

PRODUTOS FERMENTADOS A BASE DE SOJA (*Glycine max*): FERMENTAÇÃO LÁCTICA E EM ESTADO SEMISSÓLIDO

Edgleiga Daise Alves Feitoza¹, Joanny Lays Bandeira Cruz da Silva¹, Amanda Chirley Brito Leite¹, Luana Camilla Cordeiro Braz², Layann Rafaella Feitosa Leite¹ e Jean César Farias de Queiroz^{3*}

¹Discentes do curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)

²Bolsista PIBIC/CNPq/UFCG, Discente do curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

³Professor Doutor. Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, Universidade Federal de Campina Grande, Sumé, PB.*Correspondência: Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido da Universidade Federal de Campina Grande (CDSA - UFCG), Rua Luiz Grande, CEP 58540-000, Sumé, Paraíba, Brasil. E-mail: queiroz@ufcg.edu.br.

RESUMO

No mercado consumidor atual existe uma demanda crescente por produtos saudáveis e diversificados. A sociedade está mais ciente dos benefícios de alimentos fermentados, inclusive daqueles à base de soja. A fermentação semissólida tem ganhado novamente a atenção, devido aos maiores rendimentos na obtenção de produtos. Nesse trabalho foram analisadas estratégias de produção de fermentados tendo como substrato grãos de soja e leite de soja. Foi produzido iogurte a partir da fermentação láctica do leite de soja com a flora microbiana (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) obtida de iogurte natural por cerca de 6 horas em temperatura ambiente. Grãos de soja, hidratados e triturados, foram utilizados como meio na fermentação semissólida por *Penicillium roqueforti*. O meio com inóculo foi armazenado em sete sacos plásticos em condições microaerófilas por 7 dias a 30±5 °C. Na fermentação do leite de soja para produção do iogurte houve redução do pH de 7,6 para 5,0 e do °Brix de 12 para 8,2, indicando o consumo de açúcares e produção de ácidos lácticos. Os valores de produtividade, fator de conversão do substrato em produto e rendimento foram 157,44 g.L⁻¹.h⁻¹, 0,984 g/g e 96 %, respectivamente. Na fermentação semissólida, o maior crescimento do *P. roqueforti* ocorreu no meio contendo somente os grãos de soja hidratados e triturados. A adição de sal ao meio atuou como inibidor. Obteve-se sucesso em ambos os processos, já que houve crescimento microbiano resultante do consumo do substrato.

Descritores: iogurte de soja, Tempeh, *Penicillium roqueforti*, Bactérias lácticas.

FERMENTED PRODUCTS OBTAINED FROM SOYBEANS (*Glycine max*): LACTIC FERMENTATION AND SOLID STATE FERMENTATION

ABSTRACT

In the current market there is a growing consumer demand for healthy and diversified products. The society is more aware of the benefits of fermented foods, including those based on soy. The solid state fermentation has gained attention again due to higher income in obtaining products. In this work we analyzed the production strategies of fermented products having as substrate soybeans and soy milk. Yogurt was produced from the lactic fermentation of soy milk with the bacterial flora obtained from natural yogurt (*Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) for about 6 hours at room temperature. Hydrated and crushed soybeans were used as a medium for semisolid fermentation by *Penicillium roqueforti*. The medium with the inoculum was stored in seven plastic bags under microaerophilic conditions for 7 days at 30±5 °C. In the production of yoghurt was observed during fermentation a pH reduction from 7.6 to 5.0 and the °Brix from 12 to 8.2, indicating sugar consumption and lactic acid production. The values of productivity, conversion factor of substrate to product and yield were 157.44 g.L⁻¹.h⁻¹, 0.984 g/g and 96%, respectively. In solid state fermentation, the largest growth of *P. roqueforti* occurred in medium containing only the soybeans crushed and hydrated. The salt

added in the medium acted as an inhibitor. Success was achieved in both cases, since there was microbial growth resulting from the consumption of the substrate.

Keywords: Soy yogurt, Tempeh, *Penicillium roqueforti*, Lactic acid bacteria.

INTRODUÇÃO

Atualmente, existe uma crescente solicitação por parte do consumidor, de produtos saudáveis e diversificados. Neste sentido, nos últimos anos a indústria alimentar tem dada a devida atenção ao desenvolvimento de alimentos funcionais, mais saudáveis e saborosos, entre os quais se encontram muitos dos alimentos fermentados (1).

Há muito tempo, a produção de bebidas e alimentos fermentados tem sido usada como uma das maneiras de conservação de matérias primas perecíveis, por aumentar o tempo de vida útil de prateleira (1). Os tipos de alimentos fermentados produzidos em diferentes regiões do mundo refletem a dieta de cada região. Esses alimentos fornecem uma grande contribuição à alimentação em todas as partes do mundo (2).

A soja (*Glycine max* Merrill L.) tem despertado a atenção de alguns consumidores pelo seu valor nutricional, como fonte de proteínas de alta qualidade. Há uma nova tendência as pessoas estejam cada vez mais conscientes dos inúmeros benefícios do consumo de alimentos fermentados, inclusive daqueles a base de soja, e de uma dieta baseada em vegetais e alimentos integrais (3).

A *G. max* é uma planta de consumo milenar, sendo consumida pela população da Ásia oriental há mais de 2 mil anos, na forma de alimentos tradicionais, como nimame (soja integral cozida), edaname (soja verde e fresca), extrato hidrossolúvel de soja, tofu, kori-tofu (tofu desidratado à frio), abura-age (tofu frito), molho de soja, missô, natto e tempeh (4).

Apesar do seu cultivo milenar no oriente, no Brasil, a *G. max* começou a ser cultivada apenas no final do século 19 (5). Somente em 1919, que a oleaginosa passou a ter um destaque efetivamente internacional, quando a cultura começou a ganhar espaço nos EUA (6).

Após a década de 1970, a soja se consolidou como a principal cultura do agronegócio brasileiro, passando de 1,5 milhões de toneladas em 1970 para 86,12 milhões de toneladas em 2014 (7). Esse crescimento é devido, não apenas ao aumento da área cultivada, mas, também, ao expressivo incremento da produtividade (8).

A maior parte (cerca de 85%) da colheita mundial de soja é processada para produzir o óleo e os resíduos da extração usados na preparação de rações para animais.

Somente 10% da produção são usados diretamente para alimentação humana, principalmente na Ásia (6).

Pesquisas têm sido realizadas para identificar as potencialidades deste alimento, principalmente devido à quantidade e a qualidade da sua proteína, sendo considerada, dentre os vegetais, o melhor substituto de produtos de origem animal. Além disso, a soja é importante fonte de outros compostos, como fibras, oligossacarídeos com potencial prebiótico, vitaminas e minerais (9,10).

No Brasil, tem aumentado a procura por alimentos a base de soja, com diversos produtos sendo lançados no mercado. Paralelamente, nos últimos 20 anos houve o crescimento da utilização de culturas lácticas na área alimentícia e farmacêutica. As bebidas lácteas fermentadas que utilizam como substratos na fermentação os derivados de soja possuem alta qualidade proteica, ausência de colesterol e lactose, baixas concentrações de ácidos graxos saturados. Essas características são vantajosas e os produtos podem ser utilizados por indivíduos com deficiência no metabolismo da lactose (11-14).

O processo de fermentação em meio semissólido (*Solid State Fermentation - SSF*), comumente empregado em países do Oriente e do continente Africano visando à elaboração de alimentos, vem ganhando adeptos em sua utilização, ano após ano, entre pesquisadores da Europa e do continente Americano. São citados exemplos de alimentos que necessitavam, da fermentação em estado sólido há milênios, como, por exemplo, na China, a produção de molho de soja em 1.000 a.C. Já no Ocidente, uma das primeiras referências que se tem sobre o processo em meio sólido, foi a obtenção de queijo roquefort em 100 d.C (15).

A SSF utiliza substratos sólidos, como farelo de trigo, bagaço de cana e polpa de papel. Nesses processos, os substratos são utilizados muito lentamente e de forma constante, havendo a liberação controlada de nutrientes, de modo que o mesmo substrato pode ser utilizado para longos períodos de fermentação. A SSF é um processo adequado quando envolve fungos e microrganismos que requerem pouca umidade. Nesse sentido, destacam-se os fungos filamentosos por apresentarem melhor capacidade de crescimento nestas condições. São exemplos, as culturas de *Rhizopus*, *Trichoderma*, *Penicillium* ou *Aspergillus* para obtenção de enriquecimento proteico e produção de enzimas. Assim, um vasto campo de estudos tem sido vislumbrado utilizando estes microrganismos (15,16).

O *Penicillium roqueforti* é um fungo saprófito comum, difundido na natureza podendo ser isolados a partir do solo, decomposição de substâncias orgânicas e partes

de plantas. Os principais usos industriais deste fungo são para a produção de queijo Gorgonzola, aromatizantes, agentes antibacterianos, polissacarídeos, proteases e outras enzimas (17).

Entre os alimentos produzidos por meio da SSF está o Tempeh, uma das formas de melhorar a qualidade nutricional do grão de soja. A fermentação origina um alimento seguro, do ponto de vista microbiológico, sendo uma alternativa ao consumo de carne e fornecendo nutrientes essenciais como proteínas ou vitamina B. O Tempeh pode ser visto como um produto com elevado potencial, por reunirem um só tipo de alimento as características essenciais para ser aceito pelos consumidores que desejam ter uma alimentação saudável e variada (1).

De acordo com o exposto, nesse trabalho foram analisadas estratégias de obtenção de produtos fermentados tendo como substrato a soja (*Glycine max*) e seu derivado (leite de soja). Para tal, visou-se a realização de processos de: (a) fermentação láctica do leite de soja e (b) fermentação em estado sólido de grãos de soja por *Penicillium roqueforti*.

MATERIAL E MÉTODOS

Fermentação Láctica do Leite de Soja

Microrganismo: Nesse processo, foi utilizado como inóculo um pote de iogurte natural produzido pela Leбом Alimentos S/A. No iogurte natural são encontrados os microrganismos *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. Esses microrganismos pertencem ao grupo das bactérias lácticas, constituído por espécies Gram positivas, catalase negativas, microaerófilas e produtoras de ácidos lácticos (18,19).

Substrato: Leite de soja comercializado da Mais Vita produzido por Yoki Alimentos S.A (20).

Inóculo e fermentação: Foi aquecido 1L de leite de soja até atingir 45 °C , foram acrescentados três colheres de sopa de açúcar (aprox. 30g) e uma colher de sopa de amido de milho (aprox. 9g). A sacarose é responsável por potencializar a fermentação e o amido de milho por aumentar a consistência do iogurte. Em seguida foi acrescentado o inóculo e misturado até obtenção de uma mistura homogênea. A mistura foi despejada em um recipiente plástico devidamente higienizado. O recipiente foi envolto em uma toalha e deixado repousar em lugar quente durante seis horas. Após a fermentação, o iogurte foi conservado em geladeira (aproximadamente 8 °C).

Parâmetros analisados: Foram analisados valores de pH e grau Brix antes e após a fermentação, a partir de uma pequena amostra com diluição 1:3 em água destilada. Os valores de produtividade e fator de conversão de substrato em produto foram obtidos pelas Equações 1 e 2, respectivamente.

$$P_p = \frac{P - P_0}{t} \quad (1)$$

$$Y_{P/S} = \frac{P - P_0}{S_0 - S} \quad (2)$$

$$\text{Rendimento}(\%) = \frac{\text{Volumedeiogurte (produto)}}{\text{Volumedeleite (substrato)}} \times 100\%$$

Em que: P_p = Produtividade do produto

P = Concentração final de produto

P_0 = Concentração inicial de produto

S = Concentração final de substrato

S_0 = Concentração inicial de substrato

t = tempo de fermentação

$Y_{P/S}$ = Fator de conversão de substrato em produto

Fermentação em Estado Sólido dos Grãos de Soja

Microrganismo: Nesse trabalho, para o inóculo, foi extraído o *Penicillium roqueforti* diretamente do queijo gorgonzola e suspenso em leite de soja (Figura 1). O queijo do tipo Gorgonzola, de origem italiana, é conhecido como queijo azul, pelo abundante crescimento do fungo *Penicillium roqueforti*, de tonalidade azul-esverdeado (21). O *P. roqueforti* apresenta bom crescimento cultivado em meio de cultura sintético ou complexo, cresce em temperaturas na faixa de 20 - 30 °C (22).



Figura 1. Fungo filamentosso *Penicillium roqueforti*. A: Imagem de microscopia eletrônica do *P. roqueforti*; B: Queijo Gorgonzola, pode-se observar o crescimento do fungo. C: Fungo *P. roqueforti* extraído de uma fatia de queijo Gorgonzola industrial.

Hidratação e cozimento dos grãos: Os grãos de soja inteiros foram colocados de molho em água quente até as cascas começarem a se soltar. Então, os grãos foram peneirados até as cascas flutuarem na água e em seguida foi feita a remoção das mesmas. A soja foi hidratada por submersão em água durante aproximadamente três horas. Após esse tempo foi colocado duas colheres grandes de sopa de vinagre na água do cozimento deixando a soja cozinhar por aproximadamente uma hora. Em seguida, foi feito a trituração em um processador, seguida de um cozimento durante mais trinta minutos. Desligada a chama, manteve-se a panela fechada por dez minutos. Finalmente, a água foi escorrida e os grãos secaram em um tecido de algodão.

Inóculo e fermentação: A suspensão do leite de soja contendo o *Penicillium roqueforti* foi misturada aos grãos triturados e secos. A mistura foi dividida em 7 ensaios, colocados em sacos plásticos (10x20 cm) que foram lacrados e perfurados com um palito, para permitir a passagem de ar (condição microaerófila). Os ensaios receberam diferentes tratamentos, descritos na Tabela 1.

Em seguida, foi feita a pesagem de cada saco plástico (Tabela 1), correspondente aos ensaios. Depois, os grãos embalados foram colocados numa incubadora com temperatura entre 25 e 30 °C durante sete dias.

Tabela 1. Meio de cultivo nos ensaios de fermentação em estado sólido e suas respectivas massas (gramas) antes da fermentação.

Ensaio	Meio Semi-sólido	Peso
1	Grãos de soja	155,60 g
2	Grãos de soja	116,45 g
3	Grãos de soja	116,72 g
4	Grãos de soja + 1,7 % de sal (% peso/peso)	98,85 g
5	Grãos de soja + 1,7 % de sal (% peso/peso)	108,39 g
6	Grãos de soja + 2,9 % de sal (% peso/peso)	122,37 g
7	Grãos de soja + 14,8 mL de leite de soja	124,38 g

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fermentação Láctica do Leite de Soja

Foi obtido sucesso no processo fermentativo, sugerindo a possibilidade da utilização do leite de soja como uma alternativa ao leite de origem animal. Os

microrganismos *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus*, geralmente utilizados pela indústria de laticínios, apresentaram a capacidade de fermentar os açúcares do leite de soja, como substrato alternativo. O produto gerado é indicado principalmente para os consumidores com intolerância a lactose ou outros componentes do leite de origem animal, não havendo nenhuma restrição para aqueles que não apresentam intolerância.

Na Figura 2A, visualiza-se o aspecto do iogurte obtido, que adquiriu uma textura consistente que segundo a literatura é atribuída à adição de amido de milho. Podem ser também utilizadas outras substâncias como ágar ou gomas para obter um produto com essa característica. O soro retirado totalizou um volume de 40 mL, podendo ser observado na Figura 2B.



Figura 2. Imagens obtidas após o término do processo de fermentação láctica. A: iogurte; B: Soro retirado.

Os dados obtidos de variação de pH e grau Brix, são mostrados na Figura 3. O grau Brix é um indicativo do teor de açúcares no meio (23), sendo que 1ºBx corresponde a aproximadamente 1% da massa em açúcar. No gráfico da Figura 4 observa-se que o pH e o grau Brix diminuíram durante a fermentação. A diminuição do pH é decorrente da formação de Ácido Láctico durante o processo fermentativo e a redução do Brix indica o consumo de açúcar. Assim, como esperado, ocorreu o consumo de açúcar para produção de Ácido Láctico.

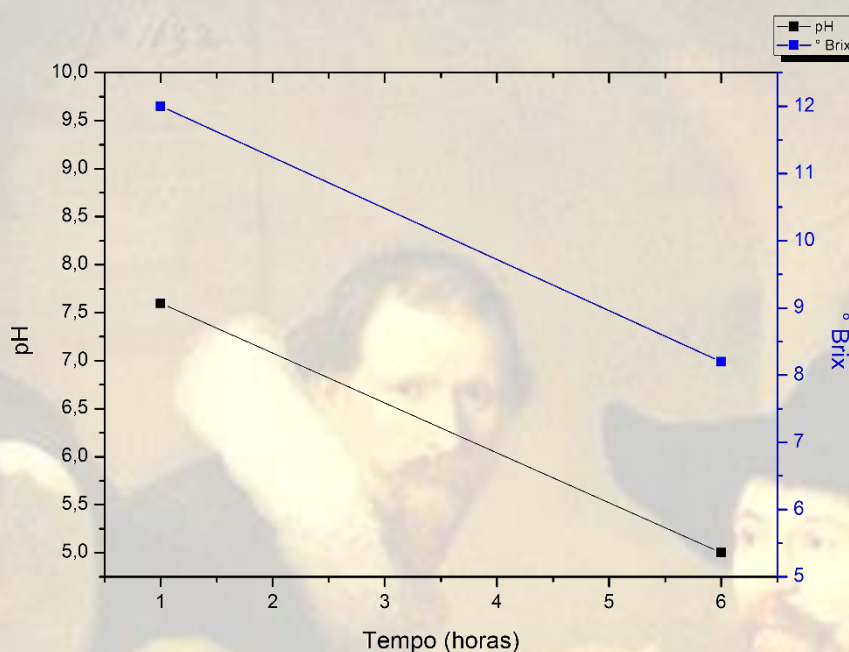


Figura 3. Variação do pH do meio e do grau Brix na fermentação do leite de soja para produção de iogurte. Os valores foram medidos a partir de uma amostra com diluição 1:3 em água destilada.

Para o processo fermentativo, foram calculados os parâmetros mostrados na Tabela 2. Infere-se pelos valores de rendimento e produtividade, que em primeira análise o processo pode ser considerado rentável. A viabilidade econômica dependerá da aceitação pelo mercado consumidor.

Tabela 2. Parâmetros calculados como indicativo da viabilidade do processo

Parâmetro	Valor calculado
Produtividade (P_P)	157,44 g.L ⁻¹ .h ⁻¹
Fator de conversão de substrato em produto ($Y_{P/S}$)	0,984 g/g
Rendimento (%)	96 %

O único resíduo produzido no processo é o soro, que poderá ser aproveitado como substrato para outros processos bem como na alimentação de suínos. Além disso, essa produção de resíduo é em pequena quantidade mantendo a responsabilidade ambiental, portanto um processo sustentável.

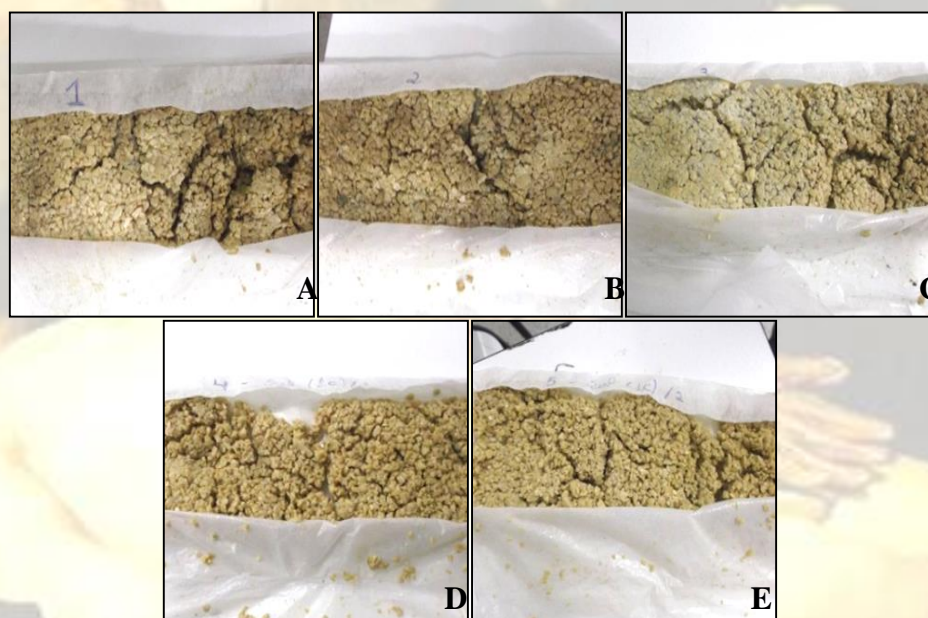
Fermentação em Estado Sólido dos Grãos de Soja

Após os sete dias de fermentação pode-se observar o crescimento do fungo *Penicillium roqueforti* no meio, como mostrado na Figura 4. "Alguns estudos tem sido realizados visando determinar as cinéticas de crescimento do microrganismo, de

consumo de substrato e de geração do produto. Contudo, é muito difícil estimar diretamente a biomassa microbiana no processo em estado sólido, assim como separar, em muitos casos, o micélio do substrato" (15). Assim, optamos por analisar o crescimento do *P. roqueforti* pela visualização.

Algumas opções de métodos indiretos para quantificação do crescimento da biomassa podem ser: (a) extração alcalina da proteína micelial do complexo celulose-fungo, (b) estimativa da quantidade de ATP ou glicosaminado microrganismo, (c) estimativa da quantidade de proteínas por infravermelho, (d) determinação da atividade da lacase extracelular, (e) determinação contínua da quantidade de CO₂ e O₂ presentes na atmosfera do fermentador por analisadores de gases ou (f) por absorção do CO₂ em NaOH (15).

O maior crescimento foi obtido no meio contendo somente os grãos de soja hidratados e triturados (Figura 4). Nesse caso, a adição de sal atuou como inibidor de crescimento devido a quanto maior a concentração de sal no meio houve um crescimento visualmente menor (Figura 4). O aumento da umidade provocado pela adição do leite de soja ao meio de cultivo semi-sólido, aparentemente, dificultou o acesso do microrganismo a maiores regiões do meio, como observado na Figura 7 houve um crescimento mais localizado.



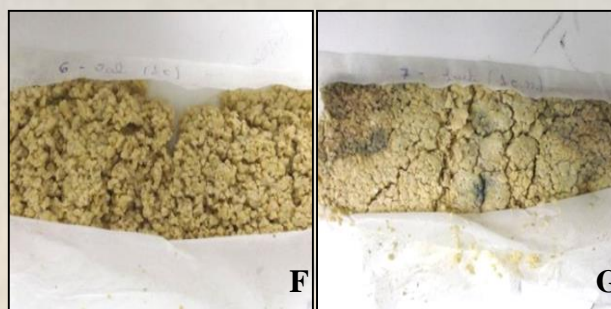


Figura 4. Imagens obtidas após sete dias de fermentação semi-sólida utilizando como mosto os grãos de soja hidratados e triturados. A: Ensaio 1; B: Ensaio 2; C: Ensaio 3; D: Ensaio 4 (Grãos de soja + 1,7 % de sal); E: Ensaio 5 (Grãos de soja + 1,7 % de sal); F: Ensaio 6 (Grãos de soja + 2,9 % de sal); G: Ensaio 7 (adição de 14,8 mL de leite de soja).

Não foi encontrada uma relação para as variações nas massas ao início e final do processo. Em alguns casos a massa foi reduzida, o que pode se dever há uma evaporação de água do meio.

Tabela 3. Massa medida ao início e ao final do processo fermentativo semi-sólido.

Ensaio	Peso inicial (gramas)	Peso final (gramas)	Varição
1	155,60	152,48	-3,12
2	116,45	113,89	-2,56
3	116,72	117,10	0,38
4	98,85	101,51	2,66
5	108,39	106,87	-1,52
6	122,37	121,07	-1,3
7	124,38	121,79	-2,59

O produto resultante do processo não é atrativo ao consumo humano, no entanto podem ser encontradas outras aplicações como consumo animal e utilização do processo de fermentação semi-sólida para obter metabólitos e/ou enzimas.

O *Penicillium roqueforti* vem sendo pesquisado para estratégias de produção de enzimas, como Lipases (22). Considerando que foi demonstrada a capacidade dessa espécie de sintetizar lípases quando cultivada com diversas fontes de carbono.

CONCLUSÃO

A partir do exposto pode-se concluir que, a FSS apresenta vantagens relevantes como uso de substrato simples e aceleração da taxa de reação devido ao direto contato entre o substrato e o microrganismo, dentre outras. Assim, o crescimento em

fermentação semi-sólida utilizando a soja como substrato pode ser investigado para produção de metabólitos ou enzimas.

O processo de fabricação de iogurte se mostrou viável, dados os valores de rendimento e produtividade obtidos. Além de gerar um produto enriquecido nutricionalmente, uma nova alternativa para o consumo de leite de soja e uma opção nos casos de intolerância a produtos derivados de leite de origem animal. Há ainda a possibilidade de realização novos testes para otimização desse processo. De modo geral, obteve-se sucesso em ambos os processos.

REFERÊNCIAS

1. Cruz I. Desenvolvimento de um inóculo seguro, eficiente e padronizado para a produção de tempeh em pequena escala a partir de diferentes leguminosas [Dissertação]. Technical University of Lisbon; 2014.
2. Aquarone E, Borzani W, Schmidell Netto W, Lima U. Biotecnologia industrial. 1st ed. São Paulo: Edgard Blucher; 2001.
3. Shurtleff W, Aoyagi A. History of tempeh and tempeh products (1815-2011). 1st ed. Lafayette, CA: Soyinfo Center; 2011.
4. Fukushima D, Hashimoto H. Oriental soybean foods. Processing of World Soybean Research Conference. 1st ed. Colorado: Westview Press; 1980. p. 729-743.
5. Rosa A, Claviso J, Passos L, Aguiar C. Alimentos fermentados à base de soja (*Glycine max* (Merrill) L.): importância econômica, impacto na saúde e efeitos associados às isoflavonas e seus açúcares. *Revista Brasileira de Biociências*. 2009;7(4).
6. A Soja: História, Tendências e Virtudes. *Funcionais & Nutraceuticos*. 2009;1:28-40.
7. MAPA. Produção de grãos atinge 195 milhões de toneladas [Internet]. 2014 [cited 14 October 2014]. Available from: <http://www.agricultura.gov.br/comunicacao/noticias/2014/09/producao-de-graos-atinge-195-milhoes-de-toneladas>
8. EMBRAPA Soja. Tecnologias de Produção de Soja na Região Central do Brasil 2004. A Soja no Brasil [Internet]. 2004 [cited 16 August 2014]. Available from: <http://www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/SojanoBrasil.htm>
9. Fuchs R, Borsato D, Bona E, Haully M. "Iogurte" de soja suplementado com oligofrutose e inulina. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2005;25(1):175-181.
10. Esteves T. Desenvolvimento de alimento fermentado de soja tipo "iogurte": avaliação da estabilidade física [Master]. Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2011.
11. Ostlie H, Treimo J, Narvhus J. Effect of temperature on growth and metabolism of probiotic bacteria in milk. *International Dairy Journal*. 2005;15:988-997.
12. Góes-Favoni S, Beléia A, Carrão-Panizzi M, Mandarino J. Isoflavonas em produtos comerciais de soja. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2004;24(4):582-586.
13. Scalabrini P, Rossi M, Spettoli P, Matteuzzi D. Characterization of *Bifidobacterium* strains for use in soymilk fermentation. *International Journal of Food Microbiology*. 1998;39:213-219.
14. Junqueira M, Lacerda T. Preparação de Bebidas Lácteas Fermentadas a Base de Soro de Queijo e Derivados de Soja: Viabilidade das Culturas Comerciais. 6ª Mostra Acadêmica UNIMEP. 2008.
15. Borzani W, Schmidell W, Lima U, Aquarone E. Biotecnologia industrial: Engenharia Bioquímica. 2nd ed. São Paulo: Edgard Blücher; 2001.
16. Subramaniam R, Vimala R. Solid state and submerged fermentation for the production of bioactive substances: a comparative study. *Int J Sci Nat*. 2012;3:480-486.
17. US Environmental Protection Agency. Final Risk Assessment *Penicillium roqueforti* [Internet]. 1997 [cited 27 August 2014]. Available from: http://www.epa.gov/biotech_rule/pubs/pdf/fra008.pdf

18. Silva N. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. 1st ed. São Paulo: Varela; 2007.
19. Souza I, Francisco O. Avaliação da Atividade Fermentativa em *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, na Produção de iogurtes. VII Congresso de Iniciação Científica das FIO. 2008.
20. Yoki Alimentos S.A. Mais Vita Pura Soja [Internet]. 2014 [cited 17 August 2014]. Available from: http://www.yoki.com.br/nossas_marcas_2.asp?ac=Produto&idMarca=4&idCat=1&idprod=270&idsub=46#produto_270
21. Queijos no Brasil. Queijo Gorgonzola [Internet]. 2014 [cited 17 August 2014]. Available from: <http://www.queijosnobrasil.com.br/fabricar-gorgonzola.html>
22. Oliveira F. Produção de lipase por *Penicillium roqueforti* e sua aplicação na obtenção de aroma de queijo [Dissertação]. Universidade de São Paulo; 2010.
23. Corazza M, Rodrigues D, Nozaki J. Preparação e caracterização do vinho de laranja. *Química nova*. 2001;24(4):449-452.