

Valoración de diferentes indicadores de la fermentación de bebida de soja y de leche de vaca utilizando cultivos probióticos

Estimate of different fermentation indicators on milk and soy milk using probiotics yields

Autores | Authors

✉ **María Angélica Benavides MARTÍN**

Universidad Nacional de Colombia
Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA)
Edificio 300C
Carrera 30 # 45-03
Bogotá D.C.
Colombia
e-mail: mabenavidesma@unal.edu.co

Martha Cecilia Quicazán de CUENCA

Universidad Nacional de Colombia
Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA)
e-mail: mcquicazand@unal.edu.co

Resumen

Con el propósito de aprovechar los beneficios de la soja y de los cultivos lácticos probióticos en el desarrollo de bebidas funcionales, se valoraron diferentes indicadores para la fermentación de bebida de soja estandarizada (6% de sólidos totales y 4 °Bx), tomando como referencia el comportamiento de la leche de vaca bajo condiciones similares de fermentación. Se emplearon tres cultivos de diferente proporción de la cepa *Bifidobacterium lactis* (uno simple y dos cultivos mixtos con los microorganismos *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium lactis*). La fermentación se realizó a 42 °C y se efectuó el seguimiento durante 8 h a algunas propiedades de las bebidas empleadas como indicadores de proceso (contenido de ácido láctico, acidez titulable, pH y comportamiento reológico). Se obtuvo una diferencia significativa a largo del proceso fermentativo en cuanto al contenido de ácido láctico y a la acidez total expresada como porcentaje de ácido láctico de acuerdo con el sustrato disponible y el cultivo empleado: 0,85% en leche y 0,35% en bebida de soja con cultivos mixtos y 0,17% en leche y 0,05% en bebida de soja con cultivo simple. Los valores obtenidos para pH no muestran una diferencia significativa utilizando sustratos diferentes para el cultivo mixto (4,3 para leche y 4,5 para bebida de soja) mientras que para el cultivo simple los valores son significativamente diferentes (5,7 para leche y 5,0 para bebida de soja). El comportamiento reológico mostró una diferencia significativa al fermentar leche con cultivos mixtos presentando una tendencia pseudoplástica, mientras que para las demás bebidas fermentadas (bebida de soja con los tres cultivos y leche con el cultivo simple) el comportamiento es newtoniano, lo cual se ve reflejado en la formación de gel en cada bebida y en el desarrollo de sinéresis (se produce un gel menos firme a pesar de tener resultados similares en cuanto a acidez total y pH). De acuerdo con los resultados obtenidos es evidente que la composición del cultivo y el medio de cultivo influyen significativamente en la obtención de bebidas fermentadas con propiedades funcionales. Los microorganismos presentan diferentes rutas metabólicas de acuerdo con el sustrato disponible, lo que afecta significativamente las propiedades de las bebidas. Adicionalmente la influencia de la composición de los cultivos empleados sobre la variación de las propiedades de las bebidas, demuestra su importancia en la formación del gel de la bebida, en la dinámica de fermentación y en la calidad del producto.

Palabras-clave: *Bebida de soja; Leche de vaca; Probióticos; Fermentación; Células libres; Seguimiento de proceso.*

■ Summary

In order to take advantage of the benefits of soy and probiotic bacteria in the development of functional beverages, were valued different fermentation indicators on standardized soy milk (6% total solids and 4 °Bx), based on fermentation behavior cow's milk under similar conditions. Three cultures were used in different proportions of *Bifidobacterium lactis* (single and in combination with *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis*). The fermentation was realized at 42 °C during 8 h and some properties of the drinks were used as process indicators for monitoring (lactic acid content, acidity, pH and rheological behavior). A significant difference in the fermentative process on content of lactic acid and total acidity expressed as a percentage of lactic acid was found, depending with the substrate available and the culture used: 0.85% in milk and 0.35% in soy milk with mixed cultures and 0.17 and 0.05% in soy milk with single cultures. The pH values obtained show no significant difference by using different substrates for the mixed culture (4.3 in milk and 4.5 in soy milk) while for the simple culture values are significantly different (5.7 in milk and 5.0 in soy milk). The rheological behavior showed a significant difference to ferment milk with mixed cultures presenting a pseudoplastic trend, while for other fermented beverages (soy milk using the three cultures and milk with single culture) is Newtonian behavior, which is reflected on the gel formation in each drink and the syneresis development (a gel less strong in spite of having similar results in terms of total acidity and pH). According to the results it is clear that the composition of the culture and the substrate have significantly influence in the production of fermented beverages with functional properties. The microorganisms present different metabolic pathways according to the substrate available, which significantly affects the drinks properties. Additionally, the composition influence of cultures employees about the change in the drinks properties, demonstrates its importance on the gel formation, on the fermentation dynamics and product quality.

Key words: *Soy milk; Cow's milk; Probiotics; Fermentation; Free cells; Process monitoring.*

Valoración de diferentes indicadores de la fermentación de bebida de soya y de leche de vaca utilizando cultivos probióticos

MARTÍN, M. A. B. y CUENCA, M. C. Q.

1 Introducción

Se ha estudiado en múltiples ocasiones los beneficios que los probióticos y los prebióticos tienen sobre la salud de los consumidores frecuentes (mayor función inmunológica, mejoramiento de la integridad de colon, disminución de la incidencia y duración de las infecciones intestinales, respuestas alérgicas reguladas y mejora de la digestión, entre otros) demostrando que pueden conseguirse siempre que se cuente con una buena cepa, se seleccionen los productos y se sigan las directrices y dosificación adecuadas. (DOUGLAS y SANDERS, 2008)

Las investigaciones en torno al desarrollo de nuevos productos alimenticios con características funcionales han cobrado importancia en nuestro país, especialmente debido al panorama nutricional y de salud evaluado en los últimos años. Debido a sus propiedades prebióticas los oligosacáridos presentes en el grano de soya han tenido atención como ingredientes funcionales. Por esta razón, la fermentación de bebida de soya empleando cepas con actividad probiótica ha sido ampliamente investigada.

La base de soya suplementada con oligosacáridos funciona adecuadamente como mejorador del crecimiento para *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis lactis* y *Lactobacillus casei* (SU et al., 2007) Los oligosacáridos no digeribles son carbohidratos de bajo peso molecular, de carácter intermedio entre azúcares simples y polisacáridos, poseen un conjunto importante de propiedades físico-químicas y fisiológicas que muestran un comportamiento como fibras dietéticas y prebióticos. El enriquecimiento de la dieta con estos oligosacáridos brinda oportunidad para la mejora de la microflora intestinal incluyendo poblaciones bacterianas, bioquímicos y efectos fisiológicos. Por lo tanto, sus aplicaciones industriales han aumentado rápidamente en los últimos años, tanto en formulaciones prebiótico y simbiótico como en los productos. (MUSSATTO y MANCELHA, 2007)

Al evaluar la fermentación de bebida de soya empleando bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus thermophilus*) solas y en combinación con bifidobacterias (*Bifidobacterium infantis* y *Bifidobacterium longum*) mediante el seguimiento en el contenido de algunos componentes (azúcares, ácidos orgánicos, pH y acidez) se obtuvieron los siguientes resultados:

- Las bacterias ácido lácticas son capaces de metabolizar la rafinosa y la estaquiosa de la bebida de soya, (SCALABRINI et al., 1998; WANG et al., 2003) aunque el *Lactobacillus acidophilus* mostró mayor eficiencia en el empleo de éstos sustratos que el *Streptococcus thermophilus* (se observó una disminución en el pH y en el contenido de rafinosa, estaquiosa

y sacarosa con un aumento simultáneo de fructosa, glucosa y galactosa) (WANG et al., 2003);

- La introducción de bifidobacterias en conjunto con las bacterias ácido lácticas empleadas en la fermentación de bebida de soya afectó significativamente el contenido de azúcar y ácido de la bebida: se observó una mayor reducción en el contenido de rafinosa y estaquiosa y un mayor contenido de sacarosa, fructosa, glucosa, galactosa y ácido acético (WANG et al., 2003); y
- La actividad antioxidante en bebida de soya aumenta al realizar la fermentación con las cepas combinadas que con las cepas simples y al prolongar el tiempo de fermentación (WANG et al., 2006).

También se ha evaluado el comportamiento de bifidobacterias (*Bifidobacterium Infantis* y *Bifidobacterium longum*) y bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*) durante la fermentación y el almacenamiento de leche de soya. Se observó que la bebida soporta el crecimiento simultáneo de bifidobacterias y de bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus acidophilus* o *Streptococcus thermophilus*), sin embargo, las bifidobacterias mostraron un efecto perjudicial sobre el crecimiento de *Lactobacillus bulgaricus* en leche de soya. Los valores de pH (6,13-4,19) y acidez titulable (0,09-0,25%) se observaron en leche de soya después de 48 h de fermentación con diversas combinaciones de bifidobacterias y bacterias ácido-lácticas (WANG et al., 2002).

Otros estudios indican que evaluando la actividad metabólica de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* y *longum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* en bebida de soya el crecimiento de las bacterias es adecuado a pesar de la baja producción de ácidos orgánicos (DONKOR et al., 2005; 2006; 2007). Al evaluar la bebida de soya como un sustrato para la fermentación con *Bifidobacterium breve* se encontró que puede constituir un nuevo tipo de alimentos probióticos, ya que fue capaz de crecer sin aditivos hasta tener un contenido de 109 UFC.mL⁻¹, durante el almacenamiento a 10 °C durante 20 días no hubo cambios y en pruebas con humanos se logró el aumento del número total de bifidobacterias en heces (SHIMAKAWA et al., 2003).

Se ha relacionado la actividad metabólica y la viabilidad de algunos microorganismos (*Bifidobacterium lactis* y *Lactobacillus acidophilus*) en bebidas lácteas fermentadas y refrigeradas (4 °C por 21 días), con el pH, la producción de ácidos láctico y acético y la utilización de carbohidratos solubles, con el fin de estudiar la influencia

Valoración de diferentes indicadores de la fermentación de bebida de soja y de leche de vaca utilizando cultivos probióticos

MARTÍN, M. A. B. y CUENCA, M. C. Q.

de la adición de rafinosa en la supervivencia de las cepas probióticas. Se encontró que la adición de rafinosa tiene efectos beneficiosos sobre la supervivencia de cultivos probióticos en bebidas lácteas fermentadas durante el almacenamiento en refrigeración (mayor pH, menor producción de ácidos láctico y acético en las bebidas adicionadas con rafinosa e igual empleo de carbohidratos solubles) por lo que se concluye la acción sinérgica en la promoción de la salud. De la caracterización de seis cepas de bifidobacterias en la producción de leche fermentada se concluyó que para bifidobacterias con niveles más altos de actividad de α -galactosidasa, el crecimiento y la tasa de acidificación mejora con la adición de rafinosa como prebiótico (MARTÍNEZ-VILLALUENGA y GÓMEZ, 2006; 2007).

Al comparar la fermentación láctica (empleando *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*) de leche y bebida de soja se observó un mayor descenso en el pH en la bebida de soja durante la fermentación, sin embargo los valores de pH final fueron similares. Al adicionar cepas probióticas (*Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus rhamnosus* o *Bifidobacterium*) no se observó cambio en el crecimiento de las cepas iniciales. Mediante cromatografía líquida de alta resolución se comprobó que las bacterias probióticas y las bifidobacterias emplearon diferentes azúcares para soportar su crecimiento dependiendo del sustrato (FARNWORTH et al., 2007).

El principal objetivo de este estudio es la evaluación del proceso fermentativo de bebida de soja empleando microorganismos probióticos mediante la valoración de diferentes indicadores. El empleo de cultivos simples y mixtos permite establecer el comportamiento de la cepa frente a diferentes sustratos y por consiguiente se pueden determinar las condiciones de proceso adecuadas para la obtención de un alimento funcional de calidad.

2 Material y métodos

La bebida de soja fue obtenida a partir del grano seco mediante proceso a escala piloto validado en el ICTA de acuerdo con el diagrama que se muestra en la Figura 1.

Se emplearon tres cultivos comerciales de diferente proporción de la cepa *Bifidobacterium lactis*: uno simple "B" y dos cultivos mixtos con los microorganismos *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium lactis* "205" y "207". Es importante resaltar que el cultivo 205 proporciona una población de *Bifidobacterium* al final del proceso fermentativo en relación con el cultivo 207. Se dosificaron los cultivos de acuerdo con la recomendación del fabricante. La fermentación se realizó manteniendo la temperatura en 42 °C con ayuda de un baño termostático, en recipientes

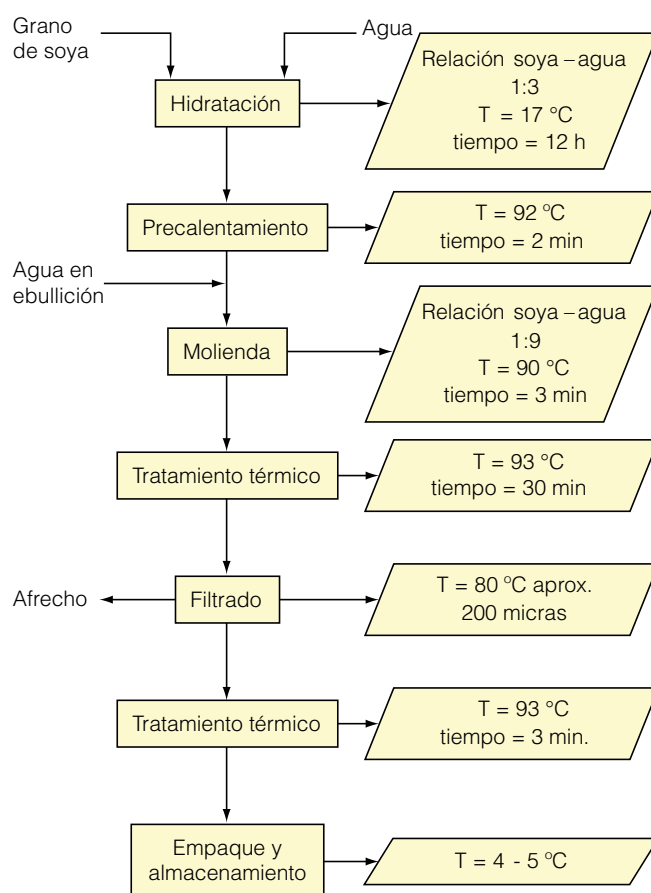


Figura 1. Proceso para la producción de la bebida de soja (BECERRA e LEGUIA, 2000).

individuales de acero inoxidable. El seguimiento de la fermentación se realizó durante 8 h a algunas propiedades de las bebidas empleadas como indicadores de proceso (contenido de ácido láctico, acidez titulable, pH y comportamiento reológico).

La valoración de las propiedades de las bebidas durante el proceso fermentativo se realizó aplicando los siguientes métodos analíticos:

- Acidez total, expresada como % de ácido láctico: valoración potenciométrica con potenciómetro Orión 420, por el Método 950.15 AOAC, 1998;
- pH: valoración con un Potenciómetro Orión 420, de acuerdo con el Método 981.12 AOAC, 1998;
- Grados Brix: método Refractométrico según el Método 983.17 AOAC, 1998;
- Evaluación del comportamiento reológico: se utilizó un viscosímetro Haake Rotovisco RV 20, con sistema NV con control de temperatura a $4 \pm 0,1$ °C, utilizando 10 mL de muestra la cual era sometida a una velocidad de deformación entre 27 y 2700 s^{-1} , inicialmente incrementando

Valoración de diferentes indicadores de la fermentación de bebida de soja y de leche de vaca utilizando cultivos probióticos

MARTÍN, M. A. B. y CUENCA, M. C. Q.

esta velocidad y posteriormente disminuyéndola (CUENCA, 2005);

- El contenido de ácido láctico fue determinado a través de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), con una columna Metacarb 87 H (300 por 7,8 mm) con solución de H_2SO_4 5 mM como fase móvil, flujo de $0,8 mL \cdot min^{-1}$, tiempo de retención de 10 a 12 min y detector UV a 210 nm, luego de una extracción con acetonitrilo como preparación de la muestra (DONKOR et al., 2005; 2007; CUENCA, 2005).

3 Resultados y discusión

En las Figuras 2 y 3 se presentan los resultados para el seguimiento de acidez titulable y pH de las bebidas durante la etapa de fermentación. En todos los casos se observó un aumento en la acidez de las bebidas, siendo mayor para las bebidas fermentadas con cultivos mixtos: 0,95 y 0,78% con los cultivos 205 y 207 respectivamente en la fermentación de leche de vaca, mientras que 0,39 y 0,43% con los cultivos 205 y 207 respectivamente para bebida de soja. Los resultados obtenidos para la fermentación de las bebidas con el cultivo simple muestran una acidez titulable baja para este tipo de productos, sin una diferencia significativa para los dos tipos de bebidas: 0,24% para leche y 0,26% para bebida de soja.

El comportamiento del pH de las bebidas fermentadas concuerda con el encontrado en la acidez total, se obtienen valores bajos para las bebidas fermentadas con los cultivos mixtos (4,3 y 4,4 en leche fermentada con los cultivos 205 y 207 respectivamente; 4,6 y 4,4 en

bebida de soja fermentada con los cultivos 205 y 207 respectivamente) que favorecen la conservación a lo largo del tiempo de vida útil. Los resultados para las bebidas fermentadas con el cultivo simple son significativamente diferentes en las dos bebidas, con valores altos para este tipo de productos que pueden contribuir negativamente en la conservación de los productos (5,7 para leche y 5,0 para bebida de soja). Se resalta el descenso lineal que se presenta al utilizar el cultivo simple en las dos bebidas, frente al comportamiento mostrados al emplear los cultivos mixtos.

De acuerdo con la Figura 4 el comportamiento del desarrollo de ácido láctico durante el proceso fermenta-

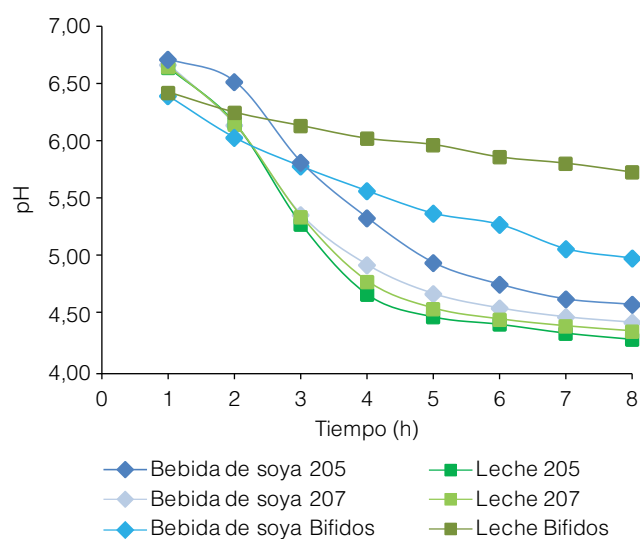


Figura 3. Comportamiento del pH durante la fermentación de bebida de soja y leche.

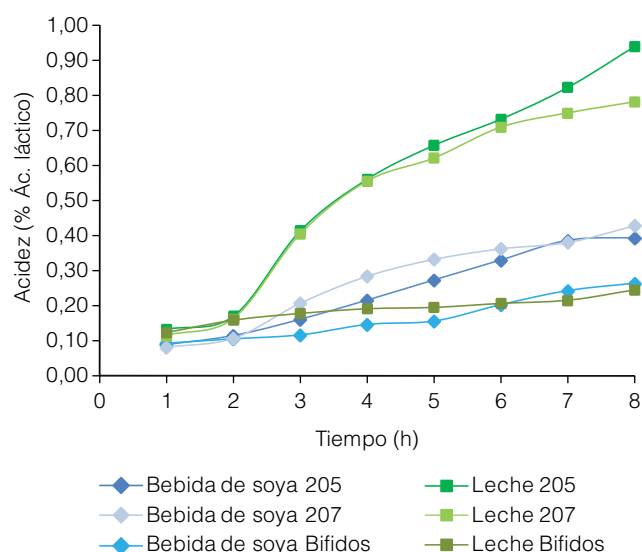


Figura 2. Comportamiento de la acidez total durante la fermentación de bebida de soja y leche.

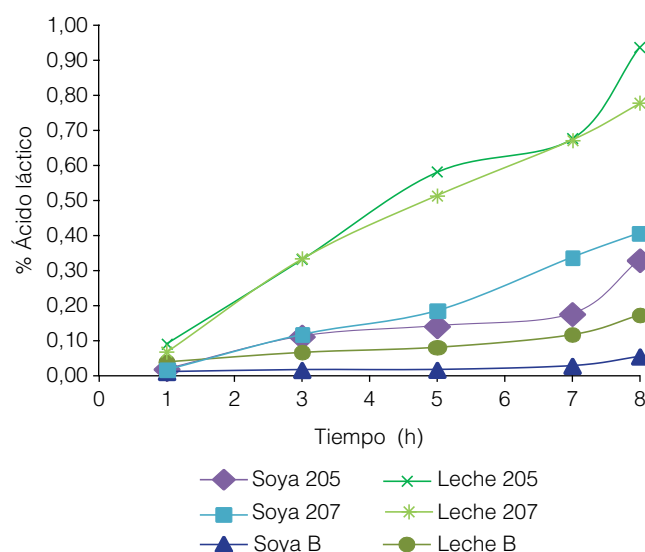


Figura 4. Comportamiento del contenido de ácido láctico durante la fermentación de bebida de soja y leche de vaca.

Valoración de diferentes indicadores de la fermentación de bebida de soja y de leche de vaca utilizando cultivos probióticos

MARTÍN, M. A. B. y CUENCA, M. C. Q.

tivo de las bebidas es análogo al mostrado con la acidez titulable: se encuentra un mayor contenido para la leche fermentada con los cultivos mixtos (0,93 y 0,78% para 205 y 207 respectivamente) que para la bebida de soja fermentada en condiciones similares (0,34 y 0,40% para 205 y 207 respectivamente). Los menores valores fueron los encontrados para las fermentaciones realizadas con el cultivo simple (0,17% para leche y 0,05% para bebida de soja). Es adecuado destacar que el desarrollo de acidez titulable mostrado por el cultivo 207 es lineal, mientras que los otros cultivos presentan un aumento considerable en la última hora del proceso.

La Figura 5 se presenta para ilustrar el comportamiento reológico presentado por la bebida de soja a lo largo del proceso fermentativo para los cultivos mixtos (205 y 207). Durante las dos primeras horas el comportamiento es newtoniano, mientras que a partir de la cuarta hora de proceso es pseudoplástico, sin una diferencia significativa con el comportamiento presentado al final de la fermentación. En contraste con los resultados presentados anteriormente se muestra la Figura 6, en la que se ilustra el comportamiento reológico obtenido para la bebida de soja fermentada con el cultivo simple, el cual es newtoniano durante todo el tiempo de fermentación. Los resultados presentados para las fermentaciones de leche de vaca son equivalentes.

Con el objetivo de comparar el comportamiento reológico presentado al final de la fermentación por todas las bebidas se muestra la Figura 7, en la que se hace evidente la tendencia pseudoplástica obtenida para la leche fermentada con los cultivos mixtos y la tendencia newtoniana resultante para las demás bebidas. Es

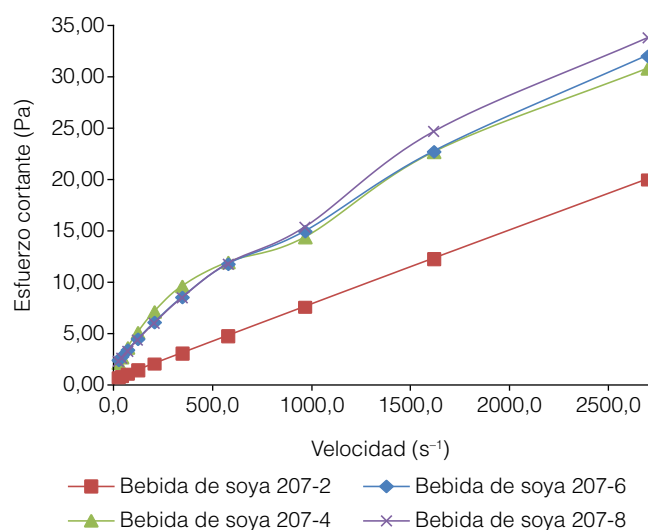


Figura 5. Comportamiento reológico durante la fermentación de bebida de soja con el cultivo mixto 207.

importante resaltar que no se presenta una diferencia significativa al emplear cultivos mixtos en las fermentaciones realizadas para una misma bebida.

El comportamiento reológico refleja la formación de gel de las bebidas y la viscosidad de las mismas, teniendo un gel más firme para la leche fermentada con los cultivos mixtos, un gel menos firme y una sinéresis alta para la bebida de soja fermentada con los cultivos mixtos y una ausencia de formación de gel para las bebidas fermentadas con el cultivo simple. Lo anterior hace que se dificulte la inclusión de las últimas bebidas dentro del mercado, de acuerdo con la identificación que hace el consumidor de la viscosidad característica para este tipo de productos.

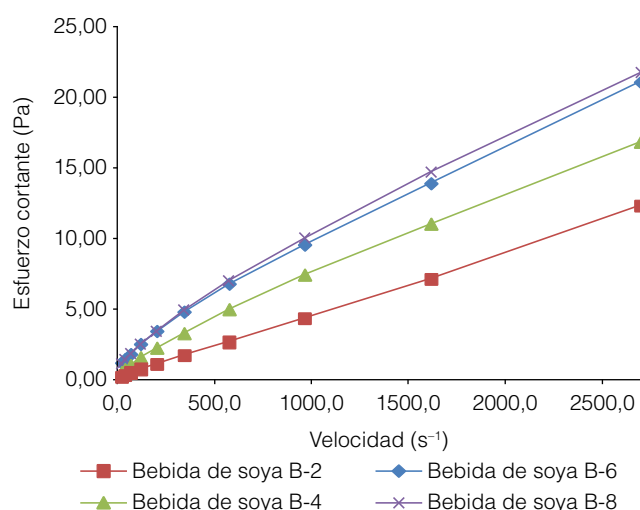


Figura 6. Comportamiento reológico durante la fermentación de bebida de soja con el cultivo simple B.

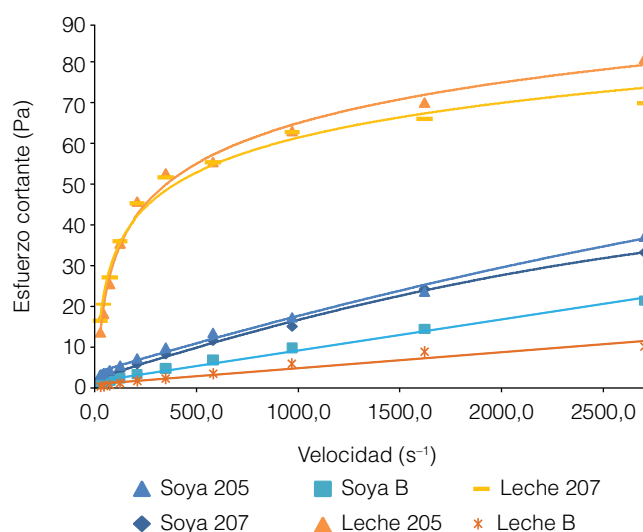


Figura 7. Comportamiento reológico al final de la fermentación de bebida de soja y leche.

Valoración de diferentes indicadores de la fermentación de bebida de soja y de leche de vaca utilizando cultivos probióticos

MARTÍN, M. A. B. y CUENCA, M. C. Q.

4 Conclusiones

Para los indicadores valorados no se encontró una diferencia significativa en las fermentaciones realizadas con los cultivos mixtos (205 y 207) en una misma bebida. Las propiedades valoradas en las bebidas fermentadas con el cultivo simple no son adecuadas para este tipo de productos, ya que pueden perjudicar su conservación y sus características de calidad. La diferencia presentada al exponer los cultivos a sustratos diferentes se ve expresada en las propiedades de las bebidas, que evidencian un cambio en el metabolismo de los microorganismos que se traduce en la obtención de productos diferentes. Se hace evidente que el empleo de cultivos mixtos contribuye a lograr el desarrollo adecuado de las propiedades en tiempos de proceso razonables, por lo que se puede concluir que la composición del cultivo y el sustrato disponible en el medio de fermentación son variables importantes en el establecimiento de procesos productivos adecuados para el desarrollo de bebidas fermentadas con microorganismos con actividad probiótica.

Referencias

BECERRA, N. L.; LEGUIA, C. P. **Validación del proceso para la producción de una bebida de soja y la utilización de subproductos**. Bogotá: Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Colombia, 2000.

CUENCA, M. **Evaluación de la fermentación láctica de una mezcla de bebida de soja y leche de vaca utilizando células inmovilizadas**. 2005. 285 p. Dissertação (Maestría en Ingeniería Química) - Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

CUNNIFF, P. **Official methods of analysis of AOAC International**. 16 ed. Gaithersburg: AOAC, 1998.

DONKOR, O. N.; HENRIKSSON, A.; VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. **International Dairy Journal**, Barking, v. 16, n. 10, p. 1181-1189, 2006.

DONKOR, O. N.; HENRIKSSON, A.; VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. **International Dairy Journal**, England, v. 16, n. 10, p. 1181-1189, 2006.

DONKOR, O. N.; HENRIKSSON, A.; VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. [alpha]-Galactosidase and proteolytic activities of selected probiotic and dairy cultures in fermented soymilk. **Food Chemistry**, London, v. 104, n. 1, p. 10-20, 2007a.

DONKOR, O. N.; NILMINI, S. L. I.; STOLIC, P.; VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. **International Dairy Journal**, Barking, v. 17, n. 6, p. 657-665, 2007b.

DOUGLAS, L. C.; SANDERS, M. E. Probiotics and Prebiotics in Dietetics Practice. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 108, n. 3, p. 510-521, 2008.

FARNWORTH, E. R.; MAINVILLE, I.; DESJARDINS, M. P.; GARDNER, N. FLISS, I.; CHAMPAGNE, C. Growth of probiotic bacteria and bifidobacteria in a soy yogurt formulation. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 116, n. 1, p. 174-181, 2007.

MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C.; FRIAS, J.; GÓMEZ, R.; VIDAL-VALVERDE, C. Influence of addition of raffinose family oligosaccharides on probiotic survival in fermented milk during refrigerated storage. **International Dairy Journal**, England, v. 16, n. 7, p. 768-774, 2006.

MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C.; GÓMEZ, R. Characterization of bifidobacteria as starters in fermented milk containing raffinose family of oligosaccharides from lupin as prebiotic. **International Dairy Journal**, Barking, v. 17, n. 2, p. 116-122, 2007.

MUSSATTO, S. I.; MANCILHA, I. M. Non-digestible oligosaccharides: a review. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 68, n. 3, p. 587-597, 2007.

SCALABRINI, P.; ROSSI, M.; SPETTOLI, P.; MATTEUZZI, D. Characterization of Bifidobacterium strains for use in soymilk fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 39, n. 3, p. 213-219, 1998.

SHIMAKAWA, Y.; MATSUBARA, S.; YUKI, N.; IKEDA, M.; ISHIKAWA, F. Evaluation of Bifidobacterium breve strain Yakult-fermented soymilk as a probiotic food. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 81, n. 2, p. 131-136, 2003.

SU, P.; HENRIKSSON, A.; MITCHELL, H. Selected prebiotics support the growth of probiotic mono-cultures *in vitro*. **Anaerobe**, Amsterdam, v. 13, n. 3-4, p. 134-139, 2007.

WANG, Y. C.; YU, R. C.; CHOU, C. C. Growth and survival of bifidobacteria and lactic acid bacteria during the fermentation and storage of cultured soymilk drinks. **Food Microbiology**, London, v. 19, n. 5, p. 501-508, 2002.

WANG, Y. C.; YU, R. C.; YANG, H. Y.; CHOU, C. C. Sugar and acid contents in soymilk fermented with lactic acid bacteria alone or simultaneously with bifidobacteria. **Food Microbiology**, London, v. 20, n. 3, p. 333-338, 2003.

WANG, Y. C.; YU, R. C.; CHOU, C. C. Antioxidative activities of soymilk fermented with lactic acid bacteria and bifidobacteria. **Food Microbiology**, London, v. 23, n. 2, p. 128-135, 2006.