

INFLUÊNCIA DA CULTURA LÁTICA NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E ORGANOLÉPTICAS DO IOGURTE

EDISON NEIROTTI ROUMAS

Orientador: ANTONIO JOAQUIM DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de Concentração: Microbiologia Agrícola.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Setembro, 1984

A meus pais

Edison e Cléria

Ao meu irmão

Enrique

À minha companheira

Maria Aparecida

D E D I C O

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Antonio Joaquim de Oliveira, pela orientação, dedicação e amizade brindadas nestes dois anos de trabalho.
- Aos Prof. Dr. João Gustavo Brasil Caruso e Prof. Dr. Rodolpho de Camargo pelas valiosas sugestões apresentadas e constante incentivo de amigos.
- À Bel. Rosana Cristina Pereira Parente e ao Prof. Dr. Issao Shirose, pelo valioso assessoramento nas análises estatísticas.
- À Srta. Rosa Maria Alves, pelo apoio e amizade demonstrados, e pelo seu valioso trabalho datilográfico e correção do Português deste trabalho.
- Aos Professores do Curso de Mestrado em Microbiologia Agrícola pelos ensinamentos e pela contribuição à minha formação profissional.
- Aos Professores e Funcionários do Departamento de Tecnologia Rural da ESALQ/USP pela sua voluntária e ativa participação no painel de degustadores e outros incalculáveis serviços prestados.
- À Organização dos Estados Americanos (OEA), pelo auxílio financeiro concedido, ao Departamento de Tecnologia Rural da ESALQ/USP pelos recursos oferecidos e à Faculdade de Humanidades e Ciências de Montevideu, Uruguai, pela oportunidade oferecida para realizar este curso.
- A todos os que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho.

Í N D I C E

	Pág.
RESUMO	vi
SUMMARY	viii
1. INTRODUÇÃO	01
2. OBJETIVOS	06
3. REVISÃO DE LITERATURA	07
3.1. Valor Nutricional	07
3.2. Propriedades Profiláticas e Terapêuticas	11
3.3. Comportamento das Culturas Láticas	17
3.3.1. Protocoperação	18
3.3.2. Antibiose	20
3.4. Efeitos das Culturas Láticas na Fermentação do Leite e sua Influência na Qualidade do Iogurte	27
4. MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1. Materiais	34
4.1.1. Culturas Láticas	34
4.1.2. Leite	35
4.2. Métodos	35
4.2.1. Combinações de Culturas	35
4.2.2. Condições dos Experimentos	36
4.2.3. Preparo do Iogurte	36
4.2.4. Análises Realizadas	37
4.2.4.1. pH	37
4.2.4.2. Análise Sensorial	37

	Pág.
4.2.4.2.1. Painel de Degustadores	37
4.2.4.2.2. Provas de Degustação	40
4.2.4.3. Análise Estatística	43
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1. Resultados	44
5.1.1. Aspecto Geral e Cor	44
5.1.2. Consistência	45
5.1.3. Textura	45
5.1.4. Aroma	46
5.1.5. Sabor	46
5.2. Discussão	53
6. CONCLUSÕES	58
7. BIBLIOGRAFIA	60

INFLUÊNCIA DA CULTURA LÁTICA NAS CARACTERÍSTICAS
FÍSICAS E ORGANOLÉPTICAS DO IOGURTE

Autor: EDISON NEIROTTI ROUMAS

Orientador: ANTONIO JOAQUIM DE OLIVEIRA

R E S U M O

A influência das culturas lácticas nas características físicas e organolépticas do iogurte foi estudado através da inoculação do leite com diferentes combinações dessas culturas. Também foram estudadas as características físicas e organolépticas do produto de cada combinação ao longo de um período de armazenamento de 30 dias, a $4^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Após o tratamento térmico, o leite foi inoculado com 4% de cultura láctica e incubado a 42°C durante 4 horas. Para isso, utilizaram-se 4 tipos de combinações lácticas diferentes: iogurte tipo I (Lactobacillus bulgaricus + Streptococcus thermophilus); iogurte tipo II (L. bulgaricus + S. thermophilus + Lactobacillus acidophilus); iogurte tipo III (L. bulgaricus + S. thermophilus + Streptococcus lactis var. diacetylactis) e iogurte tipo IV (L. bulgaricus + S. thermophilus + Leuconostoc cremoris).

Um painel de degustadores especialmente treinado avaliou a qualidade dos 4 produtos finais com 24 horas, 15 dias e 30 dias de armazenamento. O pH do iogurte foi medido imediatamente após a incubação e refrigeração do produto, assim como em cada uma das provas de degustação.

A análise estatística dos resultados da análise sensorial mostrou que o iogurte tipo IV foi o melhor qualificado pelo painel de degustadores.

LACTIC CULTURES INFLUENCE ON YOGURT PHYSICAL
AND ORGANOLEPTICAL CHARACTERISTICS

Author: EDISON NEIROTTI ROUMAS

Adviser: ANTONIO JOAQUIM DE OLIVEIRA

S U M M A R Y

Lactic cultures influence on yogurt physical and organoleptical characteristics were studied by milk inoculation with different combinations of these cultures. The physical and organoleptical characteristics of the product from each culture combination were also studied during a 30 days storage at $4^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

After thermic treatment, milk was inoculated with 4% of lactic culture and incubated at 42°C for 4 hours. Four different culture combinations were used: yogurt type I (Lactobacillus bulgaricus + Streptococcus thermophilus); yogurt type II (L. bulgaricus + S. thermo-philus + Lactobacillus acidophilus); yogurt type III (L. bulgaricus + S. thermophilus + Streptococcus lactis var. diacetylactis) and yogurt type IV (L. bulgaricus + S. Thermophilus + Leuconostoc cremoris).

A taste panel evaluated the four final products quality at 24 hours, 15 days and 30 days of storage. The yogurts pH were measured after incubation and refrigeration of the product and in every one the tasting tests.

The statistical analysis of the tasting tests results showed that yogurt type IV was the best qualified by the panelists.

1. INTRODUÇÃO

A fermentação é um dos métodos clássicos de preservação de alimentos. No decorrer dos anos este método foi evoluindo transformando-se em uma arte sofisticada. O leite pode ser fermentado por bactérias, leveduras e fungos, para produzir uma variedade de produtos tais como iogurte, queijo, manteiga, etc.

As modificações do leite por microorganismos afetam as propriedades físico-químicas e o valor econômico do leite. As mudanças físico-químicas afetam as propriedades tais como sabor, consistência e valor nutritivo. O valor econômico do leite é melhorado pelo prolongamento do tempo de vida dos produtos lácteos derivados, pelo fato dos mesmos poderem ser armazenados (KILARA e SHAHANI, 1978). A importância do iogurte no mercado nacional vem se incrementando de forma considerável nos últimos anos, como revelam as estatísticas brasileiras de produ

ção de leite cru e leites fermentados (tabela 1). Nesta pode-se ver a importância destes últimos, pois enquanto a produção de leite não conseguiu se duplicar, a produção de leite fermentado e iogurte aumentou um pouco mais de 266 vezes. Se o iogurte é importante derivado do leite no mercado brasileiro, em outros países, mais desenvolvidos, onde os investimentos em tecnologia e propaganda são maiores (tabela 2) ele alcança maiores índices de produção e consumo.

O iogurte, assim como muitos dos derivados do leite, nada mais é do que o resultado de tentativas iniciais de se preservar o leite, uma vez que a adição de preservativos químicos aos produtos de laticínios não é permitida.

Os produtos derivados do leite podem ser conservados de duas formas:

- a) por desidratação, ou seja, remoção de diferentes porções de água do leite integral, como no caso dos produtos condensados e desidratados;
- b) pelo desenvolvimento de preservativos, como no caso dos leites fermentados, iogurte e queijo, os quais são preservados, parcialmente, pelo ácido lático produzido pela atividade bacteriana (MARTINELLI FILHO, s.d.).

TABELA 1 - Produção brasileira de leite cru, leite fermentado e iogurte.

ANO	Produção de leite cru (1.000 L)	Produção de leite fermentado e iogurte (ton.)
1967	6.818.107	369
1968	6.909.350	477
1969	6.993.048	495
1970	7.125.242	1.236
1971	7.109.430	7.589
1972	7.141.607	17.314
1973	7.248.828	30.707
1974	7.381.984	45.849
1975	8.116.105	67.367
1976	8.566.646	67.773
1977	8.565.637	69.041
1978	9.782.169	73.659
1979	10.187.226	82.978
1980	11.162.245	98.283

FONTE: Boletim do Leite, anos 1971 (Nº 513), 1972 (Nº 525), 1975 (Nº 556).

TABELA 2 - Estimativa para 1968-72 do consumo de iogurte "per capita"/ano em número de potes de 120 ml.

Holanda	110,1
França	46,1
Alemanha	20,7
Inglaterra	4,0
Chile	2,0
E.U.A.	1,2
Canadá	1,0
Brasil	0,7

FONTE: Boletim do Leite, 1973 (Nº 539).

O iogurte foi desenvolvido, empiricamente, há vários séculos, a partir do leite naturalmente contaminado, o qual se acidificou a temperaturas altas, provavelmente entre 40-50°C. Com o passar do tempo a produção do iogurte se transformou em um processo sofisticado e controlado, conseguido por meio do uso de certas culturas lácticas.

As propriedades de um bom iogurte são medidas por seu sabor e aroma balanceados; acidez média, adequada para produzir um sabor nem ácido, nem doce; corpo de consistência viscosa; textura suave, lisa, sem presença de bolhas de gás; e, aspecto normal (DAVIS, 1975).

Porém, as propriedades mais importantes do iogurte são as nutricionais, profiláticas e terapêuticas que lhe são atribuídas.

2. OBJETIVOS

O presente trabalho tem por objetivo determinar a influência de certas combinações de culturas lácticas nas características organolépticas do iogurte, incluindo:

- a) estudo e comparação de cada uma dessas combinações de culturas com o fim de determinar as características e a qualidade de seus respectivos produtos finais;
- b) determinar o grau de aceitação popular para cada uma dessas combinações;
- c) estudo das características físicas e organolépticas do produto de cada combinação ao longo do período de armazenamento.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Valor Nutricional

O alto valor nutricional dos alimentos fermentados está relacionado com a síntese de enzimas, vitaminas e outros fatores que melhoram o aspecto nutricional do produto (AYEBO e SHAHANI, 1980). Assim, num experimento feito com um grupo de pessoas entre 15 e 17 anos de idade, alimentadas com leite fermentado por lactobacilos, HAMADA et alii (1971) observaram que este grupo experimental, comparado com um grupo controle, teve um incremento adicional em peso corporal e não sofreu infecção intestinal por desinteria.

DAVIS (1975) diz que o iogurte é um produto de considerável valor nutritivo, maior do que o do leite em seu estado natural, dado seu alto conteúdo de proteínas, vitaminas, cálcio, fosfato e potássio. Assim, por exemplo, os microrganismos envolvidos na produção

do iogurte, ao crescerem no leite, produzem algumas das vitaminas do complexo B, conferindo ao mesmo um valor nutricional extra, em benefício do consumidor.

Porém, o conteúdo de vitaminas no iogurte e no leite tem sido um tema polêmico na literatura, e, ainda não bem esclarecido. Alguns autores consideram o iogurte como uma fonte de vitaminas mais rica que o leite, enquanto outros têm demonstrado que o teor de vitaminas do leite decresce durante a produção do iogurte. O teor de vitaminas no iogurte é influenciado por fatores tais como o tratamento térmico a que foi submetido o leite, pelo sistema de concentração desse leite (RO ou UF) e pelas culturas lácticas usadas (DEETH e TAMIME, 1981).

DAVIS (1978) diz que o iogurte é "uma indústria produtora de vitamina B". SHAHANI e CHANDAN (1979) estudaram o conteúdo de vitaminas do complexo B em leite e seus derivados fermentados; no caso do iogurte, ele continha maior quantidade de ácido fólico, biotina, nicotina e vitamina B12 que o leite do qual provinha. MITIC et alii (1974) encontraram 3 linhagens de Lactobacillus bulgaricus que sintetizam vitamina B12 e SHAHANI et alii (1974) afirmam que as culturas lácticas usadas para a produção do iogurte e do queijo Cottage produzem ácido fólico e vitamina B12. Ao contrário deles, ACOTT e LABRIZA (1972) demonstraram que com exceção do ácido nicotínico, o iogurte continha uma quantidade de vitaminas menor que o leite. Vitamina A1, B12, C, colina e biotina eram, respectivamente, 56%, 72%, 71%, 75% e 61% menores no iogurte que no leite do qual este tinha sido feito.

As culturas lácticas "starters" consomem algumas vitaminas e sintetizam outras em diferentes quantidades durante o processo de fermentação do iogurte. Isto depende da linhagem bacteriana, da quantidade do inóculo usado e das condições de fermentação (SHAHANI et alii, 1974). REDDY et alii (1976) encontraram que o niacin e o ácido fólico aumentaram durante a produção do iogurte, enquanto que a vitamina B12, biotina e ácido pantotênico decresceram.

SHANKAR e LAXMINARAYANA (1974) demonstraram um incremento do ácido fólico e um decréscimo de tiamina e riboflavina. CERNA (1973) e KARLIN (1961) postularam que a perda de vitamina B12 pode ser reduzida com a adição de Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii à cultura do iogurte. RASIC e PANIC (1963) também assinalaram a redução do teor de vitamina B12.

CZARNOCKA-ROCNIAKOWA e WOJEWODZKA (1970) demonstraram que a vitamina C não é utilizada pelas bactérias lácticas durante a produção do iogurte.

SHIMHAEE e KESHAVAREZ (1974) afirmam que os produtos lácteos fermentados são, em quantidade de calorias, similares ao leite, mas são mais nutritivos e mais facilmente digeríveis.

RASIC et alii (1971) além de demonstrarem que o valor biológico das proteínas do iogurte (87,3%) é maior que o das proteínas do leite (81,4%), demonstraram também que os índices de digestibilidade total dos aminoácidos do iogurte (24,21%) é maior que os de digestibilidade dos aminoácidos do leite (23,01%). Também DOAN e DIZIKES (1942) compararam a digestibilidade do leite e do iogurte; na primeira hora é digerido 32% do primeiro e 91% do segundo e, em 3 horas, é digerido 44%

do leite e 95,5% do iogurte. Isto deve-se ao fato de que as proteínas, carboidratos e gorduras do leite foram pré-digeridas pelas culturas do iogurte, facilitando assim a ação das enzimas digestivas (BRESLAW e KLEYN, 1973).

Essa proteólise que, por ação das bactérias lácticas sofre a caseína, faz com que o iogurte possa ser usado, sem problemas, inclusive por aquelas pessoas que não podem digerir as proteínas do leite (DAVIS, 1975).

Segundo RENNER (1982) as proteínas de origem animal são de valor biológico superior ao das proteínas de origem vegetal, devido ao alto teor de aminoácidos essenciais. Segundo RASIC e KURMANN (1978) as proteínas do leite, comparadas a outras fontes proteicas, são ricas em aminoácidos essenciais tais como triptofano, leucina, isoleucina, treonina, valina, fenilalanina e lisina. Entre as proteínas de origem animal, as do leite classificam-se em segundo lugar, depois da proteína do ovo integral. Porém, as proteínas do leite, livres de ácidos nucleicos, são de melhor valor dietético que as da carne. Estas últimas são, biologicamente, de grande valor alimentício mas, quimicamente, devido à presença de ácidos nucleicos (purinas), conduzem à formação de ácido úrico em proporção acima do normal. O ácido úrico causa a uremia e a formação de cálculos na bexiga (BALENSIFER, 1971).

Além disso, as proteínas do leite se distinguem das demais por serem ricas em fósforo. As fosfoproteínas somente são encontradas na natureza, em maiores concentrações nos organismos em cresci-

mento, concluindo-se que, possivelmente, caberia a elas cumprir funções específicas durante a fase do crescimento, como por exemplo, na formação dos ossos (MANSON, 1975).

Também para as pessoas mais idosas o leite e seus derivados são importantes fontes proteicas, uma vez que com o avanço da idade, a taxa de conversão das proteínas se vê reduzida, manifestando-se assim, uma maior necessidade de aminoácidos essenciais e, portanto, de proteínas (DAVIES e HOLDSWORTH, 1978). O consumo de proteína de alto valor nutritivo transforma-se a partir do 50º ano de idade em um fator preventivo das moléstias relacionadas com a idade, particularmente moléstias hepáticas (KETZ, 1972). Além do valor nutritivo dado pela proteína do leite, no iogurte, aproximadamente 1% da sua matéria seca é constituída por proteína bacteriana (BLANC, 1973). ERDMAN et alii (1977) e SHANKAR e LAXMINARAYANA (1974) sugerem que a proteína bacteriana, contida no iogurte, pode ser uma fonte muito rica de aminoácidos essenciais.

3.2. PROPRIEDADES PROFILÁTICAS E TERAPÊUTICAS

Além de seu alto valor nutricional, o iogurte tem importantes propriedades profiláticas e terapêuticas. FERREIRA (1979) cita que o valor terapêutico do iogurte e do leite acidófilo está associado aos microrganismos envolvidos no processo de fermentação e aos

metabolitos por eles produzidos. Assim, KROGER (1978) assinala que o iogurte é um importante substituto para aquelas pessoas que não podem ingerir o leite por não tolerarem a lactose. O mesmo autor ressalta que 9 dentre 20 pessoas que sofrem de osteoporoses (fragilidade óssea), devido a uma intolerância à lactose, deixaram de tomar leite nos últimos 5 anos, o que reduziu a ingestão de cálcio, provocando a referida doença. Isto poderia ser evitado, se o consumo do leite fosse feito na forma de um seu derivado: iogurte.

DUPUIS (1964) demonstrou que a eficiência de absorção e retenção de cálcio em ratos alimentados com iogurte foi maior que em ratos alimentados com dietas normais balanceadas, contendo cálcio em outras formas.

KELLY (1984) explica que a intolerância à lactose é uma condição na qual, o açúcar do leite não é hidrolizado em seus dois monossacarídeos componentes, a glicose e a galactose. A enzima lactase é a responsável pela catalização dessa reação e nos indivíduos intolerantes à lactose a enzima é deficiente e assim, o açúcar do leite passa através do intestino sem sofrer transformação alguma. Desta forma provoca diarreia, pois, rompe o equilíbrio osmótico existente no intestino e a água penetra no mesmo; parte dessa lactose é fermentada pela flora bacteriana natural do intestino formando gás (H₂) com a consequente compressão e inchamento do ventre. Além disso, a intolerância à lactose produz eczema, cólica, garupa, constipação (prisão de ven-

tre), dor de cabeça, asma, etc. No iogurte parte dessa lactose já foi hidrolizada pelas bactérias lácticas e segundo alguns autores, essa diminuição varia de 20% (SPECK, 1983), 34,6% (GOODENOUGH e KLEYN, 1975) até 50% (DEETH e TAMIME, 1981).

KOLARS et alii (1984), em uma pesquisa recente, concluíram que a atividade da lactase de origem bacteriana substitui a perda da lactase endógena e produz uma melhor absorção da lactose ingerida no iogurte.

GOODENOUGH e KLEYN (1976) demonstraram que ratos alimentados com iogurte com culturas vivas foram capazes de digerir a lactose mais eficientemente que aqueles alimentados com iogurte pasteurizado. Isto coincide com o afirmado por SPECK (1977) quando diz que as pessoas são capazes de digerir a lactose mais eficientemente devido à lactase bacteriana de iogurtes não pasteurizados. Estes fatos podem ser explicados pois a morte e lise dessas células bacterianas no intestino libera a lactase a qual pode ser utilizada pelo indivíduo para hidrolizar a lactose contida no iogurte consumido (KILARA e SHAHANI, 1976).

Pessoas que sofrem de problemas gastrointestinais induzidos por uma mudança ou alteração da flora microbiana, ou por intoxicações alimentares, podem reajustar esses distúrbios reintroduzindo uma flora microbiana benigna como a do iogurte, que inibe o crescimento dos patógenos ou leveduras (KROGER, 1978).

O Tratamento oral extensivo com antibióticos pode quebrar o equilíbrio existente na microflora intestinal, podendo ocorrer assim uma diminuição no número de lactobacilos e um crescimento de or

ganismos normalmente presentes em menor proporção, tais como, estafilococos, enterobactérias, bactérias anaeróbicas formadoras de esporos, pseudomonas e leveduras, muitos dos quais podem ser patógenos em potencial e provocar uma série de desordens (FERREIRA, 1979). DAVIS (1952a) descreveu um caso em que o iogurte foi usado para restabelecer a flora normal no intestino de pacientes que haviam sido tratados com penicilina.

MAYNON-WHITE e IRVING (1951) e DAVIS (1952b) descreveram o uso do iogurte no tratamento de cianose infantil, doença que resulta da redução de nitratos da água a nitritos na parte superior do trato intestinal por microrganismos tais como Escherichia coli. Estes nitritos passam para o sangue e, a hemoglobina se converte em meta-hemoglobina assumindo coloração azulada. Os adultos aparentemente não sofrem desta doença, devido a uma maior acidez no intestino delgado (pH menor que 4) o que inibe o crescimento destas bactérias reductoras de nitrato (FERREIRA, 1979). MAYNON-WHITE e IRVING (1951) sugeriram que o tratamento dos pacientes com iogurte deveria acabar com esses problemas, por causa da repressão à Escherichia coli no intestino.

O iogurte tem sido usado em problemas gastrointestinais tais como a diarréia, particularmente a diarréia infantil (NIV et alii, 1963), gastroenterite (DAVIS e LATTO, 1957), constipação (FERRER e BOYD, 1955). HALDEN (1964) cita o uso do iogurte para a regeneração da flora intestinal, depois de sua destruição pelo uso de antibióticos.

Tem surgido considerável controvérsia quanto à eficiência do iogurte como agente terapêutico. O tema central desse debate é sobre a possibilidade dos microrganismos do iogurte sobreviverem nas condições gástricas (acidez do estômago) e intestinais (teor de sal de bile do duodeno) e se são capazes de se implantarem no intestino.

ROCHIETTA (1975), SALVADORI e SALVADORI (1974) e GOODENOUGH e KLEYN (1976) têm encontrado números significantes de microrganismos do iogurte que podem sobreviver à passagem através do trato intestinal.

HARGROVE e ALFORD (1978) informaram que em ratos alimentados com iogurte, o Lactobacillus bulgaricus foi frequentemente encontrado na parte final do intestino, enquanto que Streptococcus thermophilus não.

SPECK (1977) tem demonstrado que os microrganismos do iogurte, L. bulgaricus e S. thermophilus, não sobrevivem nas condições ácidas do estômago e de sal da bile do intestino. Portanto, os benefícios do iogurte derivam do conteúdo das culturas (enzimas e metabólitos) mais que da viabilidade das mesmas no intestino.

Atualmente acredita-se que L. bulgaricus não pode se instalar no intestino, enquanto que L. acidophilus sim. Este último é um habitante comum do intestino, boca e vagina, enquanto que L. bulgaricus não o é (SANDINE, 1979). Portanto, é improvável que L. bulgaricus possa inibir a putrefação intestinal e seja efetivo no tratamento de desordens intestinais (MITSUOKA, 1972). O iogurte também tem sido usado em indivíduos com alergia à proteína do leite, já que as protei-

nas do iogurte têm uma ação alergênica menor (NIV et alii, 1963; DAVIS, 1975a e b).

Uma suplementação da dieta normal, com derivados fermentados do leite, em humanos e animais de laboratório, demonstrou uma tendência a diminuir o nível de colesterol no soro sanguíneo (AYEBO e SHAHANI, 1980).

MANN e SPOERRY (1974) realizaram um estudo relacionando uma dieta com leite fermentado e o nível de colesterol, em 24 guerreiros da tribo Massai na África, cuja idade variava de 16 a 23 anos. Depois de 3 semanas de dieta, houve, em todos eles, um aumento de peso entre 2,3 e 2,7 kg e uma diminuição do nível de colesterol no soro sanguíneo de 8,19 até 28 mg/100 ml. Estes autores concluíram que o leite fermentado ingerido tinha introduzido algum fator que impede a síntese de colesterol.

REDDY et alii (1973) informaram que em ratos machos com células tumorais ascíticas de Erlich, após 8 dias sendo alimentados com ração e iogurte apresentaram 28% de inibição na proliferação dessas células tumorais, com relação a ratos alimentados somente com ração.

Os lactobacilos do iogurte são os responsáveis pela produção de substâncias que reduzem a proliferação de certos tumores, pelo controle de um equilíbrio da flora bacteriana intestinal e da produção por parte desta de compostos químicos carcinogênicos (SHAHANI e AYEBO, 1980).

É importante a permanência das culturas do iogurte viáveis durante o armazenamento do mesmo. Porém os produtores começaram a pasteurizar seu iogurte com o fim de destruir as culturas. KELLY (1984) diz que isto visa: 1) a centralização da produção, com possibilidades de transportar a maiores distância; 2) uma vida de prateleira mais longa; 3) a flutuação da temperatura durante a distribuição permite às células viáveis continuarem o seu crescimento e produção de ácido (SPECK, 1977). Porém, vários autores sugerem que o iogurte não deve sofrer esse tratamento térmico pelos seguintes motivos: 1) Devido ao fato de que é desnecessário, já que segundo DAVIS (1971) a sua vida de prateleira é de uns 10 dias a uma temperatura que não exceda os 5°C e, segundo KURMANN (1977) é de 2 a 4 semanas; 2) o tratamento com calor diminui o conteúdo de vitaminas; 3) o calor destrói a lactase (KROGER, 1978); 4) inativa o efeito antitumoral do iogurte (SHAHANI e CHANDAN, 1979); 5) foi comprovado que diminui a influência que esse produto tem no crescimento dos ratos (HARGROVE e ALFORD, 1980); 6) Elimina o valor do iogurte como fonte de uma flora bacteriana benigna que pode ter benefícios em problemas gastrointestinais.

3.3. Comportamento das Culturas Láticas

É evidente a importância industrial que tem o comportamento das culturas láticas, já que dele depende o sucesso ou o fracasso de um determinado processo.

Combinações de microrganismos mostram diferentes in

terações quando crescem no leite. Os efeitos variam desde estimulações (protocoperação) até inibição (antibiose). Não se pode prever a interação entre microrganismos a partir do crescimento e comportamento que cada um deles apresenta de forma isolada.

Do ponto de vista da produção e conservação dos produtos lácteos, tanto a protocoperação como a antibiose podem ser benéficas ou prejudiciais, dependendo do caso de que se trata e dos microrganismos envolvidos.

3.3.1. Protocoperação

MARSHALL (1905) e MARSHALL e FERRAND (1908), demonstraram a importância das associações bacterianas na acidificação do leite, encontrando que muitas das bactérias que crescem no leite estimularam o crescimento e a atividade fermentadora das bactérias lácticas, sendo que esses efeitos diferem para cada caso em particular. Também citam diversos autores que encontraram culturas lácticas (starters) as quais eram estimuladas em sua produção de ácido por microrganismos tais como: P. fluorescens, B. subtilis, E. coli e A. aerogenes.

NURMIKKO (1953) demonstrou que diferentes linhagens de bactérias lácticas podem crescer juntas em um meio sintético incapaz de suportar o crescimento de cada uma delas em separado. Ele concluiu que cada linhagem produz os fatores de crescimento requeridas pela outra.

O iogurte é o resultado da fermentação do leite por dois tipos de bactérias lácticas, Streptococcus thermophilus e Lactobacillus bulgaricus. Estas têm uma interação mutuamente favorável, mas que não é obrigatória (GALESLOOT et alii, 1968; PETTE e LOLKEMA, 1950 e VERINGA et alii, 1968). Tal relação é chamada de protocoperação (ODUM, 1971).

Em cultura mista destas bactérias, essa protocoperação manifesta-se na produção de uma quantidade de ácido láctico maior que a soma das produções de ambas as culturas em separado (PETTE e LOLKEMA, 1950).

A protocoperação entre as duas bactérias do iogurte se dá através do estímulo ao crescimento do S. thermophilus pelos aminoácidos e peptídeos liberados das proteínas pelo L. bulgaricus (MILLER e KANDLER, 1964; PETTE e LOLKEMA, 1950 e SHANKAR e DAVIES, 1977). O crescimento e produção de ácido do L. bulgaricus é estimulado pela produção de ácido fórmico, em condições de ausência ou baixa concentração de O_2 , pelo S. thermophilus (AUCLAIR e PORTMAN, 1959). Em alta concentração de O_2 , estes estreptococos fracassam na produção de ácido fórmico.

DRIESSEN et alii (1982) demonstraram que o ácido fórmico não é o único substrato limitante para o crescimento de L. bulgaricus, e relataram que ele cresce mais rápida e vigorosamente quando o leite contém 31 mg de CO_2 /kg, e isto acontece quando o leite é inoculado com uma cultura mista de ambas as bactérias. Essa quantidade de CO_2 é produzida pelo S. thermophilus mais rapidamente em cultura mista que em cultura pura, devido ao estímulo favorável que o L. bulgaricus produz sobre aquele microrganismo; assim, o CO_2 rapidamente está em ex

cesso em relação à quantidade requerida pelo L. bulgaricus para seu ótimo crescimento.

3.3.2. Antibiose

SPECK (1972) diz que uma grande quantidade dos alimentos hoje elaborados, depende, em parte, da atividade de certos microrganismos para sua preservação. Já que certas linhagens de microrganismos e culturas "starters" possuem atividade inibitória sobre microrganismos patógenos dos alimentos, elas devem receber atenção preferencial no seu uso na produção desses alimentos. Se os "starters" podem prevenir o crescimento de patógenos nos alimentos, isso proveria uma qualidade adicional aos alimentos fermentados. Este fato oferece uma perspectiva promissora ao controle biológico desses patógenos sem ter que recorrer a tratamentos físicos mais rigorosos dos alimentos, ou à adição de mais preservativos químicos.

Assim, MATHER e BABEL (1959) já tinham observado, em creme para queijo Cottage, que L. cremoris inibia a atividade de: P. fragi, P. putrefaciens e coliformes. Não inibia, porém, Geotrichum candidum nem Candida pseudotropicalis. LUNDSTEDT e FOGG (1962) provaram que a adição de S. diacetylactis ao creme do queijo Cottage incrementou o sabor e aroma e prolongou a vida de prateleira.

MARTH e HUSSONG (1963) estudaram, no leite, a inibição de 15 espécies bacterianas diferentes por L. cremoris e determinaram que essa inibição foi de 89,1% a pH 4,5 e de 63,3% a pH 5,1. Os micr

ganismos mais sensíveis foram: S. aureus, P. fluorescens; também foram sensíveis E. coli, P. fragi e E. aerogenes. Alcaligenes viscolatis foi a mais resistente das bactérias testadas. As leveduras não foram inibidas. Os resultados encontrados por PINHEIRO et alii (1968), de que as substâncias produzidas por Leuconostoc citrovorum e Streptococcus diacetylactis que inibiam a Pseudomonas fragi, eram mais ativas a um pH a baixo de 5, coincidem com os obtidos dos experimentos, já citados, de MATHER e BABEL (1959) e MARTH e HUSSONG (1963).

IANDOLA et alii (1965) mostram que em cultura mista de Streptococcus diacetylactis e Staphylococcus aureus estes últimos foram inibidos por aqueles, provavelmente devido ao esgotamento de nutrientes.

PRICE e LEE (1970) encontraram que, algumas espécies de Pseudomonas eram inibidas pelo crescimento de lactobacilos, devido à produção de peróxido de hidrogênio.

DALY et alii (1970) determinaram que, em leite não gorduroso, S. lactis subsp. diacetylactis inibia espécies tais como: P. fluorescens, P. fragi, P. viscosa e Alcaligenes metalcaligenes em 99%; E. coli em 80%; Salmonella tennessee em 70%. A inibição de S. aureus foi de 99,98% a pH 4,5, sendo que não houve inibição a pH 6,8. OLIVEIRA (1969 e 1970) comprovou que, tanto em placa de petri como em creme para produção de manteiga, S. diacetylactis e L. citrovorum exercem inibição sobre P. putrefaciens, evitando assim, o efeito proteolítico que esta poderia causar nesse produto

SPECK (1972) estudou a interação entre culturas comerciais de estreptococos lácticos, usados como "starters" para queijos, e diferentes patógenos dos alimentos. Nele detectou que Salmonella gallinarum e Staphylococcus aureus foram inibidos por aquelas culturas.

JUFFS e BABEL (1975) estudaram a inibição de bactérias psicotróficas por L. cremoris e S. lactis subesp. diacetylactis, concluindo que essa inibição é devida à produção de peróxido de hidrogênio por estes microrganismos o que reduz a velocidade de crescimento das bactérias psicotróficas. Isto é importante para a permanência de um bom sabor, boas qualidades organolépticas e da capacidade de armazenamento sob refrigeração por um maior espaço de tempo (COUSIN e MARTH, 1977).

BABEL (1977) cita vários autores que estudaram os efeitos inibidores produzidos por certas bactérias lácticas sobre outras. Estes autores mostram que, S. lactis é capaz de retardar o crescimento de L. bulgaricus e, de inibir o crescimento de L. casei. Também linhagens de S. lactis e S. cremoris capazes de inibir outros estreptococos lácticos e, inclusive, outras linhagens dessas mesmas espécies.

Muitos autores estudaram diversas culturas lácticas e encontraram que as mesmas são produtoras de metabolitos com atividade antibiótica, como por exemplo: L. acidophilus produz acidophilin (VAKIL e SHAHANI, 1965), lactocilin (GROSSOWICS et alii, 1947), acidolin (HAMDAM e MIKOLASCIK, 1973) e lactocilin (KODAMA, 1952); L. plantarum produz lactolin (KODAMA, 1952); L. brevis produz lactobrevin (AYEBO e SHAHANI, 1980); L. bulgaricus produz bulgaricin (REDDY e SHAHANI, 1971);

S. lactis produz nisina (BARIBO e FOSTER, 1951); S. diacetylactis produz diplococcin (COLLINS, 1961) e S. cremoris produz diplococcin (DAVEY e RICHARDSON, 1981).

Além destas substâncias antibióticas as culturas láti cas produzem outras substâncias de efeito inibidor para vários microrganismos. Assim, por exemplo, os ácidos produzidos pelas bactérias "starters" constituem um preservativo importante para os alimentos. Os ácidos diferem em sua habilidade de inibir o crescimento bacteriano (CHUNG e GOEPFERT, 1970). Embora o ácido lático seja o ácido predominantemente produzido pela maioria dos "starters" láticos, ele não é tão efetivo como o ácido acético na inibição do crescimento de outros microrganismos.

Apesar do ácido acético ser produzido em pequenas concentrações pelos "starters" láticos, ele tem uma ação inibidora efetiva em S. diacetylactis e Leuconostoc citrovorum. Ele é especialmente efetivo contra Pseudomonas fragi e Salmonella gallinarum (PINHEIRO et alii, 1968 e SORRELLS e SPECK, 1970).

PINHEIRO et alii (1968) encontraram que as substâncias inibidoras produzidas por esses dois microrganismos eram compostas por um componente volátil, identificado como ácido acético e, uma fração residual composta por três ácidos similares a alguns dos ácidos do ciclo de Krebs; eles são os ácidos glioxílico, malônico e alfa-cetoglutárico. AYEBO e SHAHANI (1980) afirmam que a produção dos ácidos lá tico, acético e formico como produtos finais da fermentação do leite,

resultam na alteração do pH do meio, o qual afeta adversamente as outras bactérias não ácido láticas.

Uma outra substância inibidora é o peróxido de hidrogênio. DAHIYA e SPECK (1968) citam o Lactobacillus lactis e L. bulgaricus como produtores de um fator inibidor identificado como peróxido de hidrogênio, o qual era capaz de inibir a S. aureus. GILLILAND e SPECK (1977) observaram a ação antagônica de L. acidophilus sobre patógenos entericos tais como Salmonella thyphimurium, Staphylococcus aureus, E. coli enteropatogênica e Clostridium perfringens. COLLINS e ARAMAKI (1980) demonstraram que o L. acidophilus produz peróxido de hidrogênio suficiente para retardar o crescimento de Pseudomonas fragi.

Entre todas as culturas láticas, as mais pesquisadas são o L. acidophilus e o L. bulgaricus, pela sua importância como inibidores de microrganismos patogênicos intestinais e bactérias deterioradoras de alimentos.

BRYAN (1965) em estudo, in vitro, demonstrou que L. acidophilus e L. bulgaricus causam inibição de patógenos intestinais e de bactérias putrefactivas; e, como conclusão do seu trabalho afirma que, essas substâncias produzidas pelos lactobacilos devem ser as responsáveis pelo valor terapêutico atribuído ao leite acidófilo e ao iogurte. SHAHANI et alii (1976) comprovaram a capacidade de 12 linhagens de L. acidophilus e 3 linhagens de L. bulgaricus para inibir, em diferentes meios de cultura, as seguintes bactérias: Bacillus subtilis, Serratia marcescens, Pseudomona aeruginosa, E. coli, Streptococcus lac-

tis e Staphylococcus aureus. Além disso L. acidophilus demonstrou eficiência no combate a vários patógenos dos gêneros Salmonella, Shigella, Klebsiella e Vibrio, e, com uma eficiência menor em Pseudomonas e Staphylococcus. A temperatura ótima para a produção do antibiótico foi de 37°C para L. acidophilus e 50°C para L. bulgaricus.

Tanto SHAHANI et alii (1976) como REDDY et alii (1984) inocularam L. acidophilus e L. bulgaricus em diferentes meios de cultura e encontraram que eles apresentam sua máxima atividade antibacteriana no leite, o qual demonstra que este possui nutrientes essenciais para os microrganismos produzirem compostos inibidores. Esses mesmos autores encontraram que ambos os microrganismos produzem substâncias antibacterianas para microrganismos Gram + e Gram -, incluindo espécies patogênicas, mas, aparentemente, não tem atividade antifúngica. SHARMA e GANDHI (1981) encontraram que L. acidophilus aumentou sua atividade antibacteriana quando foi inoculado em cultura mista (junto com S. lactis) mais que quando inoculado em cultura pura. SHAHANI et alii (1977) propõe que o acidophilin, devido à sua importante atividade antibacteriana, talvez possa ser usado para prevenir ou retardar o crescimento de bactérias indesejáveis no alimento, equipamento e embalagens.

YAZICIOGLU e YILMAZ (1966) estudaram a microflora do iogurte e sua ação antimicrobiana. Neste experimento, iogurte fresco e iogurte armazenado por um mês, mostraram possuir a mesma ação antibacteriana sobre patógenos resistentes a determinados antibióticos.

TODOROV (1962) e MEL'NIKOVA e KORELEVA (1975) concluíram que, tanto S. thermophilus como o L. bulgaricus produziam substâncias que inibiam a Salmonella e E. coli e que o poder inibidor de L. bulgaricus era maior que o de S. thermophilus. Também PULUSANI et alii (1979) encontraram atividade antimicrobiana em ambos os microorganismos, e, extraíram, da cultura de S. thermophilus, metanolacetona como a substância responsável por essa atividade. Ao contrário deles, SHINGH et alii (1979), utilizando líquido filtrado de culturas de S. thermophilus e L. bulgaricus, em separado, e, em cultura mista de ambas, testaram a sua atividade antibacteriana com E. coli, S. aureus, P. fragi e Micrococcus flavus. O filtrado proveniente de S. thermophilus, não mostrou atividade antimicrobiana para nenhum desses microrganismos. O filtrado de L. bulgaricus causou pronunciada inibição em todas as bactérias testadas, enquanto que o filtrado da cultura mista apresentou uma inibição ainda maior. Estas observações acentuam o provável papel de S. thermophilus na estimulação da atividade antibacteriana de L. bulgaricus na cultura mista.

RUBIN et alii (1982) encontraram que o ácido lático inibe o crescimento de Salmonella typhimurium em iogurte. Eles encontraram, também, que a inibição pelo ácido lático era irreversível. O referido ácido entra na célula em estado não dissociado, mas, uma vez dentro da mesma, ele se dissocia, pois, o pH intracelular é maior que o pH extracelular. A forma dissociada (anião lactato) acumula-se na célula pois, nessa forma, não pode sair dela, conseqüentemente, abaixa o

pH, inibindo, assim, o metabolismo celular. Estes autores demonstraram uma correlação entre a inibição das células de S. typhimurium e a concentração intracelular do ácido lático na forma dissociada, fato que concorda com o encontrado por WEINER e DRASKOCZY (1961).

3.4. Efeitos das Culturas Láticas na Fermentação do Leite e sua Influência na Qualidade do Iogurte

Na produção dos derivados do leite são adicionadas as culturas láticas por dois motivos: a produção de ácido lático e a produção do aroma desejado (COLLINS, 1962). Segundo as classificações propostas por KOSIKOWSKI (1970) e PONCE e PIÑEYRO (1974), as culturas láticas utilizadas no presente trabalho pertencem a três grupos: 1) os produtores de ácido (Streptococcus thermophilus e Lactobacillus acidophilus); 2) produtores de ácido, sabor e aroma (Lactobacillus bulgaricus e Streptococcus lactis subesp. diacetylactis) e 3) produtores de sabor e aroma (Leuconostoc cremoris).

A obtenção de um iogurte de boa qualidade depende, em grande parte, das culturas láticas usadas, portanto, sua escolha converte-se em importante fator para a obtenção de um produto final de características desejáveis. KURMANN (1977) cita certos fatores que devem ser considerados no momento de se usar tais culturas. Esses fatores são: poder acidificante, pós-acidificação, produção do aroma, produção de mucus (capsular) e proteólise.

1. Poder acidificante: o uso de culturas de poder acidificante médio ou baixo é o mais adequado para evitar a pós-acidificação durante o resfriamento, armazenamento e distribuição do iogurte.
2. Pós-acidificação: é a acidez produzida após o período de incubação. A pós-acidificação é menor quando o poder acidificante das culturas é mais fraco.
3. Produção de aroma: os lactobacilos e alguns estreptococos produzem compostos aromáticos que são os responsáveis pelo aroma típico do iogurte.
4. Produção de mucus: a produção de mucus melhora a viscosidade e a consistência do iogurte.
5. Proteólise: o poder proteolítico das culturas lácticas é importante. Uma proteólise moderada é interessante e necessária, porém, uma atividade proteolítica muito forte pode produzir defeitos graves.

Do uso de culturas lácticas com um adequado equilíbrio desses cinco fatores mencionados, é que se pode obter um iogurte de boa qualidade.

Segundo KROGER (1976) a consistência do iogurte é, provavelmente, tão importante como seu sabor e aroma. Uma firmeza adequa-

da sem separação de soro (syneresis) é essencial para a obtenção de um produto de alta qualidade. A separação do soro indica uma fermentação inadequada e sabores estranhos. Este é o problema físico mais importante relacionado à consistência e textura do iogurte (HUMPHREYS e PLUNKETT, 1969; KROGER, 1976).

O iogurte é um gel firme e fino, resultante da transformação da lactose em ácido lático, o que ocasiona a queda do pH e causa progressiva solubilização do fosfo-citrato de cálcio e agregação da caseína (GREEN, 1980). A consistência do iogurte está relacionada com sua acidez (O'NEIL et alii, 1979) e esta última muda durante o armazenamento, em menor ou maior grau, dependendo da acidez inicial do produto e da temperatura (SALJI e ISMAIL, 1983).

Embora certo grau de acidez seja desejável no iogurte, uma acidificação excessiva do mesmo é indesejável, visto que conduz à separação do soro e deterioração da sua consistência e viscosidade (WOLFSCHOON-POMBO et alii, 1983). Segundo NIELSEN (1976) obtém-se um coágulo firme uma vez alcançado um pH de 4,6 - 4,7 e segundo KROGER (1976) quando este é de 4,4, pois um pH final acima de 4,5 resulta em um coágulo fraco. Outros pesquisadores estudaram este problema e assim HUMPHREYS e PLUNKETT (1969) recomendam um pH final de 3,7 - 3,8; KOSI KOWSKI (1970) 4,4; SELLARS e BABEL (1970) 4,0, enquanto que LÜCK e MOSTERT (1971) afirmam que um iogurte com pH final de 3,9 - 4,1 não é agradável devido a sua alta acidez.

Segundo diversos autores (GALESLOOT e HASSING, 1973; GROUX, 1973 ; HUMPHREYS e PLUNKETT, 1969; KROGER, 1976; NIELSEN, 1976 e WOLFSCHOON-POMBO et alii, 1983) a consistência do iogurte é função do: teor de sólidos do leite; tratamento térmico do leite prévio à inoculação; uso de culturas "starters" de ação proteolítica (da caseína) ligeira; acidificação adequada e de suficiente produção de mucus capsular; da temperatura de incubação correta; do manuseio do iogurte depois da coagulação e das condições de armazenamento.

A viscosidade bacteriana é causada por algumas culturas lácticas que produzem um polissacarídeo (mucus) durante a fermentação, o qual melhora a viscosidade do iogurte (GALESLOOT e HASSING, 1966; TAMIME e ROBINSON, 1978 ; TAMIME, 1978a e b; LUCZYNSKA et al, 1978). Segundo MARTINELLI FILHO (s.d.) a produção dessa secreção mucosa é favorecida pela incubação a temperaturas baixas. SHARPE et al (1972) e TAMIME (1977a e 1978b) informam que o mucus segregado pelas espécies heterofermentativas do gênero Lactobacillus é uma glucana, provavelmente um dextrano. Segundo DAVIS (1975) os Leuconostoc são os microrganismos lácticos mais adequados para obter-se uma viscosidade apropriada.

Ultimamente tem-se dado importância à produção de produtos lácteos mediante o uso de acidificantes e aromatizantes químicos, porém estes têm o problema de necessitar dos atributos naturais que somente são produzidos pelas culturas lácticas (HEMPENIUS e LISKA, 1964). Assim, para a produção do iogurte, o leite pode ser acidificado diretamente, sua consistência e textura são essencialmente similares, mas o

sabor do iogurte obtido pela acidificação dos microrganismos lácticos é muito melhor que o do acidificado diretamente (KILARÁ e SHAHANI, 1978).

DUTTA et al (1971) afirmam que as bactérias lácticas têm uma ação proteolítica fraca, enquanto GROUX (1976) afirma que ela é suficiente para produzir mudanças na estrutura física do produto e contribuir para a produção de compostos aromáticos e do sabor. Os produtos da proteólise, peptídeos de vários tamanhos e aminoácidos, raramente contribuem diretamente com o sabor e aroma, mas são precursores de uma variedade de reações químicas e enzimáticas que produzem os compostos do sabor e aroma (VIANI e HORMAN, 1976). Assim os estreptococos lácticos podem produzir acetaldeído por desdobramento da treonina e da glicina (KEENAN e BILLS, 1968; LEES e JAGO, 1976a e 1976b; SANDINE e ELLIKER, 1970; VERINGA, 1973), e L. bulgaricus pode produzir acetaldeído pelo desdobramento da treonina (HUMPHREYS e PLUNKETT, 1969; SANDINE e ELLIKER, 1970; VERINGA, 1973). O poder proteolítico das culturas lácticas é importante pelo fato de que uma proteólise muito forte pode produzir defeitos como: diminuir a consistência do iogurte; favorecer relação de protocooperação entre os microrganismos lácticos usados e assim, produzir uma acidificação excessiva, podendo provocar também o aparecimento de um sabor amargo (KURMANN, 1977).

O sabor e o aroma do iogurte dependem, quase exclusivamente, das culturas lácticas usadas e do seu metabolismo durante a incubação (KROGER, 1976). Segundo KEENAN e BILLS (1968), KROGER (1976), SHARPE (1979) e TAMIME e DEETH (1980) o ácido láctico produzido pelas

culturas "starters", durante a fermentação do leite, não tem odor e não influi no aroma, mas é considerado como sendo o responsável pelo sabor ácido e fresco do iogurte. Os microrganismos das culturas láti- cas produzem outros compostos carbonados voláteis tais como acetaldei- do, diacetil, acetoin e ácidos orgânicos voláteis, importantes na pro- dução de aroma e sabor (diferente do ácido láctico) no iogurte.

PETTE e LOLKEMA (1950) foram os primeiros a assinalar o fato de que o acetaldeido era o componente mais importante do aroma do iogurte, e demonstraram que era produzido pelos lactobacilos. HAR- VEY (1960) e BOTTAZZI e DELLAGLIO (1967) observaram que os estreptoco- cos lácticos também podem produzir pequenas quantidades de acetaldeido. MUTAI et al, 1972; DUTTA et al, 1973 e BAISYA e BOSE, 1975 assinalaram que, além do acetaldeido, também é importante a presença de diacetil e acetoin.

Outros compostos que são complementos dos anteriores na formação do aroma são a acetona produzida pelos lactobacilos (BOT- TAZZI e VESCOVO, 1969), ácidos orgânicos voláteis como o ácido acético formado por hidrólise da caseína pelos lactobacilos (NAKAE e ELLIOTT , 1965) e os ácidos acético e oxalacético, formados pelo Streptococcus lactis subesp. diacetylactis e Leuconostoc cremoris pela fermentação do citrato (HARVEY e COLLINS, 1961).

Segundo KILARA e SHAHANI (1978) a lactose e o citrato do leite são fermentados durante a incubação do iogurte e convertidos em um composto intermediário chave, o piruvato. Este, por sua vez, po-

de ser transformado em ácido lático, principalmente pelos microrganismos do grupo 1 (Streptococcus termophilus e Lactobacillus acidophilus) e também do grupo 2 (Lactobacillus bulgaricus e Streptococcus lactis subesp. diacetylactis) ou em compostos aromáticos como acetaldeído e acetona pelo L. bulgaricus; diacetyl e acetoin pelos S. lactis subesp. diacetylactis e Leuconostoc.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

4.1.1. Culturas Láticas

As culturas láticas utilizadas para a produção do io gurte foram as seguintes:

- Lactobacillus bulgaricus NCDO 1429
- Streptococcus thermophilus NCDO 489
- Lactobacillus acidophilus ATCC (s/n)
- Streptococcus lactis var. diacetylactis NCDO 176
- Leuconostoc cremoris (citrovorum) ATCC 19433

4.1.2. Leite

O leite utilizado neste experimento foi obtido do rebanho leiteiro do Departamento de Zootecnia da ESALQ. O mesmo foi pasteurizado e padronizado para teor de sólidos por adição de leite em pó desnatado.

4.2. Métodos

4.2.1. Combinações de Culturas

O leite foi inoculado com as seguintes combinações de culturas lácticas:

Iogurte Tipo I: L. bulgaricus + S. thermophilus
(2,0% + 2,0%)

Iogurte Tipo II: L. bulgaricus + S. thermophilus + L. acidophilus
(1,5% + 1,5% + 1%)

Iogurte Tipo III: L. bulgaricus + S. thermophilus + S. lactis var. diacetylactis
(1,5% + 1,5% + 1%)

Iogurte Tipo IV: L. bulgaricus + S. thermophilus + L. cremoris
(1,5% + 1,5% + 1%)

4.2.2. Condições dos Experimentos

Teor de sólidos do leite: 14%

- Temperatura de pasteurização: $85^{\circ}\text{C} \pm 0,5$
- Tempo de pasteurização: 30 minutos
- Resfriamento do leite pasteurizado em água corrente até $42^{\circ}\text{C} \pm 0,5$
- Teor de inóculo: 4%
- Temperatura de incubação: $42^{\circ}\text{C} \pm 0,5$
- Tempo de incubação: 4 horas
- Resfriamento rápido com gelo até o coágulo obter a temperatura de $7^{\circ}\text{C} \pm 0,5$
- Armazenamento do produto a temperatura de $4^{\circ}\text{C} \pm 0,5$

4.2.3. Preparo do iogurte

O teor de sólidos do leite cru foi determinado e acertado para 14% por adição de leite em pó desnatado. Foi pasteurizado a 85°C durante 30 minutos e rapidamente resfriado com água corrente até 42°C . Após isso foi inoculado com 4% da combinação de culturas desejada e colocado a incubar a 42°C durante 4 horas. Para cada tipo de iogurte, em cada um dos 6 ensaios, foram produzidos 5 litros de iogurte incubados em frascos de 120 ml. Imediatamente após a incubação esses frascos foram resfriados rapidamente em banho de gelo até obter uma temperatura de $\pm 7^{\circ}\text{C}$. Depois colocados em refrigerador a uma temperatura de $\pm 4^{\circ}\text{C}$ e armazenados por 30 dias.

4.2.4. Análises Realizadas

4.2.4.1. pH

A determinação do pH foi feita logo após o resfriamento do coágulo, e por ocasião da realização de cada uma das provas de degustação utilizando um potenciômetro digital marca Digimed DMPH 2 . Com os valores do pH obtidos (dois em cada ocasião) foram calculadas as médias.

4.2.4.2. Análise Sensorial

4.2.4.2.1. Painel de Degustadores

Para a realização das análises sensoriais ou provas de degustação necessitou-se, antes, selecionar e treinar os integrantes do referido painel.

Foram aplicados testes de seleção visando conhecer a capacidade natural dos degustadores em diferenciar soluções para cada um dos quatro sabores básicos e, qual a concentração mínima que eram capazes de detectar. Para isso foram aplicados testes de sensibilidade, "Threshold" (ficha pág. 38), para cada um dos sabores básicos (ácido, amargo, doce e salgado), segundo o método de DAWSON et alii (1963).

Os degustadores selecionados nesta fase preliminar foram submetidos a testes de seleção sensorial, do tipo triangular (ficha pág. 39), aplicados segundo o método de MORI et alii (1983), com a finalidade de confirmar a habilidade demonstrada pelos provadores.

TESTE DE SENSIBILIDADE (THRESHOLD)

NOME: _____ DATA: _____

1. Indique qual dos 4 gostos básicos (ácido, amargo, doce, salgado) está presente nas amostras apresentadas.

2. Indique em qual das amostras o identificou pela primeira vez.

Nº da Amostra

1) _____

2) _____

3) _____

4) _____

5) _____

6) _____

TESTE TRIANGULAR SIMPLES

NOME: _____ DATA: _____

Duas amostras são iguais e uma é diferente. Coloque um círculo ao redor da amostra diferente em cada grupo.

<u>Grupo</u>	<u>Número de Amostras</u>		
1	_____	_____	_____
2	_____	_____	_____
3	_____	_____	_____

Comentários: _____

As amostras apresentadas aos degustadores foram numeradas segundo o método de MORI et alii (1983).

A partir dos resultados dos testes aplicados, os melhores degustadores foram treinados segundo diretivas dadas por DAWSON e HARRIS (1951), especialmente para a degustação do iogurte.

4.2.4.2.2. Provas de Degustação

As provas de degustação foram feitas dentro das primeiras 24 horas após o iogurte ser produzido, 15 dias e 30 dias após sua produção. Estes tempos foram determinados com base em experimentos preliminares de variação do pH ao longo do armazenamento e também em um interesse industrial e comercial.

Os degustadores treinados, num total de 6, realizaram as provas de degustação utilizando-se de uma ficha de avaliação do tipo Escala Estruturada (pág. 41), adaptada do modelo de ficha estruturada por PEARCE e HEAP (1974), onde foram avaliadas todas as características do iogurte. Os outros degustadores selecionados, num total de 15, não foram treinados e simplesmente preencheram uma ficha, de preferência do tipo Escala Hedônica (pág. 42), segundo o modelo apresentado por CHAIB DE MORAES (1983).

Os 4 tipos de combinações de culturas lácticas foram comparadas em seis ensaios, onde as amostras foram apresentadas aos pares e, assim, comparados todos os tipos entre si.

ESCALA ESTRUTURADA

NOME: _____ DATA: _____

V A L O R		VALORES:
Nº DA AMOSTRA	Nº DA AMOSTRA	
1. Aspecto geral e cor: Defeitos:		5 - Excelente
2. Consistência: Defeitos:		4 - Muito bom
3. Textura: Defeitos:		3 - Bom
4. Aroma: Defeitos:		2 - Regular
5. Sabor: Defeitos:		1 - Pobre, escasso
		0 - Ruim
6. Comentários: Nº DA AMOSTRA _____ :		

Nº DA AMOSTRA _____ :		

VOCABULÁRIO SUGERIDO PARA AVALIAR AS PROPRIEDADES E DEFEITOS EM IOGURTE:

PropriedadesDefeitos

- | | |
|-----------------------------|--|
| | 1. <u>Aspecto geral e cor</u>
Materiais estranhos, falta de uniformidade, cor estranha, descoloração superficial, com separação de soro, com separação de gordura, com presença de gás. |
| Firme | 2. <u>Consistência</u>
Muito fluida, muito dura. |
| Lisa, suave, uniforme | 3. <u>Textura</u>
Gelatinosa, limosa (slimy), aspera, granulosa ou com grumos. |
| A produto fresco, agradável | 4. <u>Aroma</u>
Estranho, desagradável, gasificado |
| | 5. <u>Sabor</u>
Sujo, amargo, muito ácido, muito doce, insípido. |

ESCALA HEDÔNICA

Nome: _____

DATA: _____

Avalie cada amostra usando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou.

1. Desgostei MUITÍSSIMO
2. Desgostei Muito
3. Desgostei Moderadamente
4. Desgostei Ligeiramente
5. Indiferente
6. Gostei Ligeiramente
7. Gostei Moderadamente
8. Gostei Muito
9. Gostei MUITÍSSIMO

Número da AmostraValor

Comentários: _____

4.2.4.3. Análise Estatística

O esquema da análise estatística utilizado foi o de blocos incompletos balanceados do tipo V, segundo COCHRAN e COX (1957).

Foi realizada, com os dados fornecidos pelos degustadores nas fichas da escala estruturada e hedônica, uma análise de variância segundo o modelo

$$y_{ij} = m + t_i + r_j + (b/r)_{ij} + e_{ij} ,$$

não tendo sido encontrada nenhuma diferença significativa. Devido a este fato, só foi possível utilizar os dados da escala estruturada, analisando-se separadamente cada um dos cinco itens avaliados pelos degustadores. Isso foi feito através de uma análise de variância não paramétrica, no esquema de blocos incompletos balanceados, segundo SHIROSE (1982), utilizando o teste de DURBIN (1951); testou-se, então, a hipótese de nulidade de que os tratamentos não diferem entre si, contra a alternativa de que pelo menos dois tratamentos diferem entre si, utilizando-se a extensão do teste de "Friedman" (GUIDONI, 1978) no caso de ocorrência de empates.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Resultados

As somas de pontos conferidos pelos degustadores no julgamento das propriedades organolépticas (análise sensorial) são encontradas nas tabelas I, II e III; as médias dos valores do pH na tabela IV e o resultado da análise de variancia encontra-se na tabela V.

Destes resultados constatou-se que estes quatro tipos de iogurte comportaram-se, de acordo com os atributos avaliados, da seguinte maneira.

5.1.1. Aspecto Geral e Cor

Quanto ao aspecto geral e a cor os quatro tipos de iogurte comportaram-se de forma semelhante, pois os tratamentos não apresentaram diferença significativa nem ao começo do período de armazena-

mento (24 horas), nem ao final do mesmo (30 dias). Embora nesses dois períodos não tenha havido diferença significativa, esta ocorreu aos 15 dias de armazenamento onde o iogurte tipo IV foi o que somou maior número de pontos (15), sendo também o melhor qualificado logo no início, ou seja, após 24 horas de produzido. Aos 30 dias, o iogurte tipo IV juntamente com o tipo II foram os que maior número de pontos somaram para as características aspecto geral e cor.

5.1.2. Consistência

Com respeito à consistência, os iogurtes apresentaram diferença significativa para os três períodos de armazenamento (24 horas, 15 e 30 dias) e sempre o iogurte tipo IV foi o que obteve maior soma de pontos.

5.1.3. Textura

Em relação ao atributo textura, após 24 horas de armazenamento, os quatro tipos de iogurte mostraram-se semelhantes, não havendo diferença significativa entre os mesmos, sendo os melhores qualificados os tipos II e IV, com um total de 15 pontos cada um. Por outro lado, após 15 e 30 dias de armazenamento a diferença foi significativa ao nível de 1% ($P < 0,01$), sendo que o iogurte tipo IV recebeu o maior número de pontos nos dois casos (15 e 15).

5.1.4. Aroma

O aroma foi uma das características que menos variou durante o período estudado, tendo apresentado diferença significativa entre os quatro tipos de iogurtes experimentados somente aos 30 dias de armazenamento. Neste atributo, também o iogurte tipo IV foi o melhor qualificado com um total de 15 pontos. Embora a diferença entre os tipos de iogurtes não tenha sido significativa às 24 horas e aos 15 dias de armazenamento, no primeiro caso (24 horas) os melhores qualificados foram os iogurtes tipo II e IV, com um total de 15 pontos cada um. No segundo caso, o iogurte tipo IV foi o melhor qualificado recebendo um total de pontos (15) bem superior aos demais.

5.1.5. Sabor

Quanto à propriedade organoléptica sabor, também a diferença entre os tipos de iogurtes foi significativa somente aos 30 dias de armazenamento e aqui novamente o tipo IV foi o que maior soma de pontos (14) recebeu. Apesar da diferença não ter sido significativa às 24 horas após a elaboração, os tipos II e IV foram os que obtiveram maior soma de pontos (15) e aos 15 dias o iogurte tipo IV foi o melhor qualificado, tendo recebido a maior soma de pontos (14).

De acordo com as observações feitas pelos degustadores nas fichas de escala estruturada, encontrou-se que os iogurtes com 24 horas de armazenamento não apresentavam maiores problemas, com exceção do iogurte tipo II que apresentou-se um pouco fluido. Aos 15 dias alguns dos iogurtes começaram a apresentar leves defeitos, tais como : o iogurte tipo I tinha sabor láctico fraco, um pouco ácido e amargo; o iogurte tipo II possuía consistência fluida, sabor um pouco ácido e amargo; o iogurte tipo III apresentou sabor láctico fraco e um pouco ácido. Aos 30 dias esses defeitos foram mais marcantes. O iogurte tipo I apresentou-se mais ácido; o iogurte tipo II mais ácido e amargo e, o tipo III adocicado. O iogurte tipo IV em geral não apresentou defeitos, salvo aos 30 dias onde em alguns poucos casos foi detectado um sabor levemente ácido.

TABELA I - Análise sensorial dos iogurtes com 24 horas de armazenamento.

Iogurte Tipo (**)	Total de Pontos (*)			
	I	II	III	IV
Item				
1. Aspecto Geral e Cor	14	13	11	15
2. Consistência	12	12	11	15
3. Textura	13	15	12	15
4. Aroma	14	15	14	15
5. Sabor	14	15	12	15

(*) Soma total dos pontos conferidos pelos degustadores

(**) Iogurte tipo I (L. bulgaricus + S. thermophilus)

Iogurte tipo II (L. bulgaricus + S. thermophilus + L. acidophilus)

Iogurte tipo III (L. bulgaricus + S. thermophilus + S. lactis var. diacetylactis)

Iogurte tipo IV (L. bulgaricus + S. thermophilus + L. cremoris)

TABELA II - Análise sensorial dos iogurtes com 15 dias de armazenamento.

Iogurte Tipo (**)	Total de Pontos (*)			
	I	II	III	IV
Item				
1. Aspecto Geral e Cor	12	13	14	15
2. Consistência	10	10	12	15
3. Textura	10	10	12	15
4. Aroma	12	12	12	15
5. Sabor	10	10	13	14

(*) Soma total dos pontos conferidos pelos degustadores

(**) Iogurte tipo I (L. bulgaricus + S. thermophilus)

Iogurte tipo II (L. bulgaricus + S. thermophilus + L. acidophilus)

Iogurte tipo III (L. bulgaricus + S. thermophilus + S. lactis var. diacetylactis)

Iogurte tipo IV (L. bulgaricus + S. thermophilus + L. cremoris)

TABELA III - Análise sensorial dos iogurtes com 30 dias de armazenamen
to.

Iogurte Tipo (**)	Total de Pontos (*)			
	I	II	III	IV
Item				
1. Aspecto Geral e Cor	12	14	12	14
2. Consistênciã	12	14	11	15
3. Textura	12	14	11	15
4. Aroma	11	14	9	15
5. Sabor	11	11	7	14

(*) Soma total dos pontos conferidos pelos degustadores

(**) Iogurte tipo I (L. bulgaricus + S. thermophilus)

Iogurte tipo II (L. bulgaricus + S. thermophilus + L. acidophilus)

Iogurte tipo III (L. bulgaricus + S. thermophilus + S. lactis var.
diacetylactis)

Iogurte tipo IV (L. bulgaricus + S. thermophilus + L. cremoris)

TABELA IV - Médias dos valores de pH.

Tipo de Iogurte (**)	pH (*)			
	I	II	III	IV
Têmpo de Ar- mazenamento				
Apôs incubação e Refrige ração	4,6	4,7	4,7	4,6
24 horas	4,5	4,6	4,6	4,5
15 dias	4,3	4,3	4,5	4,3
30 dias	4,1	4,1	4,3	4,1

(*) Médias de quatro repetições.

(**) Iogurte tipo I (L. bulgaricus + S. thermophilus)

Iogurte tipo II (L. bulgaricus + S. thermophilus + L. acidophilus)

Iogurte tipo III (L. bulgaricus + S. thermophilus + S. lactis var.
diacetylactis)

Iogurte tipo IV (L. bulgaricus + S. thermophilus + L. cremoris)

TABELA V - Análise de Variância.

Item	Tempo de Armazenamento		
	24 Horas	15 Dias	30 Dias
1. Aspecto Geral e Cor	n.s.	* *	n.s.
2. Consistência	* *	* *	* *
3. Textura	n.s.	* *	* *
4. Aroma	n.s.	n.s.	* *
5. Sabor	n.s.	n.s.	* *

n.s. = não significativo

* * = significativo ao nível de 1%

5.2. Discussão

A consistência fluida apresentada pelo iogurte tipo II pode ter vários motivos, tal como encontrado na bibliografia. Segundo KURMANN (1977) uma atividade proteolítica muito forte, das culturas lácticas, poderia provocar um enfraquecimento da consistência do iogurte. Porém, segundo HUMPHREYS e PLUNKETT (1969) o coágulo do iogurte se forma com a precipitação completa da proteína quando obtido um pH de 4,6, e, segundo KROGER (1976), um pH final acima de 4,5 resulta em um coágulo fraco. Considerando o afirmado por estes autores também pode ser que seja devido à falta de uma acidez adequada, pois seu valor de pH foi um pouco alto (4,7), embora o iogurte tipo III tenha apresentado o mesmo valor de pH, mas com uma consistência firme.

A diminuição no sabor láctico apresentado pelo iogurte tipo I e III aos 15 dias de armazenamento, talvez possa ser explicado pelo encontrado por HAMDAM et alii (1971) que, estudando a produção de acetaldeído em culturas comerciais, acharam que em duas delas, depois de duas semanas de armazenamento do produto a uma temperatura de 4°C o teor de acetaldeído caiu de 26 ppm para 14 e 10 ppm.

O defeito do sabor ácido apresentado pelos iogurtes tipo I, II e III aos 15 dias e pelos iogurtes I e II aos 30 dias de armazenamento, são explicados por vários autores. Assim, RASIC e KURMANN (1978) afirmam que do ponto de vista técnico, a protocoperação bacteriana do iogurte pode produzir efeitos indesejáveis, como por exem-

plo uma acidificação excessiva do iogurte, se ela não for apropriadamente controlada. KURMANN (1977) comprovou que num iogurte muito ácido, o sabor do ácido lático predomina, mas, por meio de um sabor ácido-amargo. SALJI e ISMAIL (1983) estudaram as mudanças do pH em iogurte armazenado em refrigeração. Essa acidez muda durante o armazenamento, em maior ou menor grau, dependendo da acidez inicial do produto, da temperatura de refrigeração e do poder de pós-acidificação das culturas. Esses autores encontraram que, em iogurtes mantidos em refrigeração a 4°C, as amostras com acidez inicial baixa (pH alto 4,5) foram as que apresentaram o maior incremento na sua acidez e passaram de pH 4,5 para pH 4,1, enquanto que as amostras de acidez inicial alta (pH baixo 3,9) permaneceram mais estáveis e passaram de pH 3,9 a pH 3,7. Eles também comprovaram que as mudanças na acidez foram máximas na primeira semana e mínimas depois. Se se compara os valores de pH por eles obtidos com os apresentados no presente trabalho, aprecia-se que, com exceção do iogurte tipo III que apresentou um pH um pouco elevado ao final do período de armazenamento, os outros três iogurtes apresentaram uma atividade de pós-acidificação normal. Porém, segundo LÜCK e MOSTERT (1971), um iogurte com pH final de 3,9 - 4,1 não é agradável ao paladar, devido a sua alta acidez, fato que foi assinalado pelo painel de degustadores, na prova de degustação feita aos 30 dias de armazenamento, para os iogurtes tipo I e II. No iogurte tipo IV este defeito apresentou-se quase imperceptível.

O defeito sabor amargo apresentado pelos iogurtes tipo I, II e III aos 15 dias e, pelos iogurtes I e II aos 30 dias de armazenamento, segundo KROGER (1976) e RENZ e PUHAN (1975), é devido à presença de peptídeos de sabor amargo, cuja presença no iogurte é atribuída à proteólise que o L. bulgaricus realiza durante o armazenamento.

Segundo PERRY (1961) e VEDAMUTHU et alii (1964) o sabor adocicado, chamado de sabor de frutas pelos especialistas em laticínios, que apresentou o iogurte tipo III, na prova de degustação realizada aos 30 dias de armazenamento do produto, é um defeito causado por algumas linhagens de S. lactis, S. lactis var. diacetylactis e por microrganismos psicrotróficos na maturação de queijos. COUSIN e MARTH (1977) citam este defeito para o iogurte. BILLS et alii (1965) afirmam que esses microrganismos são os responsáveis por uma produção de etanol de 6 a 16 vezes maior que nas amostras normais. Este alto nível de etanol é o responsável pela esterificação dos ácidos graxos livres produzindo assim altos níveis de etil esterés como o etil butirato e etil hexanoato, responsáveis por dito defeito no sabor, e que se encontram numa concentração de 2 a 10 vezes maior que nas amostras normais.

O iogurte tipo I (L. bulgaricus + S. thermophilus) é a combinação de culturas lácticas comumente usada na indústria de laticínios para a produção do iogurte, e, foi utilizada neste experimento como controle.

A combinação de culturas do iogurte II (L. bulgaricus + S. thermophilus + L. acidophilus), num estudo feito por LABROPOU

LOS et alii (1982), ao ser comparada com outras combinações, obteve bons níveis em termos de produção de ácido, firmeza de gel e aceitabilidade por parte de um painel de avaliação sensorial. Resultados similares foram obtidos por SHARMA e SING (1982) quanto à produção de ácidos voláteis, acetaldeído e atividade proteolítica dessa combinação. Porém, DAVIS (1975) diz que o leite acidófilo apresenta problemas de adstringência e que estão sendo feitas pesquisas a respeito da sua incorporação no iogurte, que é um assunto ainda polêmico. Neste experimento essa combinação apresentou problemas de consistência um pouco fluida, e sabor um pouco amargo e ácido a partir dos 15 dias de produzido em diante. Porém, acredita-se que, dada a importância do L. acidophilus, mais pesquisas neste aspecto seriam de grande interesse.

O iogurte tipo III foi produzido pela combinação de L. bulgaricus + S. thermophilus + S. lactis var. diacetylactis. RASIC e MILANOVIC (1966) afirmam que a adição de S. diacetylactis ao iogurte incrementa o conteúdo de diacetil e também de acetaldeído. Portanto, esses autores consideram que a incorporação dessa cultura melhora o sabor e aroma. Porém, neste experimento essa combinação não foi das melhores qualificadas, e, além disso, no fim do período de armazenamento (30 dias) apresentou o comentado sabor de frutas.

O iogurte tipo IV foi uma combinação de L. bulgaricus + S. thermophilus + L. cremoris. O L. cremoris é o principal microrganismo fermentador do ácido cítrico e produz diacetil, acetoin, e, algumas linhagens também produzem acetaldeído (COX, 1976; LAWRENCE et

alii, 1976 e REITER, 1973). SANDINE et alii (1972) afirmam que, em seu trabalho, o L. cremoris foi útil para melhorar o sabor do queijo Cottage. No presente trabalho esta combinação resultou em um produto final de boa qualidade, a qual foi mantida ao longo de todo o período de armazenamento.

6. CONCLUSÕES

Após a análise e discussão dos resultados, concluiu-se que:

1. Nas primeiras 24 horas de produzido os iogurtes, os tipos II e IV foram os que se apresentaram como os melhores qualificados em relação à textura, aroma e sabor; mas com respeito à cor e consistência o iogurte tipo IV foi o melhor qualificado.

2. Aos 15 e 30 dias de armazenamento o iogurte tipo IV foi o melhor qualificado para os 5 atributos organolépticos avaliados na análise sensorial.

3. Quanto ao poder de pós-acidificação as combinações de culturas lácticas estudadas se comportaram de maneira semelhante.

4. Dentre as combinações de culturas lácticas experimentadas a que melhores e mais estáveis atributos fornecem ao produto foi: Lactobacillus bulgaricus + Streptococcus thermophilus + Lactobacillus cremoris (1,5% + 1,5% + 1%) necessitando entretanto, para o seu emprego industrial, estudos mais detalhados.

7. BIBLIOGRAFIA

- ACOTT, K.M. e T.P. LABUZA, 1972. Food Prod. Dev. 6, 50: IN: DEETH, H.C. e A.Y. TAMIME, 1981. Yogurt: Nutritive and therapeutic aspects. J. Food Protect., vol. 44(1): 78-86.
- AUCLAIR, J.E. e A. PORTMAN, 1959. Influence du chauffage du lait sur le développement des bactéries. Le Lait, 39: 496-519.
- AYEBO, A.D. e K.M. SHAHANI, 1980. Role of cultured dairy products in the diet. Cult. Dairy Prod. J., vol 15(4): 21-29.
- BABEL, F.J., 1977. Antibiosis by lactic culture bacteria. J. Dairy Sc., 60(5): 815-821.
- BAISYA, R.K. e A.N. BOSE, 1975. Indian J. Dairy Sc., 28: 179. IN: TAMIME, A.Y. e H.C. DEETH, 1980. J. Food Prot., 43(12): 939-977.
- BALENSIFER, A., 1971. Proteína. Sua importância na alimentação. Boletim do Leite, ano XLIV, 518: 19-20.

- BARIBO, L.E. e E.M. FOSTER, 1951. The production of a growth inhibition by lactic streptococci. J. Dairy Sci., 34: 1136.
- BILLS, D.D., M.E. MORGAN, L.M. LIBBEY e E.A. DAY, 1965. Identification of compounds responsible for fruity flavor defect of experimental cheddar cheeses. J. Dairy Sc., vol. 48: 1168-1173.
- BLANC, B., 1973. Schweiz, Milchz. 60/61, 3. IN: DEETH, H.C. e A.Y. TAMIME, 1981. Yogurt: Nutritive and therapeutic aspects. J. Food Protect., 44(1): 78-86.
- BOLETIM DO LEITE, 1971 (Nº 513); 1972 (Nº 525); 1973 (Nº 539); 1975 (Nº 556).
- BOTTAZZI, V. e F. DELLAGLIO, 1967. Adetaldehyde and diacetyl production by Streptococcus thermophilus and their lactic Streptococci. J. Dairy Res., 34: 109.
- BOTTAZZI, V. e M. VESCOVO, 1969. Carbonyl compounds produced by yoghurt bacteria. Neth. Milk Dairy J., 23: 71-78.
- BRESLAW, E.S. e D.H. KLEYN, 1973. In vitro digestibility of protein in yogurt at various stages of processing. J. Food Sci., 38: 1016.
- BRYAN, A.H., 1965. Lactobacilli for enteric infections. Drug. Cosmet. Ind., 96: 474.
- CERNA, J., J. PICKOVA e J. BLATTNA, 1973. Effect of dairy cultures on vitamins contents in milk. Dairy Sci. Abstr., 35: 413.
- CHAIB DE MORAES, M.A., 1983. Métodos para avaliação sensorial dos alimentos. UNICAMP, 80 pp.

- CHUNG, K.C. e J.M. GOEPFERT, 1970. Growth of Salmonella at low pH. J. Food Sc., 35: 326.
- COCHRAN, W.G. e G.M. COX, 1957. Diseños Experimentales. Edit. Trillas, México, 661 p. 1971.
- COLLINS, E.B., 1961. Dominations among strains of lactic streptococci with attention to antibiotic production. Appl. Microbiol., 9: 200.
- COLLINS, E.B., 1972. Biosynthesis of flavor compounds by microorganisms. J. Dairy Sc., 55(7): 1022-28.
- COLLINS, E.B. e K. ARAMAKI, 1980. Production of hydrogen peroxide by Lactobacillus acidophilus. J. Dairy Sc., 63: 353-357.
- COUSIN, M.A. e E.H. MARTH, 1977. Cottage cheese and yogurt manufactured from milks precultured with psychrotrophic bacteria. Cult. Dairy Prod. J., 12(2): 15-18.
- COX, W.A., 1976. Characteristics and use of starter cultures in the manufacture of hard pressed cheese. J. Soc. Dairy Technol., 30(1): 5-15.
- CZARNOCKA-ROCZNIAKOWA, B. e M. WOJEWODZKA, 1970. Changes in ascorbic acid content of vitaminized milk during fermentation induced by yogurt microflora. Dairy Sci. Abstr., 32: 186.
- DAHIYA, R.S. e M.L. SPECK, 1962. Symbiosis among lactic streptococci. J. Dairy Sc., 45(2): 607-612.
- DAHIYA, R.S. e M.L. SPECK, 1968. Hydrogen peroxide formation by lactobacilli and its effects on Staphylococcus aureus. J. Dairy Sc., 51(10): 1568-1572.

- DALY, C., W.E. SANDINE e P.R. ELLIKER, 1970. Associative growth and inhibitory properties of Streptococcus diacetylactis. J. Dairy Sc., 53(5): 637.
- DAVEY, G.P. e B.C. RICHARDSON, 1981. Purification and some properties of diplococci from Streptococcus cremoris 346. Applied Environ. Microbiol., 41: 84-89.
- DAVIES, L. e M.D. HOLDSWORTH, 1978. The place of milk in the dietary of the elderly. J. Hum. Nutr., 32: 195-200.
- DAVIS, J.G., 1952a. Yogurt I. Food 21: 249.
- DAVIS, J.G., 1952b. Yogurt II. Food 21: 284.
- DAVIS, J.G., 1971. Standards for yogurt. Dairy Inds., 36: 456-462. IN: HAAST, J. DE, P.M. LATEGAN e J.C. NOVELLO, 1979. S. Afr. J. Dairy Technol., vol 11(1): 11-15.
- DAVIS, J.G., 1975. The microbiology of yoghurt. Lactic acid bacteria in beverages and foods. Academic Press, London - New York.
- DAVIS, A., 1978. Lets eat right to keep fit. pag. 86. Third Impression, Cox & Wyman Ltd., London, UK. IN: DEETH, H.C. e A.Y. TAMIME, 1981. Yoghurt: Nutritive and therapeutic aspects. J. Food Protect., 44(1): 78-86.
- DAVIS, J.G. e D. LATTO, 1957. Lancet 272, 274. IN: DEETH, H.C. e TAMIME, 1981. Yoghurt: Nutritive and Therapeutic aspects. J. Food Protect., 44(1): 78-86.

- DAWSON, E.H., J.L. GROGDON e S. McMANUS, 1963. Sensory testing of differences in taste. II. Selection of panel members. Food Technol., 17 (10): 39-43.
- DAWSON, E.H. e B.L. HARRIS, 1951. Sensory methods for measuring differences in food quality. U.S.D.A. Bureau of Human Nutrition and Home Economics Agriculture Information Bulletin Nº 34, 19-25. IN: GUIDE BOOK FOR SENSORY TESTING, 1966. Continental Can Co., Inc. Chicago, Illinois.
- DEETH, H.C. e A.Y. TAMIME, 1981. Yogurt: Nutritive and Therapeutic Aspects. J. Food Protect., 44(1): 78-86.
- DOAN, F.J. e J.L. DIZIKES, 1942. Digestion characteristics of various types of milk compared with human milk. Pa. Agric. Exp. Sta., 428. IN: FERREIRA, C.L.L.F., 1978. Elementos compositionais e aspectos nutritivos do leite e iogurte. Rev. do ILCT, 33(200): 13-17.
- DRIESSEN, F.M., F. KINGMA e J. STADHOUDERS, 1982. Evidence that Lactobacillus bulgaricus in yogurt is stimulated by carbon dioxide produced by Streptococcus thermophilus. Neth. Milk Dairy J., 36(2) : 135-144.
- DUPUIS, Y., 1964. Fermented milks. IDF Annual Bulletin, Part III, page 36, Bruxelles, Belgium. IN: DEETH, H.C. e A.Y. TAMIME, 1981. Yogurt: Nutritive and therapeutic aspects. J. Food Protect., 44(1): 78-86.
- DURBIN, J., 1951. Incomplete blocks in ranking experiments. The British J. of Psychology (Statistical Section), 4: 85-90. IN: SHIROSE, I. Bol. ITAL, 19(2): 113-132.

- DUTTA, S.M., R.K. KUILA, B. RANGANATHAN e H. LAXMINARAYANA, 1971. Indian J. Dairy Sc., 24: 107. IN: TAMIME, A.Y. e H.C. DEETH, 1980. J. Food Prot., 43(12): 937-977.
- DUTTA, S.M., R.K. KUILA e B. RANGANATHAN, 1973. Milchwissenschaft 28: 231. IN: TAMIME, A.Y. e H.C. DEETH, 1980. J. Food Prot. 43(12):939-977.
- ERDMAN, M.D., W.G. BERGEN e C.A. REDDY, 1977. Amino acid profiles and presumptive nutritional assessment of single-cell protein from certain lactobacilli. Appl. Environ. Microbiol., 33(4): 901-905.
- FERREIRA, C.L.L.F., 1978. Elementos compositionais e aspectos nutritivos do leite e iogurte. Rev. do ILCT, 33(200): 13-17.
- FERREIRA, C.L.L.F., 1979. Valor terapêutico do iogurte e leite acidófilo. Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes, 34(202): 25-27.
- FERRER, F.P. e L.J. BOYD, 1955. Amer. J. Dig. Dis. 22, 272. IN: DEETH, H.C. e A.Y. TAMIME, 1981. Yogurt: Nutritive and therapeutic aspects. J. Food Protect., 44(1): 78-86.
- GALESLOOT, T.E. e F. HASSING, 1966. Heating of yoghurt milk in an in-flow sterilizer. Dairy Sci. Abstr., 28: 184.
- GALESLOOT, T.E. e F. HASSING, 1973. Maintaining the mucus production of yogurt cultures. Mededeling, Nederlands Instituut voor Zuivelonderzoek 7: 57-62. IN: HAAST, J. DE, P.M. LATEGAN e J.C. NOVELLO. S. Afr. J. Dairy Technol., 1979, 11(1): 11-15.
- GALESLOOT, T.E., F. HASSING e H.A. VERINGA, 1968. Neth. Milk Dairy J., 22: 50-63. IN: DRIESSEN, F.M., F. KINGMA e J. STADHOUDERS. 1982. Neth. Milk Dairy J., 36(2): 135-144.
- GILLILAND, S.E. e M.L. SPECK, 1977. Antagonistic action of Lactobacillus acidophilus toward intestinal and foodborne pathogens in associative cultures. J. Food Protect., 40: 820-823.

- GOODENOUGH, E.R. e D.H. KLEYN, 1975. Qualitative and quantitative changes in carbohydrates during the manufacture of yogurt. J. Dairy Sc. 59: 45-47.
- GOODENOUGH, E.R. e D.H. KLEYN, 1976. Influence of viable yogurt microflora on digestion of lactose by the rat. J. Dairy Sc., 59(4): 601-606.
- GREEN, M.L., 1980. The formation and structure of milk protein gels. Food Chemistry, 6: 41-49.
- GROSSOWICS, N., D. KAPLAN e S. SCHLEERSON, 1947. Production of an antibiotic substance by a lactobacillus. Rep. Proc. Int. Congr. Microbiol., Copenhagen, 4th, 137.
- GROUX, M., 1973. Critical observations of yogurt manufacture with reference to protein break down. Dairy Sc. Abstr., 35: 1474.
- GROUX, M. 1976. "Nestlé" Research News 1974/75, pag. 50. Ed. Boella, C. Nestlé Products Technical Assistance Co. Ltd. 1001, Lausanne, Switzerland. IN: TAMIME, A.Y. e H.C. DEETH, 1980. J. Food Prot., 43(12) : 937-977.
- GUIDONI, A.L., 1978. Extensão do teste de "Friedman" aos blocos incompletos equilibrados. Seminário apresentado ao Curso de Pós-Graduação em Experimentação e Estatística, ESALQ/USP, 13 p. IN: SHIROSE, I., Bol. ITAL, 19(2): 113-132.
- HAAST, J. DE, P.M. LATEGAN e J.C. NOVELLO, 1979. Some aspects of yogurt quality - A review. S. Afr. J. Dairy Technol., 11(1): 11-15.

- HALDEN, W., 1964. Fermented milks. IDF Annual Bulletin, Part III, page 17-21, Bruxelles, Belgium, IN: DEETH, H.C. e A.Y. TAMIME, 1981. Yogurt: Nutritive and therapeutic aspects. J. Food Protect., 44(1): 78-86.
- HAMADA, K., Y. WAKI, T. KITAGAWA, K. UCHIDA, H. CHIBA et alii, 1971. Studies on the effect of fermented milk by Lactobacilli on human health. The Summary of Reports on Yakult. Yakult Honsha, Co., Ltd. Tokyo, Japan, pag. 54-56. IN: AYEBO, A.D. e K.M. SHAHANI, 1980. Role of cultured dairy products in the diet. Cult. Dairy Prod. J., 15(4): 21-29.
- HAMDAM, I.Y., J.E. KUNSMAN e D.D. DEANE, 1971. Acetaldehyde production of combined yogurt cultures. J. Dairy Sc., 54: 1080.
- HAMDAM, I.Y. e E.M. MIKOLAJCIK, 1973. Growth, viability and antimicrobial activity of Lactobacillus acidophilus. J. Dairy Sc., 56: 638 (Abstr.).
- HARGROVE, R.E. e J.A. ALFORD, 1978. Growth rate and feed efficiency of rats fed yogurt and other fermented milks. J. Dairy Sci., 61(1): 11-19.
- HARGROVE, R.E. e J.A. ALFORD, 1980. Growth response of weanling rats to heated, aged, fractionated and chemically treated yogurts. J. Dairy Sci., 63: 1065-1072.
- HARVEY, R.J., 1960. Production of acetaldehyde and acetone by lactic streptococci. J. Dairy Res. 27: 41.
- HARVEY, R.J. e E.B. COLLINS, 1961. Role of citritase in acetoin formation by Streptococcus diacetylactis and Leuconostoc citrovorum. J. Bacteriol., 82: 954.

- HEMPENIUS, W.L. e B.J.LISKA, 1964. Preliminary observations on production of natural flavor in chemically acidified cream and skim milk. J. Dairy Sc. 47: 1099-1101.
- HUMPHREYS, C.L. e M. PLUNKETT, 1969. Yogurt: A review of its manufacture. Dairy Sci. Abstr., 31: 607-622.
- IANDOLA, J.J., C.W. CLARK, L. BLUHM e Z.J. ORDAL, 1965. Repression of Staphylococcus aureus in associative culture. Appl. Microbiol., 13: 646.
- JUFFS, H.S. e F.J. BABEL, 1975. Inhibition of psychrotrophic bacteria by lactic cultures in milk stored at low temperatures. J. Dairy Sc., 58(11): 1612.
- KARLIN, R., 1961. Ann. Nutr. Aliment. 15, 247. IN: DEETH, H.C. e A.Y. TAMIME, 1981. Yogurt: Nutritive and therapeutic aspects. J. Food Protect., 44(1): 78-86.
- KEENAN, T.W. e D.D. BILLS, 1968. Metabolism of volatile compounds by lactic starter culture microorganisms. A review. J. Dairy Sc., 51: 1561-1567.
- KELLY, L.L., 1984. Lactose intolerance - Could yogurt be the answer ? Cult. Dairy Prod. J., 19(2): 12-14.
- KETZ, H.A., 1972. Zur Ernährung im Altar. Ernährungs forschung, 17:351-389. IN: RENNER, E., 1982. Aspectos nutritivos fisiológicos da proteína do leite. Boletim do Leite, ano LIV, Nº 643: 34-42.
- KILARA, A. e K.M. SHAHANI, 1976. Lactose activity of cultured and acidified dairy products. J. Dairy Sci., 59: 2031-2035.
- KILARA, A. e K.M. SHAHANI, 1978. Lactic fermentations of dairy foods and their biological significance. J. Dairy Sc., 61(12): 1793-1800.

- KODAMA, R., 1952. Studies on lactic acid bacteria. II. Lactolin, a new antibiotic substance produced by lactic acid bacteria. J. Antibiotics, 5: 72.
- KOLARS, J.C., M.D. LEVITT, M. AOUJI e D.A. SAVAIANO, 1984. Yogurt an autodigesting source of lactose. New England J. of Medicine, 310: 1-3.
- KOSIKOWSKI, F., 1970. Cheese and fermented milk foods. Edward Brothers Inc. Michigan, 429 pp.
- KROGER, M., 1976. Quality of yogurt. J. Dairy Sc., 59(2): 344-350.
- KROGER, M., 1978. Arguments for yogurt with viable bacteria. Cult. Dairy Prod. J., 45(2): 607-612.
- KURMANN, J.A., 1977. Os fatores biológicos e técnicos da fabricação do iogurte. Anais do IV Congresso Nacional de Laticínios, 74-84.
- LABROPOULOS, A.E., W.F. COLLINS e W.K. STONE, 1982. Starter culture effects on yogurt fermentation. Cult. Dairy Prod. J., 17(2): 15-17.
- LAWRENCE, R.C., T.D. THOMAS e B.E. TERZAGHI, 1976. Reviews of the progress of dairy science: cheese starters. J. Dairy Res., 43(1): 141-193.
- LEES, G.J. e G.R. JAGO, 1976a. Acetaldehyde: An intermediate in the formation of ethanol from glucose by lactic acid bacteria. J. Dairy Res. 43: 63-73.
- LESS, G.J. e G.R. JAGO, 1976b. Formation of acetaldehyde production from threonine by lactic acid bacteria. J. Dairy Res., 43: 75-83.

- LUCK, H. e J.F. MOSTERT, 1971. Pasteurization of fermented milk products. S. Afr. J. Dairy Technol. 3(2): 75-80.
- LUCZYŃKA, A., F. BIJOK, T. WAJNERT, W. KAZIMIERCZAK, E. LIPINSKA, M. KOSIKOWSKA e E. JAKUBCZYK, 1978. XX International Dairy Congress E, 836. IN: TAMIME, A.Y. e H.C. DEETH, 1980. J. Food Prot., 43(2) : 939-977.
- LUNDSTEDT, E. e W.B. FOGG, 1962. Inducing flavor in Cottage Cheese through citrated whey starters. Milk Dealer, 51(1): 46.
- MANN, G.V. e A. SPOERRY, 1974. Studies of a surfactant and cholesteremia in the Maasai. Amer. J. Clin. Nutr. 27: 464. IN: M.L. SPECK, 1976. Interactions among lactobacilli and man. J. Dairy Sci., 59(2): 338-343.
- MANSON, W., 1975. Nutritional aspects of milk protein. J. Soc. Dairy Technol., 28: 203-208.
- MARSHALL, C.E., 1905. Extended studies of the associative action of bacteria in the souring of milk. Spec. Bull., Mich. Agr. Expt. Sta., Nº 33. IN: DAHIYA, R.S. e M.L. SPECK, 1962. Symbiosis among Lactic streptococci. J. Dairy Sci., 45(2): 607-612.
- MARSHALL, C.E. e B. FERRAND, 1908. Bacterial association in the souring of milk. Spec. Bull., Mich. Agr. Exp. Sta., Nº 42. IN: DAHIYA, R.S. e M.L. SPECK, 1962. Symbiosis among lactic streptococci. J. Dairy Sci., 45(2): 607-612.
- MARTH, E.H. e R.V. HUSSONG, 1963. Effect of skimmilks cultured with different strains of Leuconostoc citrovorum on growth of some bacteria and yeasts. J. Dairy Sci., 46: 1033-1037.

- MARTINELLI FILHO, A., (s.d.). Microbiologia de alimentos I. Piracicaba, ESALQ/USP, 160-164.
- MATHER, D.W. e F.J. BABEL, 1959. Inhibition of certain types of bacterial spoilage in creamed Cottage cheese by the use of creaming mixture prepared with Streptococcus citrovorus. J. Dairy Sci., 42: 1917-1926.
- MAYNON-WHITE, R.M. e M.C. IRVING, 1951. Cyanosis in infancy from nitrates in drinking water. Lancet, 260: 931. IN: FERREIRA, C.L.L.F., 1979. Valor terapêutico do iogurte e leite acidófilo. Rev. Inst. Latic. Candido Tostes, 34(202): 25-27.
- MEL'NIKOVA, E.V. e N.S. KOROLEVA, 1975. Capacity of a L. bulgaricum and S. thermophilus starter to produce antibiotic substances. Dairy Sci. Abstr., 37: 413.
- MILLER, I. e O. KANDLER, 1964. Med. u. Ernahr, 5: 100-108. IN: DRIESSEN, F.M., F. KINGMA e J.S. STADHOUDERS, 1982. Evidence that Lactobacillus bulgaricus in yogurt is stimulated by carbon dioxide produced by Streptococcus thermophilus. Neth. Milk Dairy J., 36(2) : 135-144.
- MITIC, S., I. OTENHAJMER e D. OBRADOVIC, 1974. A study of bacterial antagonisms of strains of Lactobacillus acidophilus towards some test organisms. Dairy Sci. Abstr., 36: 656.
- MITSUOKA, T., 1972. Conversion and manufacture of foodstuffs by microorganisms. Saikon Pub. Co., Japan: 169-180.

- MORI, E.E.M., I. SHIROSE, V.L.P. FERREIRA e S.D.S. de CAMPOS, 1983. Mé todos sensoriais e físicos para avaliação de alimentos e bebidas: Princípios e Aplicação. ITAL, Campinas.
- MUTAI, M., K. ASO e M. SHIROTA, 1972. Conversion and manufacture of foodstuffs by microorganisms. Saikon Publishing Co.: 181-189, Japan.
- NAKAE, T. e J.A. ELLIOTT, 1965. Volatile fatty acids produced by some lactic acid bacteria. I. Factors influencing production of volatile fatty acids from casein hydrolysate. J. Dairy Sc., 48: 287-292.
- NIELSEN, V.H., 1976. Factors which control the body and texture of commercial yogurts. American Dairy Review, (36): 36-38.
- NIV, M., W. LEVY e N.M. GREENSTEIN, 1963. Clin. Pediat. 2, 407. IN: DEETH, H.C. e A.Y. TAMIME, 1981. Yogurt: Nutritive and therapeutic aspects. J. Food Protect., 44(1): 78-86.
- NURMIKKO, V., 1953. Factors affecting the growth of lactic acid bacteria in association. Intern. Dairy Congr., The Hague, 3: 1154.
- ODUM, E.P., 1971. Fundamentals of ecology. p. 211-212. Philadelphia, London, Toronto, W.B. Saunders.
- OLIVEIRA, J.S., 1969/70. Inibição de Pseudomonas putrefaciens for Streptococcus diacetylactis e Leuconostoc citrovorum. Coletânea do ITAL. vol. 3: 115-128.
- O'NEIL, J.M., D.H. KLEYN e L.B. KARE, 1979. Consistency and compositional characteristics of commercial yogurts. J. Dairy Sci., 62(6) : 1032-1036.

- PEARCE, L.E. e H.A. HEAP, 1974. Town Milk J. of the New Zealand Milk Board 22, 18. IN: ROBINSON, R.K. e A.Y. TAMIME, 1975. Yogurt a review of the product and its manufacture. J. Soc. Dairy Technol., 28 (3): 149-163.
- PERRY, K.D., 1961. A comparison of the influence of Streptococcus lactis and S. cremoris starters on the flavour of Cheddar cheese. J. Dairy Res., 28(3): 221-230.
- PETTE, J.W. e H. LOLKEMA, 1950. Yogurt. III. Acid production and aroma formation in yogurt. Netherlands Milk Dairy J., 4: 261.
- PINHEIRO, A.J.R., B.J. LISKA e C.E. PARMELEE, 1968. Properties of substances inhibitory to Pseudomonas fragi produced by Streptococcus citrovorus e Streptococcus diacetylactis. J. Dairy Sc., 51(2): 183-187.
- PONCE, I.F. e E.L. PIÑEYRO, 1974. Elaboração de queijos e leites fermentados. Univ. Est. de Campinas, 146 pp., Brasil.
- PRICE, R.J. e J.S. LEE, 1970. Inhibition of Pseudomonas species by hydrogen peroxide producing lactobacilli. J. Milk Food Technol., 33: 13.
- PULUSANI, S.R., D.R. RAO e G.R. SUNKI, 1979. Antimicrobial activity of lactic cultures: partial purification and characterization of antimicrobial compound produced by Streptococcus thermophilus. J. Food Sc. 44:575.
- RASIC, J. e J.A. KURMAN, 1978. Yogurt: scientific grounds, technology, manufacture and preparations. vol. 1, 110 pag. Dairy Publ. House. Copenhagen. Denmark.
- RASIC, J. e Z. MILANOVIC, 1966. XVII Int. Dairy Congr. E/F 637. IN: HUMPHREYS, C.L. e M. PLUNKETT, 1969. Dairy Sci. Abstr., 31(11): 607-622.

- RASIC, J., T. STOJSAVLJEVIC e R. CURIC, 1971. A study of the amino acids of yogurt. II. Amino acids content and biological value of protein of different kinds of yogurt. Milchwissenschaft, 26: 219-224.
- REDDY, G.V. e K.M. SHAHANI, 1971. Isolation of an antibiotic from Lactobacillus bulgaricus. J. Dairy Sc., 54: 748 (Abstr.)
- REDDY, G.V., K.M. SHAHANI e M.R. BANERJEE, 1973. Inhibitory effect of yogurt on Erlich Ascites tumor cell proliferation. J. Natl. Cancer Inst., 50: 815-817. IN: Cult. Dairy Prod. J., 8(3): 7.
- REDDY, G.V., K.M. SHAHANI, B.A. FRIEND e R.C. CHANDAN, 1984. Natural antibiotic activity of Lactobacillus acidophilus and bulgaricus. III. Production and partial purification of bulgarican from Lactobacillus bulgaricus. Cult. Dairy Prod. J., 19(2): 7-11.
- REDDY, K.P., K.M. SHAHANI e S.M. KULKARNI, 1976. B-Complex vitamins in Cultured and acidified yogurt. J. Dairy Sci., 59(2): 191-195.
- REITER, B., 1973. Some thoughts on cheese starters. J. Soc. Dairy Technol., 26(1): 3-21.
- RENNER, E., 1982. Aspectos nutritivos fisiológicos da proteína do leite. Boletim do Leite, ano LIV, Nº 643: 34-42.
- RENZ, U. e Z. PUHAN, 1975. Milchuvissenschaft, 30: 265.
- ROCHIETTA, V., 1975. Intestinal microflora of infants fed L. bulgaricus e S. thermophilus. Dairy Sci. Abstr., 37: 778.

- RUBIN, H.E., T. NERAD e F. VAUGHAN, 1982. Lactic acid inhibition of Salmonella typhimurium in yogurt. J. Dairy Sci., 65: 197-203.
- SALJI, J.P. e A.A. ISMAIL, 1983. Effect of initial acidity of plain yogurt on acidity changes during refrigerated storage. J. Food Sci., 48(1): 258-259.
- SALVADORI, P. e B.B. SALVADORI, 1974. Variations in the microflora of human faeces with feeding of yoghurt. Dairy Sci. Abstr., 36: 44.
- SANDINE, W.E., 1979. Roles of Lactobacillus in the intestinal tract. J. Food Prot., 42(3): 259-262.
- SANDINE, W.E., C. DALY, P.R. ELLIKER e E.R. VEDAMUTHU, 1972. Causes and control of culture - related flavor defects in cultured dairy products. J. Dairy Sci., 55(7): 1031-1039.
- SANDINE, W.E. e P.R. ELLIKER, Microbially induced flavours and fermented foods. Flavour in fermented dairy products. (A review). J. Agric. Fd. Chem., 18: 557-562.
- SELLARS, R.L. e F.J. BABEL, 1970. Cultures for the manufacture of dairy products. Chr. Hansen's Lab. Inc., Wisconsin, pp. 46-49.
- SHAHANI, K.M. e A.D. AYEBO, 1980. Role of dietary lactobacilli in gastrointestinal microecology. Am. J. Clin. Nutr. 33 (In Press) IN: A.D. AYEBO e K.M. SHAHANI, 1980. Role of cultured dairy products in the diet. Cult. Dairy Prod. J., 15(4): 21-29.
- SHAHANI, K.M. e R.C. CHANDAN, 1979. Nutritional and healthful aspects of cultured and culture - containing dairy foods. J. Dairy Sci., 62: 1685-1694.

- SHAHANI, K.M., G.V. REDDY e A.M. JOE, 1974. XIX Int. Dairy Cong. IE, 569. IN: DEETH, H.C. e A.Y. TAMIME, 1981. Yogurt: Nutritive and therapeutic aspects. J. Food Protect., 44(1): 78-86.
- SHAHANI, K.M., J.R. VAKIL e A. KILARA, 1976. Natural antibiotic activity of Lactobacillus acidophilus and bulgaricus. I. Cultural conditions for the production of antibiosis. Cult. Dairy Prod. J., 11(4): 14-17.
- SHAHANI, K.M., J.R. VAKIL e A. KILARA, 1977. Natural antibiotic activity of Lactobacillus acidophilus and bulgaricus. II. Isolation of acidophilin from L. acidophilus. Cult. Dairy Prod. J., 12(2): 8-11.
- SHANKAR, P.A. e F.L. DAVIES, 1977. Amino acid and peptide utilization by Streptococcus thermophilus in relation to yogurt manufacture. J. Appl. Bact., 43, VIII.
- SHANKAR, P.A. e H. LAXMINARAYANA, 1974. XIX Inter. Dairy Congr. IE, 744. IN: DEETH, H.C. e A.Y. TAMIME, 1981. Yogurt: Nutritive and therapeutic aspects. J. Food Protect., 44(1): 78-86.
- SHARMA, N. e D.N. GANDHI, 1981. Preparation of acidophilin. I. Selection of the starter culture. Cult. Dairy Prod. J., 16(2): 6-10.
- SHARMA, D.K. e J. SING, 1982. Yogurt starters in skim milk. II. Behavior of Lactobacillus acidophilus in yogurt starters. Cult. Dairy Prod. J., 17(4): 10-12.
- SHARPE, M.E., 1979. Lactic acid bacteria in the dairy industry. J. Soc. Dairy Tech., 32(1): 9-18.

- SHARPE, M.E., E.I. GARVIE e R.H. TILBURY, 1972. Some slime-forming heterofermentative species of the genus Lactobacillus. Appl. Microbiol. 23: 389-397.
- SHIROSE, I., 1982. Análise de variância não-paramétrica dos delineamentos em blocos incompletos balanceados. Bol. ITAL, 19(2): 113-132.
- SIMHAE, E. e E. KESHAVARZ, 1974. Comparison of gross protein value and metabolizable energy of dried skim milk and dried yogurt. Poultry Sci., 53: 184.
- SINGH, J., A. KHANNA e H. CHANDER, 1979. Antibacterial activity of yogurt starter in cow and buffalo milk. J. Food Protect., 42(8): 664-665.
- SORRELLS, K.M. e M.L. SPECK, 1970. Inhibition of Salmonella gallinarum by culture filtrates of Leuconostoc citrovorum. J. Dairy Sc., 53: 239.
- SPECK, M.L., 1972. Control of food-borne pathogens by starter cultures. J. Dairy Sc., 55(7): 1019-1022.
- SPECK, M.L., 1976. Interactions among lactobacilli and man. J. Dairy Sc., 59(2): 338-343.
- SPECK, M.L., 1977. Heated yogurt - is it still yogurt ? J. Food Prot. 40: 863-865.
- SPECK, M.L., 1983. Evidence of value of live starter culture in yogurt. Cult. Dairy Prod. J., 18(1): 25-26.

- TAMIME, A.Y., 1977. Some aspects of the production of yogurt and condensed yogurt. Ph.D. Thesis. University of Reading, Berkshire, UK.
- TAMIME, A.Y., 1978a. XX International Dairy Congress E, 832. IN: TAMIME, A.Y. e H.C. DEETH, 1980. J. Food Prot., 43(12): 939-977.
- TAMIME, A.Y., 1978b. Cultured Dairy Prod. J., 13: 16. IN: TAMIME, A.Y. e H.C. DEETH, 1980. J. Food Prot., 43(12): 939-977.
- TAMIME, A.Y. e H.C. DEETH, 1980. Yogurt: Technology and Biochemistry. J. Food Prot., 43(12): 939-977.
- TAMIME, A.Y. e R.K. ROBINSON, 1978. Milchwissenschaft, 33: 209. IN: TAMIME, A.Y. e H.C. DEETH, 1980. J. Food Prot., 43(12): 939-977.
- TODOROV, D., 1962. The bacteriological properties of yogurt organisms. Dairy Sci. Abstr., 24: 309.
- VAKIL, J.R. e K.M. SHAHANI, 1965. Partial purification of antibacterial activity of Lactobacillus acidophilus. Bacterial. Proc., p. 9.
- VEDAMUTHU, E.R., W.E. SANDINE e P.R. ELLIKER, 1964. Influence of strain composition of lactic starter on flavor and texture of Cheddar cheese. J. Dairy Sci., 47: 679.
- VERINGA, H.A., 1973. Biochemistry of yogurt. Mededelingen, Nederlands Instituut voon Zuivelonderzoek, N^o 7: 88-96. IN: HAASST, J. DE, P.M. LATEGAN e J.C. NOVELLO. S. Afr. J. Dairy Technol. 1979, 11(1): 11-15.

- VERINGA, H.A., T.E. GALESLOOT e H. DAVELAAR, 1968. Neth. Milk. Dairy J. 22: 114-120. IN: DRIESSEN, F.M., F. KINGMA e S. STADHOUDERS. Neth. Milk Dairy J., 36(2): 135-144.
- VIANI, R. e I. HORMAN, 1976. "Nestlé" Research News 1974/75, pag. 53. Ed. Boella, C. Nestlé Products Technical Assistance Co. Ltd. 1001 , Lousanne, Switzerland. IN: TAMIME, A.Y. e H.C. DEETH, 1980. J. Food Prot., 43(12): 937-977.
- WEINER, N. e P. DRASKOCZY, 1961. The effects of organic acids on the oxidative metabolism of intact and disrupted E. coli. J. Pharmacol. Exp. Ther., 132: 299.
- WOLFSCHOON-POMBO, A.F., G.G.M. GRANZINOLLI e R.M. FERNANDES, 1983. Sólidos totais do leite, acidez, pH e viscosidade do iogurte. Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes, 38(227): 19-24.
- YAZICIOGLU, A. e N. YILMAZ, 1966. Studies on the microflora of yogurt and its action. Milshwissenchaft, 21: 87. IN: FERREIRA, C.L.L.F., 1979. Valor terapêutico do iogurte e leite acidofilo. Rev. do Inst. Latic. Cândido Tostes, 34(202): 25-27.