

Área: Ciência de Alimentos

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE LEITES FERMENTADOS PROBIÓTICOS COMERCIALIZADOS NA REGIÃO OESTE DO PARANÁ

Angélica Regina Gabiatti, Daiane Corti, Eliane Colla, Deisy Alessandra Drunkler*

*Curso de Tecnologia em Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus
Medianeira*

*E-mail: deisydrunkler@utfpr.edu.br

RESUMO

Entende-se por produtos lácteos probióticos àqueles que apresentam microrganismos vivos, não patogênicos e que, quando consumidos diariamente numa certa concentração, causam efeitos benéficos à saúde. Porém, devem atender aos padrões de identidade e qualidade preconizados pela legislação vigente, em especial aos padrões microbiológicos. Dentre os produtos lácteos, os leites fermentados destacam-se no mercado como fonte de microrganismos probióticos. Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica de leites fermentados probióticos comercializados na região oeste do Paraná. Para tal, foram coletadas quatro marcas de iogurte probiótico sabor morango, totalizando 12 amostras. Todas as amostras atenderam ao padrão de identidade e qualidade preconizado pela legislação vigente quanto coliformes totais e fecais. Apesar da legislação não trazer limites para bolores e levedura, apenas uma amostra apresentou contagens superiores a 105 UFC/mL. Todas as amostras apresentaram contagem de bactérias lácticas dentro do estipulado, porém somente duas amostras tiveram quantidades de microrganismos probióticos viáveis de acordo com a Lista de Algações de Propriedades Funcionais e de Saúde.

Palavras-chave: legislação, contaminação, segurança alimentar.

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o mercado consumidor tem demonstrado grande interesse por alimentos que apresentam, além das características básicas nutricionais, componentes ou substâncias funcionais, ou seja, que ajustam ou modulam o sistema fisiológico do organismo humano, com o intuito de prevenir doenças e promover a saúde (PARK et al., 1997).

Alimentos probióticos são aqueles que carregam ou são produzidos por bactérias probióticas originadas do trato intestinal humano quando o produto se destina ao consumo humano ou trato de uma determinada espécie, quando se destina à alimentação animal (FERREIRA, 2003). Entretanto, a definição atualmente aceita internacionalmente é que eles são microrganismos vivos, administrados em quantidades adequadas, que conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO, 2001).

O emprego de probióticos em alimentos, em especial produtos lácteos, vem sendo objeto de estudo devido ao fato de que estes microrganismos têm sido descritos como participantes em processos que promovem melhorias na saúde, como o aumento da digestão da lactose; melhoria do sistema imunológico devido ao aumento da produção de macrófagos e elevação dos níveis de imunoglobulinas (IgG e IgA); supressão de câncer e redução do colesterol sanguíneo (DRUNKLER et al. 2005).

O consumo de leites fermentados por muito tempo, esteve baseado no iogurte tradicionalmente produzido com fermentos compostos de *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, o futuro aponta para o uso de probióticos, associados ou não às bactérias tradicionais, quer como agentes *biotecnológicos*, que melhoram as características do produto tradicional, como reduzir a pós-acidificação do iogurte, fato evidenciado pela ação de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* sp., quer como *agentes terapêuticos*, ou seja, microrganismos que promovam efeitos benéficos nos indivíduos que os ingerem (ANTUNES, 2001).

No mercado brasileiro encontram-se vários produtos com característica probiótica. Atualmente, a maior parte dos produtos lácteos probióticos são leites fermentados, porém existem ainda queijos com essa finalidade. Desta forma, os consumidores cada vez mais exigentes quanto a produtos que tragam benefícios à saúde, têm incluído os leites fermentados em suas dietas.

Diante do exposto acima, torna-se importante averiguar se os leites fermentados comercializados na região Oeste do Paraná correspondem às exigências legais estabelecidas pelos órgãos reguladores quanto a qualidade microbiológica.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 MATERIAL E MÉTODOS

2.1.1 AMOSTRAGEM

Foram avaliadas quatro diferentes marcas de leites fermentados declarados como probióticos, com selo de Inspeção Federal. As marcas foram denominadas de A, B, C e D. Três amostras de cada marca (que correspondem a três diferentes lotes de produção) foram coletadas no comércio da região Oeste do Paraná, totalizando 12 amostras. Os microrganismos que constituíam os iogurtes probióticos foram *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus Acidophilus* e *Bifidobacterium*.

As amostras foram coletadas diretamente nas gôndolas de supermercados, sendo transportados em caixas isotérmicas até o laboratório de Microbiologia de Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) – Campus Medianeira, onde permaneceram armazenados em geladeira a temperatura de 10 ± 1 °C até o momento das análises.

Todas as amostras foram conduzidas às avaliações descritas logo a seguir no 2/3 de sua validade, de acordo com a informação descrita no rótulo, apresentando validade de 45 dias.

2.1.2 AVALIAÇÃO DOS REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS

Para verificação do cumprimento das exigências quanto aos requisitos microbiológicos no que diz respeito às condições higiênico-sanitárias dos produtos, foram realizadas contagens de Coliformes/g a 30 °C (UFC/g), Coliformes a 45 °C (UFC/g) e Bolores e Leveduras (UFC/g) conforme os padrões microbiológicos estabelecidos pela RDC nº 12 de janeiro de 2001 da ANVISA (BRASIL, 2001).

2.1.2.1 Contagem de Coliformes totais e Termotolerantes

A contagem de Coliformes Totais e Termotolerantes foi realizada utilizando o método do Número Mais Provável (NMP) (BRASIL, 2003). Na Prova Presuntiva, as diluições 100,

10-1 e 10-2 foram inoculadas em triplicata em tubos contendo caldo lauril sulfato de sódio e tubos de Durham invertidos. Estes tubos foram incubados a 36°C por 48 horas. A identificação da presença de gás nos tubos de Durham indica resultado positivo e requer a realização do teste confirmatório em caldo verde brilhante bile (VB) 2% lactose para coliformes totais, sendo este a seguir incubado a 35 ± 1 °C/48 horas e caldo Escherichia coli (EC) para coliformes termotolerantes, estes incubados a $44,5 \pm 1$ °C/48 horas.

2.1.2.2 Contagem de Bolores e Leveduras

A contagem de bolores e leveduras foi feita de acordo com a Instrução Normativa (IN) nº 62 (BRASIL, 2003). Foram inoculados e espalhados com auxílio da alça de Drigalski, 0,1ml das diluições 100, 10-1 e 10-2 sobre a superfície do agar batata glicose 2%, acidificado a pH 3,5. As placas foram incubadas, sem inverter, a $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ por cinco a sete dias.

2.1.3 CONTAGEM DE MICRORGANISMOS TRADICIONAIS E PROBIÓTICOS

Para verificação da adequação quanto à definição do leite fermentado, ou seja, a presença de bactérias lácticas, foi realizada a contagem de bactérias lácticas totais (UFC/g).

As contagens de bactérias lácticas dos iogurtes foram realizadas no último dia de estocagem. A abertura dos fracos de iogurtes foi feita no interior da câmara de fluxo laminar para prevenir qualquer contaminação ambiente na amostra. Uma alíquota de 1 mL de amostra foi transferida para um tubo com rosca contendo 9 mL de solução de água peptonada estéril 0,1%. A partir desta diluição foram feitas diluições subseqüentes, necessárias à análise do produto. Após o tempo de incubação requerido para cada meio de cultura, realizou-se a contagem das placas que apresentaram entre 25 e 250 colônias.

2.1.3.1 Contagem de *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*

Para enumeração de *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* foi utilizado o meio ágar M17. A inoculação foi realizada por profundidade. Após a inoculação, as placas de Petri foram incubadas invertidas em aerobiose a 37°C por 48 horas (IDF, 1997).

2.1.3.2 Contagem de *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus*

Para a enumeração de *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* foi utilizado o meio MRS ágar glicose acidificado com ácido acético, em pH 5,2. A inoculação foi realizada por profundidade. Após a inoculação, as placas de Petri foram incubadas invertidas em jarras contendo gerador de anaerobiose Anaerobac (PROBAC) a 37°C por 72 horas (COLLINS; LYNE, 1989).

2.1.3.3 Contagem de *Lactobacillus acidophilus*

Para a enumeração de *Lactobacillus acidophilus* foi utilizado o meio Agar MRS. A técnica utilizada para a inoculação foi por profundidade. Após a inoculação, as placas de Petri foram incubadas invertidas em jarras contendo gerador de anaerobiose Anaerobac (PROBAC) a 37°C por 72 horas (COLLINS; LYNE, 1989).

2.1.3.4 Contagem de *Bifidobacterium* sp.

Para a enumeração de *Bifidobacterium* sp. foi utilizado o meio MRS modificado pela adição de 0,2% de cloreto de lítio e 0,3% de propionato de sódio (MRS-LP). A técnica utilizada para inoculação foi por profundidade. Após a inoculação, as placas de Petri foram incubadas invertidas em jarras contendo gerador de anaerobiose Anaerobac (PROBAC) a 37°C por 72 horas (VINDEROLA et al., 2000).

2.1.3.5 Confirmação bioquímica dos microrganismos tradicionais e probióticos

Foram realizados esfregaços em lâminas corados pelo método de Gram, a fim de identificar a morfologia característica de cada microrganismo avaliado. As lâminas foram observadas em microscópio ótico, a fim de verificar a presença de bacilos e cocos Gram-positivos (BRASIL, 2003),

2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.2.1 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA

As contagens de coliformes totais e termotolerantes de todas as amostras apresentaram resultados inferiores a 0,3 UFC/g, estando dentro dos padrões estipulados pela legislação

vigente (BRASIL, 2001). Tal resultado pode estar associado ao baixo pH do produto, já que estes microrganismos podem sofrer estresse e não serem detectados nas análises.

As contagens de bolores e leveduras estão demonstradas na Tabela 1.

Tabela 1 - Contagem média de Bolores e Leveduras (UFC/g) de doze amostras de quatro marcas de leites fermentados probióticos, comercializadas na região Oeste do Paraná.

| Amostra | Bolores e Leveduras (UFC/g) |
|---------|-----------------------------|
| A | $3,8 \times 10^2$ |
| B | $1,1 \times 10^5$ |
| C | $6,3 \times 10^2$ |
| D | $4,7 \times 10^2$ |

Apesar da Resolução nº 12 de 2 janeiro de 2001 (ANVISA), não estabelecer um limite de crescimento para bolores e leveduras para análises indicativas, a presença de fungos filamentosos (bolores) e leveduras viáveis em índice elevado nos alimentos pode fornecer várias informações, tais como, condições higiênicas deficientes em equipamentos; multiplicação no produto em decorrência de falhas no processamento e/ou estocagem; matéria-prima com contaminação excessiva (PELCZAR et al., 1981). Esses microrganismos podem tornar-se um perigo à saúde pública devido à produção de micotoxinas pelos bolores (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Por causa de seu baixo pH, os iogurtes favorecem o crescimento de leveduras e a deterioração destes produtos por estes microrganismos é geralmente conhecida pelo desenvolvimento de *flavour* não característico ao produto, perda de textura devido à produção de gás e à dilatação e liberação de ar final do recipiente. Refrigeração inadequada, após envase e durante a comercialização, provavelmente estimula o crescimento de leveduras, considerando que a temperatura e o tempo de armazenamento têm influência na qualidade do produto e que grande parte dos pontos de venda apresentam condições inadequadas de conservação (FLEET, 1992).

Para se evitar isso, é necessário maior rigor, desde a seleção de matérias-primas de boa qualidade, até o cumprimento das medidas higiênico-sanitárias, bem como na estocagem, sendo que, dessa forma, poderá ser oferecido ao consumidor um produto compatível com a legislação brasileira, quer no âmbito industrial, quer no comércio varejista.

2.2.2 CONTAGEM DE MICRORGANISMOS TRADICIONAIS E PROBIÓTICOS

Na Tabela 2 estão apresentados os valores médios (UFC/g) das contagens de bactérias lácticas tradicionais (*Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* e *Lactobacillus delbruecki ssp. Bulgaricus*) e bactérias lácticas probióticas (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium sp.*), das quatro marcas de leites fermentados probióticos avaliadas.

Tabela 2 - Contagem média do número de células viáveis de bactérias lácticas tradicionais *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* e *Lactobacillus delbruecki ssp. bulgaricus* e bactérias lácticas probióticas *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* (UFC/g) de doze amostras de quatro marcas de leites fermentados probióticos comercializadas na região Oeste do Paraná.

| Bactérias lácticas | Células viáveis (UFC/g) | | | |
|------------------------|-------------------------|-------------------|----------------------|----------------------|
| | Amostra A | Amostra B | Amostra C | Amostra D |
| <i>S. thermophilus</i> | $2,5 \times 10^9$ | $2,2 \times 10^9$ | $4,2 \times 10^{10}$ | $1,6 \times 10^{10}$ |
| <i>L. bulgaricus</i> | $2,6 \times 10^8$ | $2,6 \times 10^8$ | $1,3 \times 10^9$ | $1,4 \times 10^9$ |
| <i>L. acidophilus</i> | $1,1 \times 10^8$ | $9,6 \times 10^7$ | < 10 | < 10 |
| <i>Bifidobacterium</i> | $2,5 \times 10^8$ | $9,8 \times 10^7$ | < 10 | < 10 |

A manutenção do número de células viáveis das bactérias lácticas tradicionais (*S. thermophilus* e *L. bulgaricus*) (Tabela 2), atendem aos valores estabelecidos pela legislação brasileira em vigor, já que segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (BRASIL, 2007), a contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo 7 log UFC/mL no produto final, durante todo o prazo de validade e, no caso em que mencione(m) o uso de Bifidobactérias, a contagem deve atingir 6 log UFC/mL. Ressalta-se que a legislação não faz distinção dos microrganismos, portanto, na enumeração geral as amostras de iogurtes estavam de acordo com os padrões preconizados.

Estudos têm mostrado que as bactérias do iogurte (*S. thermophilus* e *L. bulgaricus*) sobrevivem bem no produto durante a vida de prateleira (DONKOR et al., 2006). O *L. bulgaricus* é o principal responsável pela pós-acidificação dos iogurtes, mas por outro lado, contribui consideravelmente para a produção de compostos aromáticos, especialmente o acetaldeído, característico do iogurte (GUYOT, 1992).

De acordo com Tamime e Robinson (1999), o valor de pH implica na atividade metabólica das bactérias, podendo favorecer um determinado grupo, em detrimento do outro. No caso do iogurte, bactérias do gênero *Lactobacilos* crescem e toleram valores de pH mais baixos do que as pertencentes ao gênero *Streptococos*.

Segundo SILVA (2007), uma excessiva pós-acidificação (acidificação indesejada ao produto) ocorre, principalmente, devido ao crescimento incontrolável de *L. bulgaricus* nas temperaturas de refrigeração e a baixos valores de pH. Portanto, as indústrias fabricantes de culturas lácticas fornecem culturas tradicionais de iogurte com uma menor concentração de *L. bulgaricus* e uma maior concentração de *S. thermophilus*. A redução na contagem de *L. bulgaricus* no produto final contribui para diminuir a pós-acidificação do iogurte durante a vida de prateleira. Isto é importante tanto para garantir ao produto final um sabor suave, quanto para evitar efeitos adversos do pH baixo sobre as bactérias probióticas (DAVE; SHAH, 1997).

Bactérias probióticas devem, após a ingestão, alcançar o intestino em níveis elevados para serem capazes de sobreviver, aderir as paredes intestinais, multiplicar-se e, talvez, exercer seus efeitos de promoção da saúde. Conseqüentemente, a viabilidade de espécies probióticas durante a armazenagem de leite fermentado é muito importante (AWAISHEH, HADDADIN & ROBINSON, 2005).

Em relação a contagem dos microrganismos probióticos (Tabela 2), somente as amostras A e B apresentaram contagem de *L. acidophilus* e *Bifidobacterium sp.* de acordo com a lista de alegações de propriedades funcionais e de saúde (BRASIL, 2010). Por sua vez, as amostras C e D não apresentaram contagem de bactérias lácticas probióticas, porém apresentaram elevada contagem de bactérias lácticas tradicionais. Tal resultado pode ser explicado em função de que os microrganismos utilizados como cultura *starter* na produção de iogurte podem produzir substâncias que interferem na viabilidade dos microrganismos probióticos. O peróxido de hidrogênio produzido por *L. bulgaricus* apresenta efeito antimicrobiano, afetando o crescimento de bactérias probióticas (DAVE; SHAH, 1997). Samona e Robinson (1994) citam ainda a secreção de bacteriocinas por *L. bulgaricus*, podendo comprometer a sobrevivência de bifidobactérias. A atividade metabólica de *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* durante a armazenagem resulta na produção de ácidos orgânicos que futuramente podem afetar a viabilidade das células probióticas (DONKOR et alii, 2006). Embora *L. acidophilus* tolere a acidez, um rápido decréscimo no seu número foi observado

sob condições ácidas. Bifidobactérias não são tão tolerantes ao ácido quanto *L. acidophilus*; o crescimento dos últimos organismos cessa a um pH menor que 4,0, enquanto o crescimento de *Bifidobacterium sp.* é retardado a pH abaixo de 5,0 (SHAH; LANKAPUTHRA, 1997).

2.2.3 CONFIRMAÇÃO BIOQUÍMICA DOS MICRORGANISMOS TRADICIONAIS E PROBIÓTICOS

A confirmação dos microrganismos probióticos foi realizada através de Coloração de Gram (BRASIL, 2003). As cepas encontradas nas colorações efetuadas para as amostras A, B, C e D, confirmaram a existência de bacilos Gram-positivos, caracterizando a presença de *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* e Bifidobactérias, e cocos Gram-positivos, caracterizando a presença de *S. thermophilus*.

Os microrganismos *L. bulgaricus* e Bifidobactérias apresentaram-se em formas de bastonetes curtos e o *L. acidophilus* apresentou-se em forma de bastonete mais alongado. Estas observações de morfologia são similares as indicadas na literatura. Jay (2006), indica que *Lactobacillus bulgaricus* são bastonetes Gram-positivos e Vandame et al. (1996), relataram que *Lactobacillus acidophilus* são bastonetes Gram-positivos, que podem ocorrer isolados, em pares ou em cadeias curtas, e que o tamanho típico é 0,6 – 0,9 mm de largura e 1,5 – 6,0 mm de comprimento. No caso das Bifidobactérias, estas são caracterizados por serem microrganismos Gram-positivos, desprovidos de flagelos, apresentando várias formas, incluindo bastonetes curtos, compridos e bifurcados em forma de Y (GOMES; MALCATA, 1999).

O *S. thermophilus* apresentou-se em forma de cocos, esféricos, arranjados em cadeias ou pares, o que também está de acordo com o indicado na literatura (SILVA et al., 2007).

3 CONCLUSÃO

Dentre as doze amostras analisadas, verificou-se que não houve crescimento de coliformes totais e termotolerantes, estando todas as marcas dentro dos padrões estipulados pela legislação vigente, porém a presença de bolores e leveduras nas amostras indica falhas

nas condições higiênicas mantidas durante o processamento e estocagem, podendo reduzir a vida útil dos produtos e causar risco a saúde do consumidor.

Em relação a contagem de bactérias probióticas, somente duas marcas analisadas apresentaram concentração de microrganismos viáveis, ativos e abundantes durante seu prazo de validade, podendo, portanto, serem denominadas de produtos lácteos probióticos.

REFERÊNCIAS

ANTUNES, L. A. F. Microrganismos probióticos e alimentos funcionais. Indústria de Laticínios, v. 6, n. 34, p. 30-34, 2001.

AWAISHEH, S. S.; HADDADIN, M. S. Y.; ROBINSON, R. K. Incorporation of selected nutraceuticals and probiotic bacteria into fermented milk. International Dairy Journal, v. 15, p. 1184-1190, 2005.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 10 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União, Brasília, 18 de setembro de 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007. Adota o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, anexo à presente Instrução Normativa. Diário Oficial da União, Brasília, 24 de outubro de 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. IX - Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas, 2008. Disponível em:
http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm. Acesso em 02 jan. 2010.

COLLINS, C. H.; LYNE, Patricia M.. Métodos microbiológicos. Zaragoza: Acribia, 1989. p.393.

DAVE, R. I.; SHAH, N. P. Effect of cysteine on the viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurt made with commercial starter cultures. International Dairy Journal, v. 7, n. 8, p. 537-545, 1997.

DONKOR, O. N.; HENRIKSSON, A.; VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. *Internacional Dairy Journal*, v. 16, p. 1181-1189, 2006.

DRUNKLER, D. A.; SENE, L.; OLIVEIRA, L. F. Probióticos, prebióticos e simbióticos: alimentos funcionais em ascensão. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora (MG)*, v. 60, n. 343, p.29 - 38, 2005.

FLEET, G.H; MIAN, M.A.A The occurrence and growth of yeasts in dairy products. *International Journal of Food Microbiology*, v. 4, p. 145-155, Oct., 1987.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, WORLD HEALTH ORGANIZATION. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Córdoba, 2001. 34p. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport_en.pdf>. Acesso em: 14 .jul. 2010.

FERREIRA, C. L. L. F. Grupo de bactérias lácticas – Caracterização e aplicação tecnológica de bactérias probióticas. In: *Prebióticos e Probióticos: Atualização e Prospecção*. Viçosa: Célia L. L. F. Ferreira, 2003. 206 p.

FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Atheneu, 1996. 182p.

GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. *Bifidobacterium spp.* and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends Food Sci. Tech.*, v.10, p.139-157, 1999.

GUYOT, A. Les yoghourts. *Le Lait et Nous*, n. 2, p. 6-12, 1992.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Yogurt: enumeration of characteristic microorganisms. IDF/ISO Standard, 1997. 5 p. INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Yogurt: enumeration of characteristic microorganisms. IDF/ISO Standard, 1997. 5 p.

JAY, James M. *Microbiologia de alimentos*. 6. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2005. p.78.

PARK, Y. K.; KOO, M. H.; CARVALHO, P. O. Recentes progressos dos alimentos funcionais. *Boletim do SBCTA, Campinas*, v. 31, n. 2, p. 200-206, jul./dez., 1997.

PELCZAR, M. J.; CHAN, E. C. S.; REID, R. *Microbiologia*. São Paulo: Makron, 1980. 2 v. p.458.

SAMONA, A.; ROBINSON, R. K. Effect of yogurt cultures on the survival of bifidobacteria in fermented milks. *Journal of Society of Dairy Technology*, v. 47, n. 2, p. 58-60, 1994.

SHAH, N. P.; LANKAPUTHRA, W. E. V. Improving viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium ssp.* in yogurt. *Internacional Dairy Journal*, v. 7, p. 349-356, 1997.

SILVA, S.V. da.; Desenvolvimento de iogurte probiótico com prebiótico. 2007. 107p.
Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS.

SILVA, N. da et al. Manual de Métodos de Análises Microbiológicas de Alimentos. 3 ed. São Paulo: Varela, 2007, 536p.

TAMIME, A.Y.; ROBINSON, R.K. Yoghurt: science and technology. 2.ed. Boca Raton: CRC, 1999. p. 56.

VINDEROLA, C. G. et al. Viability of probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and nonprobiotic microflora in Argentinian Frsco Cheese. *Journal of Dairy Science*, California (USA), v. 83, n. 09, p. 1905-1911, 2000.