nas características físico-químicas e organolépticas de iogurte foi estudada por meio da inoculação do leite com diferentes combinações dessas culturas durante um período de armazenamento de trinta dias (NEIROTTI e OLIVEIRA, 1988).

5. Valores nutritivo e terapêutico dos alimentos probióticos

A constatação de efeitos probióticos de aditivos bacterianos viáveis data de há muitos anos e tem variado, ao longo do tempo, em função do conhecimento em diferentes momentos. No princípio do século XX, TISSIER defendia que as bifidobactérias eram importantes para a saúde e nutrição das crianças, incluindo os recém-nascidos afetados por diarreias; tal efeito era atribuído à capacidade das bifidobactérias removerem as bactérias putrefativas responsáveis pelas desordens gástricas, e de se restabelecerem ecologicamente como microrganismos intestinais dominantes. Pouco depois, METCHNIKOFF atribuía propriedades mágicas ao iogurte, capaz de desencadear uma longevidade duradoura, alegando que o consumo regular de grandes quantidades de iogurte contendo espécies de *L. acidophilus* resultava numa capacidade alargada de controle de infecções por agentes patogênicos entéricos, associados ao controlo da toxemia crônica natural, a qual tem um papel fundamental no envelhecimento e, conseqüentemente, na mortalidade.

6. Efeito benéfico: possíveis mecanismos

Os efeitos salutareos das bactérias lácticas estão possivelmente ligados a efeitos como: melhor digestibilidade, aumento do valor nutritivo, níveis elevados das vitaminas do complexo B e de alguns aminoácidos, melhor utilização da lactose, níveis reduzidos de lactose no produto e maior disponibilidade de lactase.

A ação antagônica contra agentes patogênicos entéricos, distúrbios tais como diarreia, colite mucosa, colite ulcerosa, diverticulite e colite antibiótica, deve-se possivelmente a ação controlada pela acidez, a inibição da adesão de outros microrganismos, e inibição da ativação de microrganismos patogênicos.

Colonização intestinal, sobrevivência no suco gástrico, resistência a lisozima e à tensão superficial baixa do intestino, adesão ao epitélio intestinal, multiplicação no trato gastrointestinal, modulação imunitária, ação anticarcinogênica, conversão de potenciais pré-carcinogênicos em compostos menos perniciosos, ação inibitória perante alguns tipos de cancro, ação hipocolesterolêmica, produção de inibidores da síntese de colesterol, utilização do colesterol por assimilação e precipitação com sais biliares desconjugados, modulação imunitária, melhor produção de macrófagos, também são mecanismos efetivos para obtenção dos efeitos benéficos por meio da ingestão de bactérias lácticas.

A eficácia dos agentes probióticos nestas situações é justificado, não só no tratamento, mas também na prevenção de tais alterações. São vários os trabalhos de revisão (MARTEAU e RAMBAUD, 1993; SALMINEN et al., 1996) que documentam o uso destes agentes para o tratamento de desordens intestinais.

7. Desenvolvimento

A composição do leite para posterior processamento do iogurte é determinada para o estabelecimento de suas qualidades físico-químicas e nutricionais, bem como para a aptidão do produto para o consumo humano.

As bactérias probióticas adicionadas ao iogurte possuem propriedades terapêuticas e também aquelas vinculadas à qualidade físico-química e sensorial do produto, porém, pouco se

conhece sobre os aspectos tecnológicos da incorporação destes microrganismos em produtos lácteos (DINAKAR; MISTRY, 1994; MALCATA et al, 1995). Mesmo assim, é comprovada a ação de atividades enzimáticas responsáveis pelos fenômenos de fermentação, proteólise e lipólise, bem como da produção de compostos aromáticos (DELLAGIO et al, 1992).

Na fermentação do iogurte, os microrganismos *thermophilus* se desenvolvem inicialmente com grande intensidade para gerar ambiente favorável para os microrganismos *bulgaricus*, os quais intensificam seu desenvolvimento gradativamente. Assim, as duas culturas são simbióticas (BEHMER, 1999). A cultura "starter" do iogurte, pertencentes ao grupo conhecido genericamente como bactérias ácido lácticas, pois irão iniciar o processo de coalho do leite para posterior iogurte, deve conter uma porcentagem igual das duas bactérias e também das bactérias probióticas usadas: *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum*.

8. Material

- Vidrarias necessárias para a realização das análises físico-químicas;
- Reagentes analíticos puros de boa procedência, necessários às análises;
- Leite integral obtido da ordenha da fazenda escola da Universidade Estadual de Ponta Grossa;
- Culturas "starter": *Staphilococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*, na mesma porcentagem, nomeadas de YC-X11 (Chr Hansen);
- Culturas probióticas selecionadas: *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum*, nomeadas de La-5 e Bb-12 (Chr Hansen), respectivamente. As porcentagens das culturas "starter" e as bactérias probióticas utilizadas para suplemento no iogurte foram utilizadas conforme seleção avaliada por QUEIROGA (2001).

9. Métodos

Foram elaborados dois iogurtes, com os microrganismos comuns: *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus* segundo BEHMER (1995). Logo após a adição das bactérias lácticas comuns, era adicionada a bactéria probiótica em cada iogurte: *Lactobacillus acidophilus* em iogurte comum e *Bifidobacterium bifidum* em iogurte comum anteriormente elaborado.

O iogurte probiótico líquido era envasado em tubos de ensaio estéreis, colocados em estufa (43° C), durante 5 horas aproximadamente. Em seguida, o iogurte probiótico pronto, já com sua viscosidade normal, era armazenado sob refrigeração. O iogurte era analisado físico-quimicamente durante um período de 30 (trinta) dias, sendo que as análises avaliadas foram executadas posteriormente no décimo dia, vigésimo dia, vigésimo quinto dia e trigésimo dia.

A elaboração deste produto foi realizada em dois blocos, por meio de procedimentos idênticos, tanto para o processamento, quanto para as análises realizadas no mesmo.

As análises físico-químicas realizadas no iogurte adicionado de bactérias probióticas, em cada um dos intervalos pré-determinados foram:

- Extrato seco total, pelo método Gravimétrico;
- Extrato seco desengordurado, por redução de extrato seco total e lipídios;
- Proteínas, pelo método de Kjeldahl;

- Acidez, pelo método Titulométrico (Dornic);
- pH, pelo método Eletroanalítico;
- Componentes lipídicos e lipossolúveis, pelo método do Butirômetro de Gerber;
- Resíduo mineral fixo, pelo método da incineração Dupla em Manta a 5500C (PEREIRA *et al*, 2001).

As análises físico-químicas relevantes no estabelecimento da qualidade do iogurte são aquelas relacionadas à concentração de componentes (proteínas, lipídios, extrato seco), bem como àquelas relacionadas às características sanitárias (acidez, pH).

Os intervalos para a avaliação físico-química do iogurte probiótico foram realizadas no 1º dia de armazenamento, 10º dia, 20º dia, 25º dia e 30º dia de armazenamento do iogurte. Esses intervalos foram escolhidos para se observar às mudanças que poderiam ocorrer no iogurte durante seu armazenamento e saber como se comportam as mudanças, analisando o iogurte em intervalos de tempo menores. As bactérias probióticas conseguiram sobreviver durante 30 dias de armazenamento; pois um iogurte natural têm uma "shelf-life" (vida-de-prateleira) de aproximadamente 30 dias, quando a acidez está em grau elevado, porém com características sensoriais e sanitárias aceitáveis.

10. Conclusão

Quando se trata do desenvolvimento de um produto alimentício é necessário um rígido controle de qualidade. Neste trabalho foram realizadas as análises físico-químicas referentes a um novo produto: um iogurte adicionado de bactérias probióticas.

Desta maneira, ocorreram: diminuição nas concentrações de extrato seco total, extrato seco desengordurado, minerais, proteínas, gordura (devido à utilização destes componentes como nutrientes e fontes de carbono e nitrogênio), redução de pH e elevação da acidez (devido à conversão de lactose em ácido lático) do iogurte probiótico.

Foram detectados também resultados discrepantes, como a concentração de proteínas que iniciou com uma concentração "X", ocorrendo uma pequena diminuição e posterior aumento gradativo e depois um decréscimo (nos dois tipos de iogurtes: Bb-12 e La-5). Isso também ocorreu com a concentração de minerais. Com as concentrações de extrato seco total e desengordurado ocorreu também este tipo de comportamento, entretanto sua concentração iniciou alta, diminuindo e posteriormente aumentando levemente, e seguido de nova diminuição (ocorreu com o iogurte tipo La-5). (Isso pode ter acontecido durante a manipulação do iogurte para a coleta, na realização das análises ou por erro dos equipamentos que foram utilizados para tais análises).

Com relação à acidificação do produto, os resultados apresentados são satisfatórios no que diz respeito ao controle sanitário e características sensoriais. A acidificação se tornou estável a partir do 25º dia das análises realizadas, ocorrendo simultaneamente nos dois tipos de culturas probióticas adicionadas no iogurte.

11. Referências

BADRAN, I. I; REICHART, O. Studies on the growth and acid production of pure and mixed cultures of *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. *Acta Alimentaria*. Vol.24(3), pp227-287, 1995.

BEHMER, M.L.A. Tecnologia do leite-Produção, Industrialização e análise. Editora Nobel, 1999.

BERRADA, N.; LAROCHE, J.L.; THOUVENOT, P. et al. Bifidobacterium from Fermented Milks: Survival During Gastric Transit. *Journal Dairy Science* 74: 409-413, 1990.

CLARK, P. A.; COTTON, L.N., MARTIN, J.H. Selection of Bifidobacteria for Use as Dietary Adjuncts in Cultures Dairy Foods: II. Tolerance to Simulated pH of Human Stomachs. *Cultured Dairy Products Journal* 28(4): 11-14p., 1993.

DELLAGIO, F.; TORRIANES, S.; VLAEMINCK, G.; CORNET, R.. Specific characteristics of micorganisms used for fermented milk. *Bulletin of the International Dairy Federation* 227: 4-16p. 1992.

DINAKAR, P.; MISTRY, V.V.. Growth and Viability of Bifidobacterium bifidum in Cheddar Cheese. *Journal of Dairy Science* 77(10): 4-16p, 1994.

FRAZIER, W.C.; WESTHOFF, D.C.. Microbiologia de los alimentos. Editorial Acribia, S.A. 4ª edição, 1993.

GOPAL, A.; SHAH, N.P.; ROGINSKI, H. Bile tolerance, taurocholate deconjugation and cholesterol removal by Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium spp. *Milchwissenschaft* 51 (11), 1996.

INSTITUTO DE LATICÍNIOS CÂNDIDO TOSTES. Agronegócio Lácteos Funcionais. O agronegócio do leite e os alimentos lácteos funcionais. Julho, 2001.

JAY, J.M. Microbiologia moderna de los alimentos. Editorial Acribia, S.A., 1994.

KIM, H.S. Characterization of Lactobacilli and Bifidobacteria as Applied to Dietary Adjuncts. *Cultured Dairy Products Journal* 23(3): 6-2p, 1998.

MALCATA, F.X.; GOMES, A.M.P.; COSTA, M.L.. "Probiotic" Goat Cheese Effect of ripening temperature and relative humidity on proteolysis and lipolysis. *Journal of Dairy Science* 78(Suppl.1): 99p, 1995.

MARTIN, J.H.; CHOU, K.M. Selection of Bifidobacteria for Use as Dietary Adjuncts in Cultured Dairy Foods: I. Tolerance to pH of Yogurt. *Cultured Dairy Products Journal* 27(4): 21-26p., 1992.

MISRA, A.K.; KUILA, R.K. Intensified Growth of Bifidobacterium and Preparation of Bifidobacterium bifidum for a Dietary adjunct. *Cultured Dairy Products Journal* 26 (4): 4-6, 1991.

MITSUOKA, T.. Taxonomy and ecology of bifidobacteria. *Bifidobact. Microflora*. Vol.3:11, 1984.

NEIROTTI, E.; OLIVEIRA, A J. Produção de iogurtes pelo emprego de culturas lácticas mistas. *SBCTA, Campinas*, 22 (1/2): 1-16, jan/jun, 1988.

O'SULLIVAN, M.G.; THORNTON, G.; O'SULLIVAN, G.C.; COLLINS, J.K.. Probiotic bacteria: myth or reality? *Trends in Food Science and Technology* 3:309-314p, 1992.

PEREIRA, D.B.C.; SILVA, P.H. DA COSTA JÚNIOR, L.C.G.; OLIVEIRA, L.L. DE. Físico-química do leite e derivados- métodos analíticos. 2ª, MG, 2001.

PIARD, J.C.; LOIR, Y.L.; POQUET, I. et al. As bactérias lácticas no centro de novos desafios tecnológicos. Disponível em: < <http://www.icb.ufmg.br/~vasco/baclac> > Acesso em: 10 abr. 2001.

SPREER, E. Lactologia industrial. Editorial Acribia, S.A 2º, 1991.

TAMIME, A.; MARSALL; ROBINSON, R. Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria. *Journal of Dairy Research* 62: 151-187, 1994.

TARABOUSH, M.M.; DAGAL, A.; ROYLI, M.A.; Growth, Viability and Proteolytic Activity of Bifidobacteria in Whole Camel Milk. *Cultured Dairy Products Journal* 81: 354-361, 1997.

VARNAM, A.; SUTHERLAND, J.P.. Leche y Productos Lácteos. Tecnología, química y microbiología. *Série Alimentos Básicos I*. Editorial Acribia, S. A Zaragoza, 1995.