

CAPÍTULO 20

Efeito da simbiose de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* durante a fermentação do leite para produção de iogurte

Tawana Silva Cardoso*¹, Alexandre Oliveira Rodrigues², Bruna Karoline Oliveira Ferreira², Ester Dias Xavier², Irene Menegali³, Maximiliano Soares Pinto³

Resumo

É sabido que iogurte possui grande aceitação sensorial por parte da população, além de apresentarem certo valor nutricional e possuírem uma elaboração relativamente simples. A fermentação, processo crucial para a obtenção desse produto, normalmente é realizada pelos microrganismos *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, podendo haver adição de outras culturas para diferenciação tecnológica do produto. A relação simbiótica entre essas bactérias é importante para o desenvolvimento do sabor e da textura característicos do iogurte, sendo que a proporção entre as culturas utilizadas influi diretamente sobre sua atividade metabólica no meio, o que conseqüentemente refletirá nas características do produto final. Dessa forma, este estudo objetivou avaliar o impacto de diferentes proporções de cultura contendo *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* no processo de acidificação do meio, visando identificar aquela proporção na qual se obteria um melhor desempenho durante a fermentação do leite para a produção de iogurte. Foram elaborados iogurtes utilizando-se três diferentes proporções de cultura iniciadora: 1:1 (TA), 1:2 (TB) e 1:3 (TC), contendo *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *S. thermophilus*, respectivamente. O acompanhamento do pH foi realizado a cada hora após a inoculação da cultura. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. A média dos resultados foram submetidas a análise de variância e posteriormente ao Teste de Tukey. O tratamento TC conseguiu reduzir o pH do leite de 6,6 para 4,6 entre 4 h e 5 h de fermentação, indicando uma acidificação adequada do meio, sendo esta a proporção de melhor desempenho dentre as avaliadas. Esse achado pode ajudar a otimizar processos de fermentação e melhorar a qualidade da produção de iogurte.

Palavras chave: Culturas iniciadoras. Protobactérias. Leite Fermentado.

¹Graduanda em Engenharia de Alimentos, Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais.

² Pós-Graduando em Produção Animal, Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais.

³ Professor adjunto do Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais.

*E-mail: tawana.cardoso03@gmail.com

Introdução

O iogurte é definido pela legislação brasileira como um produto cuja fermentação láctica é realizada através da ação de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* sobre o leite integral, desnatado ou padronizado, podendo ser adicionado de outras culturas lácticas visando o desenvolvimento de demais características desejáveis ao produto final (BRASIL, 2007).

Um dos produtos lácteos fermentados mais populares existentes no mercado, o iogurte vem atraindo ainda mais atenção últimos anos em decorrência da sua associação com probióticos, destacando-o como um alimento funcional. A bebida é rica em proteína, cálcio, riboflavina e vitaminas do complexo B, além de, em alguns casos, conter probióticos, o que deixa a bebida com um valor nutricional superior ao próprio leite (TBCA, 2023). A demanda por este produto tem crescido diante da procura de alimentos com benefícios nutricionais e que promovam a saúde (GARCÍA-BURGOS *et al.*, 2020).

Sendo um alimento de fácil digestão, algumas variedades de iogurte contribuem para a manutenção da microbiota intestinal, além disso, a ação das bactérias lácticas presentes no produto possibilita uma melhor digestão e facilitam a absorção de nutrientes. Produzem também, durante seu metabolismo, o ácido láctico, que confere acidez desejável, favorecendo a proteção natural do produto, inibindo o crescimento de patógenos (CIRIBELI; CASTRO, 2011).

A acidificação do leite por fermentação, além de ser um dos métodos mais antigos de preservação desse alimento, é também o fator responsável por proporcionar as características texturais e organolépticas tradicionais do iogurte. Existem muitos métodos diferentes de realizar esta fermentação e estes dão origem a uma variedade de produtos lácteos fermentados, incluindo kumiss, kefir, leite acidófilo e iogurte (BINTSIS; PAPADEMÁS, 2022).

O processo fermentativo normalmente ocorre com a adição de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis* ou *Lactobacillus plantarum*.

O *Streptococcus thermophilus* é um microrganismo gram-positivo, em forma de cocos, aeróbio facultativo, que fermenta a lactose fornecendo como principal produto o ácido láctico. É uma bactéria acidófila e termofílica cuja temperatura ótima de crescimento está em torno de 37 a 45 °C, podendo resistir a até 60 °C (RAULT; BOUIX; BÉAL, 2009). É uma das principais espécies utilizadas nas indústrias de laticínios, tendo uma grande relevância para a produção de iogurte, mussarela e alguns tipos de queijos. Seu potencial tecnológico está relacionado à capacidade de acidificação, efeitos desejáveis na textura e sabor de produtos lácteos por meio do metabolismo do açúcar presente no leite, proteólise e produção de metabólitos importantes – tais como acetaldeído, exopolissacarídeos e vitaminas (MARKAKIOU *et al.*, 2020).

O *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* é uma bactéria gram-positiva, em forma de bastonetes, anaeróbia facultativa, capaz de fermentar a lactose em uma temperatura ótima de 42 °C. É amplamente conhecido e utilizado pela indústria laticinista para a produção de iogurte contribuindo, dentre outros fatores, com a produção de compostos orgânicos voláteis, incluindo aldeídos, cetonas e hidrocarbonetos, resultando no bom sabor do iogurte (TEIXEIRA; ALMEIDA, 2014).

A simbiose entre essas duas espécies é essencial para o processo de fermentação do leite na produção de iogurte; esses microrganismos são comumente referidos como “culturas iniciadoras”, podendo ser adicionadas de culturas probióticas, desempenhando papéis complementares durante a fermentação (RAHMAN; ZAHANGIR ALAM; MUKTA, 2016). Ainda que cada bactéria tenha a capacidade de realizar a fermentação do leite de forma independente, produzindo outros tipos de leites fermentados, elas também são capazes de estabelecer uma protocooperação entre si por meio da troca de metabólitos (ZOURARI; ACCOLAS; DESMAZEAUD, 1992), resultando em um tempo reduzido de fermentação.

Essas espécies são selecionadas devido às suas características metabólicas e capacidade de fermentação, que contribuem para a obtenção das características desejadas no iogurte final. Yu, Yu e Jin (2021) e Pérez *et al.* (1991), propuseram que a relação simbiótica entre *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* desempenha um papel fundamental na produção de iogurte e queijo, devido à redução do tempo de fermentação. Na fermentação de alimentos, culturas mistas de diferentes espécies microbianas interagem entre si. Essas interações podem ser neutras, positivas ou negativas para as cepas envolvidas. As interações microbianas benéficas são chamadas de interações mutualísticas (BOUCHER; JAMES; KEELER, 1982).

A relação cooperativa das bactérias é caracterizada pelo fornecimento de ácido fórmico por *S. thermophilus*, aumentando o pH do meio e estimulando o *Lactobacillus bulgaricus* que, por sua vez, disponibiliza aminoácidos e peptídeos através da proteólise da caseína, contribuindo para uma segunda onda de crescimento para *S. thermophilus*. Através desses processos as bactérias favorecem uma à outra e, juntas, promovem a fermentação do leite em um menor tempo (HORIUCHI; SASAKI, 2012; YAMAUCHI *et al.*, 2019; YAMAMOTO *et al.*, 2021).

Geralmente a relação de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *S. thermophilus* no iogurte é de 1:1 ou 1:2; o efeito de diferentes proporções tem despertado o interesse para a indústria de produtos lácticos, apesar disso, há poucos estudos relacionados à temática (DAN *et al.*, 2023).

É relatado na literatura científica que culturas mistas de *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* apresentam uma boa taxa de sobrevivência após o processo fermentativo (AMANI; ESKANDARI; SHEKARFOROUSH, 2016; DAN *et al.*, 2023; HAMDY *et al.*, 2021; POPOVIĆ *et al.*, 2020; SANTOS, 2019), o que é algo desejável, visto que o consumo dessas bactérias lácticas traz efeitos positivos ao

organismo humano. Por outro lado, o *L. bulgaricus* possui capacidade de crescer em baixa temperatura, tal qual a de armazenamento (refrigeração), tornando o meio ainda mais ácido pelo metabolismo da lactose. O problema reside no fato de que a pós-acidificação no produto final pode afetar a manutenção das características probióticas – uma vez que a diminuição do pH interfere no desenvolvimento microbiano – e organolépticas (excesso de desenvolvimento do sabor azedo) do iogurte (DESHWAL *et al.*, 2021).

O *L. bulgaricus* é um dos principais microrganismos responsáveis pela pós-acidificação em iogurtes devido à sua capacidade de desenvolvimento em temperaturas de refrigeração e à sua tolerância ao pH ácido do meio (TEIXEIRA; ALMEIDA, 2014). Como a simbiose desse microrganismo com *S. thermophilus* é muito explorada para a produção de iogurtes, nota-se a necessidade de controle do crescimento de *L. bulgaricus* no produto, pois *S. thermophilus* é inibido pela diminuição do pH.

A proporção utilizada em uma cultura mista desses microrganismos auxilia na questão da pós-acidificação quando a concentração de *L. bulgaricus* é inferior, visto que ao final da acidificação a quantidade de células será menor, diminuindo seu poder de pós-acidificação (DAN *et al.*, 2017). Fato é, que a indústria fabricante de culturas lácticas costuma fornecer produtos com proporções maiores de *S. thermophilus* em detrimento de *L. bulgaricus*, a depender das características do produto final desejadas pelo cliente, que melhor se adaptam a sua produção (a exemplo: 1:2, 3:2), apresentando um tempo de fermentação variável, em torno de 4 a 6 h.

O tratamento térmico do leite constitui-se como um dos parâmetros de processamento de elevada relevância que exerce impacto sobre o crescimento associativo de *L. bulgaricus* e *S. thermophilus*. Além disso, é amplamente estabelecido que a aplicação de temperaturas elevadas no tratamento térmico do leite resulta em desnaturação considerável das proteínas do soro, ocasionando alterações significativas na firmeza e viscosidade do iogurte, bem como reduzindo a ocorrência de sinérese em comparação com o iogurte produzido a partir de leite não submetido a aquecimento (LUCEY; SINGH, 1997). No entanto, a principal razão para o tratamento térmico do leite é aprimorar as propriedades de textura dos géis ácidos (MULVIHILL; GRUFFERTY, 1995).

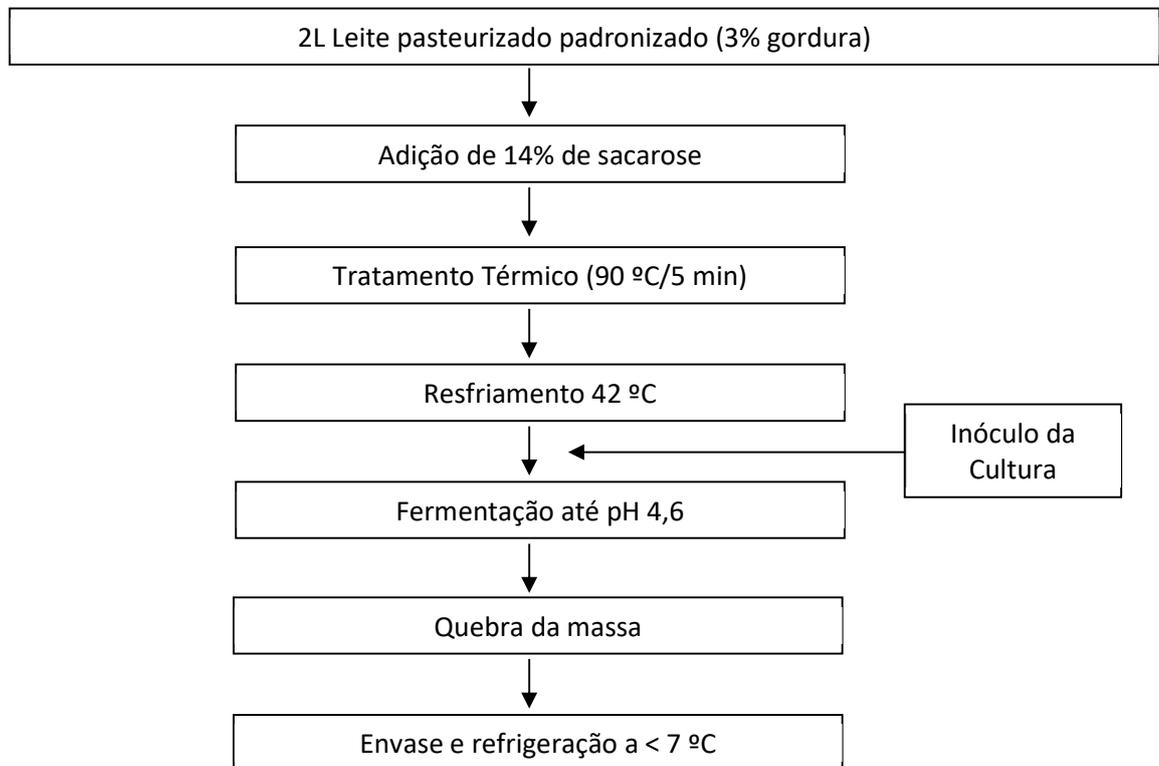
Este estudo teve como objetivo avaliar o tempo de fermentação do leite para fabricação de iogurte, utilizando culturas líquidas contendo proporções diferentes de *L. bulgaricus* e *S. thermophilus*.

Material e Métodos

O presente trabalho foi desenvolvido no laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal do Centro de Pesquisa em Ciências Agrárias (CPCA) do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (ICA/UFMG).

Foram elaborados iogurtes (Figura 1) utilizando-se três proporções diferentes da cultura líquida termofílica contendo *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, a saber: 1:1; 1:2 e; 1:3.

Figura 1 - Fluxograma de fabricação do iogurte



Fonte: Dos autores, 2023.

Foram utilizadas culturas ativas de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* cultivadas separadamente e mantidas no laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal do CPCA. Para os tratamentos foram inoculadas três proporções diferentes das duas bactérias. A análise de pH foi feita nos tempos 0; 1; 2; 3; 4; 5 e 6 h após a inoculação da cultura. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com três repetições. As médias dos resultados foram submetidas a análise de variância e posteriormente ao Teste de Tukey a 5% de probabilidade, pelo software R (RSTUDIO, 2022). Embora os dados sejam quantitativos, é válido o uso do teste de Tukey uma vez que o mesmo foi aplicado isoladamente em cada tempo de fermentação, não tendo assim importância a fermentação ao longo das 6 h.

Resultados e discussão

S. thermophilus e *L. bulgaricus* são bactérias gram-positivas, sem mobilidade e catalase negativa. A espécie *S. thermophilus* tem capacidade de metabolizar apenas a glicose presente na lactose,

enquanto a galactose é liberada no meio, possui baixa produção de ácido, consequentemente coágulo fraco (CHANDAN; O'RELL, 2006).

A produção de ácido láctico reduz o pH do leite, resultando na desestabilização das micelas de caseína ao atingir seu ponto isoelétrico – quando o pH chega a valores próximos de 5,1 –, sendo o processo finalizado quando o pH atinge 4,6 (VAN DE WATER, 2003). De acordo com os resultados da Tabela 1 e Figura 1, observa-se que durante a primeira hora de fermentação, TB e TC demonstraram maior capacidade de produção de ácido láctico quando comparado a TA. Ao final da terceira hora de fermentação, TC apresentou maior produção de ácido quando comparado aos demais tratamentos. Após seis horas de fermentação, os tratamentos TB e TC atingiram a faixa ideal de pH para iogurte (4,5 – 4,3), o que não aconteceu com TA.

Tabela 1 - Médias dos resultados de pH em função das diferentes proporções de fermento na elaboração de iogurte.

Proporção	n	Média das três repetições pH						
		0 h	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
TA (1:1)	3	6,63 ^a	6,21 ^a	6,01 ^a	5,71 ^a	5,33 ^a	4,98 ^a	4,68 ^a
TB (1:2)	3	6,63 ^a	6,09 ^b	5,81 ^b	5,40 ^b	5,01 ^b	4,64 ^b	4,47 ^b
TC (1:3)	3	6,63 ^a	6,05 ^b	5,64 ^b	5,26 ^c	4,84 ^c	4,51 ^c	4,34 ^c

Fonte: Dos autores, 2023.

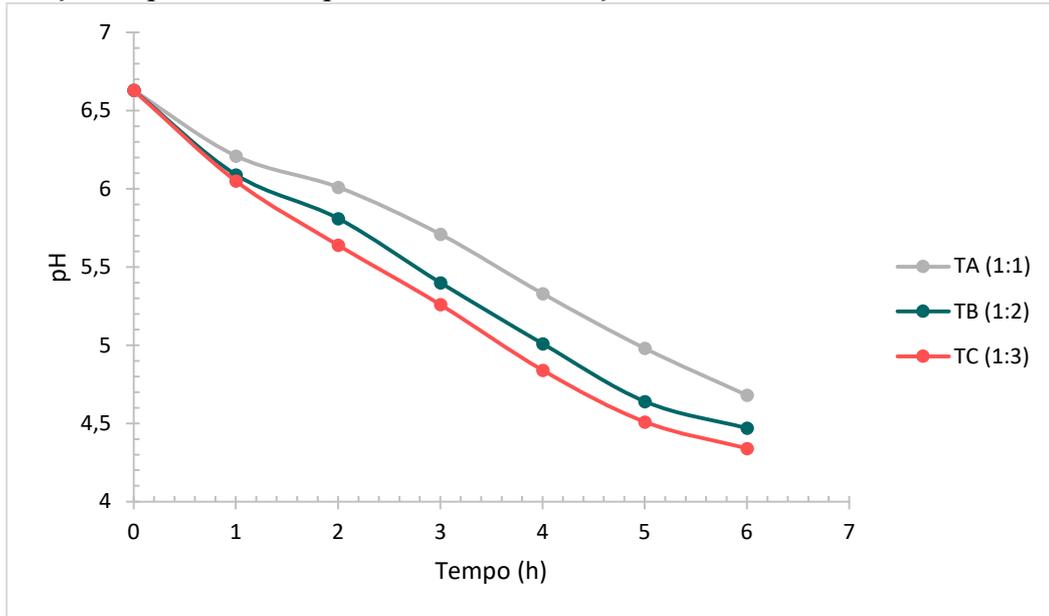
Legenda: Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5%.

TA: (1:1) *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*: *Streptococcus thermophilus*; TB: (1:2) *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*: *Streptococcus thermophilus*; TC (1:3) *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*: *Streptococcus thermophilus*.

Pode-se observar também que o decréscimo do pH durante a fermentação ocorreu de forma mais intensa durante a primeira hora de fermentação para todos os tratamentos, o que difere de estudo conduzido por Van de Water (2003), em que a maior produção de ácido ocorreu a partir de quatro horas após o início da fermentação.

É importante ressaltar que durante o processo de fermentação, assim como há produção de ácido láctico, há também a produção de compostos voláteis aromáticos pelas culturas lácticas, que são imprescindíveis para a caracterização do iogurte e de outros derivados do leite. Se o acompanhamento do nível de acidez é um indicativo da velocidade do metabolismo da lactose presente no meio para a produção desses compostos, então uma acidificação lenta implica também em uma baixa produção de substâncias de interesse tecnológico referentes às características do produto final – tais como textura, sabor e aroma –, fato indesejável para o processo (BINTSIS, 2018; HATTI-KAUL *et al.*, 2018; NÁJERA-DOMÍNGUEZ *et al.*, 2014; RUIZ *et al.*, 2023).

Figura 1 - Variação do pH durante o processo de fermentação



Fonte: Dos autores, 2023.

Pode-se apontar a acidificação como o principal objetivo da adição de culturas *starters* (assim chamadas por iniciarem a fermentação após tratamento térmico) ao leite, pois a diminuição do pH inibe a atividade de microrganismos patogênicos, aumentando a viabilidade do produto, entre outros benefícios (BARTH, 2014). Logo, o baixo desenvolvimento de acidez é um problema que pode inviabilizar a produção de iogurte.

O tratamento que apresentou maior produção de ácido durante o processo de fermentação foi o TC (1:3), composto por uma proporção de uma parte de *L. bulgaricus* para três partes de *S. thermophilus*. Em geral, o tempo de decaimento do pH iogurte foi inversamente proporcional à concentração de *S. thermophilus* empregada, sendo o menor tempo aquele apresentado por TC (1:3) e o maior tempo o apresentado por TA (1:1). Durante todo o tempo de fermentação os três tratamentos conseguiram produzir ácido suficiente para reduzir o pH de forma a coagular o leite adequadamente.

Ressalta-se que a proporção 1:3 já é utilizada atualmente pela indústria de alimentos no processo de fabricação de iogurte, se apresentando viável comercialmente. O presente estudo vem a corroborar esse fato.

A junção de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* resulta em uma taxa de acidificação rápida. Essa é uma importante característica para a indústria ao escolher uma cultura iniciadora, pois a velocidade de fermentação é determinante para o custo de produção e desenvolvimento do produto, quanto maior a velocidade de redução do pH menor será o tempo de fermentação (TAMIME, 2006; LIU *et al.*, 2016).

A simbiose entre *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* mostrou-se crucial para a fermentação eficiente do leite na produção de iogurte. A proporção de 1:3 de *L. bulgaricus* para *S. thermophilus* (TC) resultou em uma redução satisfatória do pH em menor tempo do que os outros dois tratamentos, indicando um

bom desempenho dessa proporção para a acidificação do leite. Esse resultado é de grande relevância, pois o pH adequado é fundamental para o desenvolvimento das características sensoriais desejadas no iogurte (RAULT; BOUIX; BÉAL, 2009).

O tempo de fermentação dessas espécies microbianas é desfavorecido quando sozinhas. Yu, Yu e Jin (2021) constataram que *S. thermophilus* necessita de 12 h para atingir um pH ideal ($\approx 4,5$) para elaboração de iogurte, enquanto *L. bulgaricus* precisaria de pelo menos 24 h para realizar o processo nas mesmas condições.

Dan *et al.* (2023) analisaram diferentes proporções de *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* para a elaboração de iogurte, sendo elas: 1:1 (A1), 1:10 (A2), 1:100 (A3), 1:1000 (A4) e 1:2000 (A5). Avaliando o tempo de fermentação dos tratamentos testados, A1 demonstrou um tempo igual a 6,5 h – resultado semelhante ao tratamento TA (1:1) realizado no presente estudo, sendo este o menor tempo de fermentação obtido em função das diferentes proporções de microrganismos, mas ainda semelhante ao tratamento controle (cultura mista obtida comercialmente). A tendência dos tratamentos foi de aumento progressivo do tempo de fermentação, sendo que o tratamento A4 obteve o maior tempo, 8 h. O tratamento A5 apontou uma diminuição do tempo com relação a A4, o que pode indicar uma correlação não linear entre a proporção de bactérias e o tempo de fermentação do produto. Assim, a faixa de proporção 1:1 (A1) a 1:10 (A2) apresentou os melhores tempos de acidificação, o que difere do presente estudo, em relação à proporção 1:1, uma vez que TA (1:1) não atingiu a faixa de pH adequada.

Yang *et al.* (2022) realizaram um estudo onde foi utilizada a proporção de *L. bulgaricus*/*S. thermophilus* de 1:1000 e obtiveram um tempo de fermentação (7,5 h) condizente com Dan *et al.* (2023). Eles também avaliaram a pós-acidificação nessa proporção, encontrando uma baixa capacidade de redução do pH do produto após 21 dias de armazenamento. Em outro estudo, Dan *et al.* (2017), ao estudar a influência da proporção microbiana na produção de compostos de importância tecnológica, chegou à conclusão de que o tratamento 1:1000 se destacou com relação à produção de compostos aromáticos importantes para o perfil organoléptico do iogurte. Embora seja reportado na literatura que essa proporção apresenta um maior tempo de fermentação em comparação com outros tratamentos (como por exemplo 1:1, 1:10 e 1:100), para a escolha de uma combinação ideal é importante levar em consideração o impacto dessa nas características finais do produto, para a preservação/melhoramento de seu perfil sensorial, visto que este é um importante fator para a preferência do público consumidor pelo produto.

Uma cultura mista adequadamente balanceada é a chave para assegurar a qualidade tecnológica do produto final, uma vez que a proporção das bactérias lácticas influencia não só no tempo de

fermentação, mas também nos perfis de ácidos, compostos aromáticos e polissacarídeos que auxiliam nas características físico-químicas do produto (DAN *et al.*, 2017).

Os resultados desse estudo fornecem *insights* valiosos para otimizar o processo de fermentação do leite na produção de iogurte, levando em consideração a simbiose entre *L. bulgaricus* e *S. thermophilus*. Trabalhos futuros podem explorar outras variáveis, como tempo de fermentação e temperatura, e também a relação das diferentes proporções das bactérias nas características sensoriais do iogurte, a fim de aprimorar ainda mais o processo e a qualidade do iogurte produzido.

Conclusão

No presente estudo foi observado que o tratamento que obteve melhor resultado no tempo de fermentação foi o TC (1:3) composto por uma proporção de uma parte de *Lactobacillus bulgaricus* para três partes de *Streptococcus thermophilus*. Mais estudos com enfoque na temática podem auxiliar na otimização do processo de elaboração de iogurtes, reduzindo custos e melhorando as características organolépticas do alimento, uma vez que alterações na cultura *starter* influenciam na concentração dos compostos de identidade do produto final.

Referências

- AMANI, E.; ESKANDARI, M. H.; SHEKARFOROUSH, S. The effect of proteolytic activity of starter cultures on technologically important properties of yogurt. **Food Science & Nutrition**, v. 5, n. 3, p. 525–537, 2016.
- BARTH, A. R. **Seleção de uma cultura microbiana comercial para a indústria de laticínios com baixa pós-acidificação e aumento da viscosidade em leites fermentados**. 2014. 65f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) – Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, 2014.
- BINTSIS, T. Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. **AIMS Microbiology**, v. 4, n. 4, p. 665-684, 2018.
- BINTSIS, T.; PAPADEMAS, P. The evolution of fermented milks, from artisanal to industrial products: A critical review. **Fermentation**, v. 8, n. 12, p. 679, 2022.
- BOUCHER, D. H.; JAMES, S.; KEELER, K. H. The ecology of mutualism. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 13, n. 1, p. 315-347, 1982.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 46 de 23 de outubro de 2007. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 24 out. 2007. Disponível em: <https://www.abia.org.br/vsn/temp/z201886INMAPA462007.pdf> Acesso em: 24 mai. 2023.
- CHANDAN, R. C.; O'RELL, K. R. Cap. 11 – Principles of yogurt processing. *In*: CHANDAN, R. C. **Manufacturing yogurt and fermented milks**. Oxford: John Wiley & Sons, 2006. p. 211-236.

CIRIBELI, J. P.; CASTRO, L. S. Descrição da cadeia produtiva do iogurte: Um estudo de casos realizado no laticínio do Centro Federal de Educação Tecnológica de Rio Pomba. **Revista Gestão Empresarial**, v. 1, n. 1, p. 75-87, 2011.

DAN, T. *et al.* Influence of different ratios of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* on fermentation characteristics of yogurt. **Molecules**, v. 28, n. 5, p. 2123, 2023.

DAN, T. *et al.* Profiles of volatile flavor compounds in milk fermented with different proportional combinations of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. **Molecules**, v. 22, n. 10, p. 1633, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules22101633>.

DESHWAL, G. K. *et al.* Review on factors affecting and control of post-acidification in yoghurt and related products. **Trends in Food Science and Technology**, v. 109, p. 499–512, 2021.

GARCÍA-BURGOS, M. *et al.* New perspectives in fermented dairy products and their health relevance. **Journal of Functional Foods**, v. 72, p. 104059, 2020.

HAMDY, S. M. *et al.* Physicochemical, viability, microstructure, and sensory properties of whole and skimmed buffalo set-yogurts containing different levels of polydextrose during refrigerated storage. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 7, 2021.

HATTI-KAUL, R. *et al.* Lactic acid bacteria: from starter cultures to producers of chemicals. **FEMS Microbiology Letters**, v. 365, n. 20, 2018.

HORIUCHI, H.; SASAKI, Y. Effect of oxygen on symbiosis between *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 6, p. 2904-2909, 2012.

LIU, W. *et al.* Relationships between functional genes in *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* isolates and phenotypic characteristics associated with fermentation time and flavor production in yogurt elucidated using multilocus sequence typing. **Journal of Dairy Science**, v. 99, p. 89-103, 2016.

LUCEY, J. A.; SINGH, H. Formation and physical properties of acid milk gels: A review. **Food Research International**, v. 30, n. 7, p. 529-542, 1997.

MARKAKIOU, S. *et al.* Harnessing the metabolic potential of *Streptococcus thermophilus* for new biotechnological applications. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 61, p. 142-152, 2020.

MULVIHILL, D. M.; GRUFFERTY, M. B. **Effect of thermal processing on the coagulability of milk by acid**, 2. Ed. Heat-induced changes in milk. p. 188–205, 1995.

NÁJERA-DOMÍNGUEZ, C. *et al.* Comparison of volatile compounds produced by wild *Lactococcus lactis* in miniature Chihuahua-type cheeses. **Dairy Science and Technology**, v. 94, n. 5, p. 499-516, 2014.

PÉREZ, P. F. *et al.* Formate Production by *Streptococcus thermophilus* Cultures. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 9, p. 2850-2854, 1991.

POPOVIĆ, N. *et al.* Yogurt produced by novel natural starter cultures improves gut epithelial barrier *in vitro*. **Microorganisms**, v. 8, n. 10, p. 1586, 2020.

RAHMAN, R.; ZAHANGIR ALAM, M.; MUKTA, S. Studies on yogurt production using *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* isolated from market yogurt. **Journal of Sylhet Agricultural University**, v. 7, n. 3, p. 307-313, 2016.

RAULT, A.; BOUIX, M.; BÉAL C. Fermentation pH influences the physiological-state dynamics of *Lactobacillus bulgaricus* CFL1 during pH-controlled culture. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 13, p. 4374-4381, 2009.

RSTUDIO: **A language and environment for statistical computing**. Version 4.3.1. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2022. Disponível em: www.R-project.org/. Acesso em: 01 jul. 2023.

RUIZ, M. J. *et al.* Relationship between volatile organic compounds and microorganisms isolated from raw sheep milk cheeses determined by sanger sequencing and GC-IMS. **Foods**, v. 12, n. 2, p. 372, 2023.

SANTOS, E. C. C. **Avaliação da viabilidade de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* no iogurte**. 2019. 22f. Dissertação (Trabalho de Conclusão de Curso – Bacharel em Medicina Veterinária) – Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos, Gama, 2019.

TAMIME, A. **Fermented Milks**, 1. ed. Reino Unido: John Wiley & Sons, 2006, 288p.

TBCA. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. Universidade de São Paulo (USP). Food Research Center (FoRC). Versão 7.2. São Paulo, 2023. Disponível em: www.fcf.usp.br/tbca. Acesso em: 10 jun. 2023.

TEIXEIRA, P.; ALMEIDA, A. B. *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus*. **Encyclopedia of Food Microbiology**, v. 2, p. 425-431, 2014.

VAN DE WATER, J. Cap. 5 – Yogurt and immunity: The health benefits of fermented milk products that contain lactic acid bacteria. *In*: FARNWORTH, E. R. **Handbook of fermented functional foods**. Boca Raton: CRC Press, 2003, p.113-44.

YAMAMOTO, E. *et al.* Effect of fumaric acid on the growth of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* during yogurt fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 9, p. 9617-9626, 2021.

YAMAUCHI, R. *et al.* The critical role of urease in yogurt fermentation with various combinations of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 2, p. 1033-1043, 2019.

YANG, S. *et al.* Analysis of cofermentation characteristics of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* based on microrheology. **Food Bioengineering**, v. 1, p. 233-240, 2022.

YU, Y.; YU, W.; JIN, Y. Peptidomic analysis of milk fermented by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. **Food Hydrocolloids for Health**, v. 1, p. 100033, 2021.

ZOURARI, A.; ACCOLAS, J. P.; DESMAZEAUD, M. J. Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria: A review. **Le Lait**, v. 72, n. 1, p. 1-34, 1992.