



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Faculdade de Engenharia Química
Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos



LUIZA CARDOSO DE OLIVEIRA TOLENTINO

Patos de Minas – MG

2023

LUIZA CARDOSO DE OLIVEIRA TOLENTINO

**Produção de bebida fermentada não alcoólica utilizando
cultura presente no gengibre – *Ginger ale***

Dissertação apresentada Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Uberlândia, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Carla Zanella Guidini

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Michelle Andriati Sentanin

Patos de Minas – MG

2023



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Engenharia de Alimentos				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico n. 5/2024 - PPGEA				
Data:	Vinte e seis de fevereiro de dois mil e vinte e quatro	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	16:10
Matrícula do Discente:	42212EAL012				
Nome do Discente:	Luiza Cardoso de Oliveira Tolentino				
Título do Trabalho:	Produção de bebida fermentada não alcoólica utilizando cultura presente no gengibre – Ginger Ale				
Área de concentração:	Engenharia de Alimentos				
Linha de pesquisa:	Processos Biotecnológicos				

Reúne-se presencialmente, na sala G412 do Unipam, a Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, assim composta: Carla Zanella Guidini (Presidente - Orientadora), Guilherme Coelho Lopes dos Reis (Membro Externo) e Marieli de Lima (Membro UFU).

Iniciando os trabalhos, a presidente da mesa apresentou a Comissão Examinadora e a discente, agradeceu a participação do público, e concedeu à discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da mesma se deu em conformidade às normas do Programa.

A seguir, a senhora presidente concedeu a palavra aos examinadores, que passaram a arguir a discente. Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos legais, a Banca Examinadora, em sessão reservada, atribuiu conceito final, considerando a discente:

Aprovada.

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico integra os requisitos à obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme será assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Carla Zanella Guidini, Presidente**, em 26/02/2024, às 16:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marieli de Lima, Membro de Comissão**, em 26/02/2024, às 16:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Guilherme Coelho Lopes dos Reis, Usuário Externo**, em 26/02/2024, às 16:18, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **5215740** e o código CRC **3D4B5D8E**.

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

O48
2024 Oliveira, Luiza Cardoso Martins de, 1994-
Produção de bebida fermentada não alcoólica utilizando
cultura presente no gengibre - Ginger Ale [recurso
eletrônico] : Ginger Ale / Luiza Cardoso Martins de
Oliveira. - 2024.

Orientadora: Carla Zanella Guidini.

Coorientadora: Michelle Andriati Sentanin.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de
Uberlândia, Pós-graduação em Engenharia de Alimentos.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2024.90>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Alimentos - Indústria. I. Guidini, Carla Zanella,
1983-, (Orient.). II. Sentanin, Michelle Andriati, 1982-
, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia.
Pós-graduação em Engenharia de Alimentos. IV. Título.

CDU: 664

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, que me deu oportunidades, força e coragem para superar todos os desafios.

Ao meu amado esposo, Diego Tolentino, pelo incentivo, apoio incondicional, paciência e compreensão.

Aos meus pais, Edwar e Ivalda, e minha irmã Aline, que também me incentivaram a cada momento a não desistir.

As minhas queridas orientadoras, Carla Zanella e Michelle Andriati, que durante esse período me acompanharam compartilhando seus conhecimentos e dando todo o auxílio necessário para conclusão deste do projeto.

Aos professores Marcos, Gilvan e Líbia por toda ajuda prestada.

Aos técnicos dos laboratórios que foram imprescindíveis, Carla, Betânia, Valdislaine, Dayene e Leandro.

À professora Marieli de Lima pela participação na Qualificação e Defesa deste projeto agregando muito valor ao trabalho.

Muito obrigada!

Observem os pássaros. Eles não plantam nem colhem, nem guardam alimento em celeiros, pois seu Pai celestial os alimenta. Acaso vocês não são muito mais valiosos que os pássaros? ...

...Observem como crescem os lírios do campo. Não trabalham nem fazem roupas e, no entanto, nem Salomão em toda a sua glória se vestiu como eles. E, se Deus veste com tamanha beleza as flores silvestres que hoje estão aqui e amanhã são lançadas ao fogo, não será muito mais generoso com vocês, gente de pequena fé?

Mateus c6 v26-30

RESUMO

A *ginger ale* é uma bebida fermentada com gengibre e está entre os produtos com apelo funcional e probiótico, o que a torna uma opção bastante promissora na categoria de bebidas não alcoólicas. Diante disso, o objetivo principal deste estudo foi produzir uma bebida fermentada não alcoólica utilizando microrganismos nativos provenientes do gengibre. Foram avaliadas quatro metodologias para produção do *starter*, Canakapali (2019), Sulistyarsi *et. al* (2022), Baudar (2018) e Katz (2014), a de Sulistyarsi *et. al* (2022) se mostrou mais vantajosa para utilização devido ao menor teor de álcool formado. Para a produção das bebidas fermentadas, a $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, o período de três dias foi considerado ideal devido a segurança indicada pelo manômetro. Os valores de pH ($2,68 \pm 0,04$ – $2,69 \pm 0,02$ – $2,84 \pm 0,03$ – $2,94 \pm 0,05$) e acidez ($126 \pm 1,80$ – $132,6 \pm 1,04$ – $111,3 \pm 1,37$ – $111,6 \pm 1,90$ meq/L) se enquadraram nas legislações IN N°41 de 2019 (Padrão de Identidade e Qualidade da *Kombucha* – pH 2,5 a 4,2 e acidez de 30 a 130 meq/L) e IN N°34 de 2012 (Bebidas fermentadas de Frutas – acidez de 50 a 130 meq/L), que são categorias de bebidas similares a *ginger ale* pois, ainda não existe padrões que estabeleçam sua identidade e qualidade. As bebidas pela metodologia de Canakapalli (2019) e Sulistyarsi *et. al* (2022) foram consideradas não alcoólicas até o 15° dia de armazenamento refrigerado ($0,45\% \text{v/v}$ – $0,46\% \text{v/v}$) e após o 30° dia se tornaram alcoólicas ($0,54\% \text{v/v}$). O ácido cítrico encontrado nas bebidas esteve em maior quantidade em relação aos outros ácidos como láctico e acético. Foram quantificadas bactérias ácido lácticas como, *Lactobacillus* ($3,7 \times 10^4$ – $4,3 \times 10^5$ – $2,5 \times 10^4$ – $4,0 \times 10^5$) e *Streptococcus* ($2,9 \times 10^2$ – $4,1 \times 10^3$ – $3,2 \times 10^3$ – $5,7 \times 10^5$), os microrganismos do grupo Coliformes e Salmonella não foram detectados, assegurando as bebidas quanto a qualidade higiênico sanitária. A sensorial da bebida não alcoólica, feita por Sulistyarsi *et. al* (2022), teve pontuação entre 7 e 8 (gostei moderadamente à gostei muito), além de notas altas quanto a intenção de compra.

Palavras-chave: bebida funcional, *ginger ale*, *ginger bug*, probióticos.

ABSTRACT

Ginger ale is a drink fermented with ginger and is among the products with functional and probiotic appeal, which makes it a very promising option in the non-alcoholic drinks category. Therefore, the main objective of this study was to produce a non-alcoholic fermented drink using native microorganisms from ginger. Four methodologies for starter production were evaluated, Canakapali (2019), Sulistyarsi et. al (2022), Baudar (2018) and Katz (2014), that of Sulistyarsi et. al (2022) proved to be more advantageous for use due to the lower alcohol content formed. To produce fermented drinks, at $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, a period of three days was considered ideal due to the safety indicated by the pressure gauge. The pH values ($2.68 \pm 0.04 - 2.69 \pm 0.02 - 2.84 \pm 0.03 - 2.94 \pm 0.05$) and acidity ($126 \pm 1.80 - 132.6 \pm 1.04 - 111.3 \pm 1.37 - 111.6 \pm 1.90$ meq/L) met legislation IN N°41 of 2019 (Kombucha Identity and Quality Standard – pH 2.5 to 4.2 and acidity from 30 to 130 meq/L) and IN N°34 of 2012 (Fermented Fruit Drinks – acidity from 50 to 130 meq/L), which are categories of drinks similar to ginger ale as there are still no standards that establish their identity and quality. Drinks using the methodology of Canakapalli (2019) and Sulistyarsi et. al (2022) were considered non-alcoholic until the 15th day of refrigerated storage ($0.45\% \text{v/v} - 0.46\% \text{v/v}$) and after the 30th day they became alcoholic ($0.54\% \text{v/v}$). The citric acid found in drinks was in greater quantity compared to other acids such as lactic and acetic. Lactic acid bacteria were quantified, such as *Lactobacillus* ($3.7 \times 10^4 - 4.3 \times 10^5 - 2.5 \times 10^4 - 4.0 \times 10^5$) and *Streptococcus* ($2.9 \times 10^2 - 4.1 \times 10^3 - 3.2 \times 10^3 - 5.7 \times 10^5$), microorganisms from the Coliformes group and *Salmonella* were not detected, ensuring the drinks had hygienic and sanitary quality. The sensorial of the non-alcoholic drink, made by Sulistyarsi et. al (2022), had a score between 7 and 8 (I liked it moderately to I liked it a lot), in addition to high marks regarding purchase intention.

Keywords: functional drink, ginger ale, ginger bug, probiotics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. Vias metabólicas envolvidas no processo de produção da <i>ginger ale</i>	28
Figura 4.2 - Recipiente de vidro, para fermentação dos <i>starters</i> , e garrafa PET, para fermentação das bebidas, reatores 1 (a) e 2 (b), respectivamente.	38
Figura 4.3 - Etapas do processo de produção da <i>ginger ale</i> : a) Preparo dos <i>starters</i> ; b) Preparo do substrato; c) Preparo da bebida fermentada.	40
Figura 4.4 - Manômetro de baixa pressão utilizado no reator 2.	41
Figura 4.5 - Teste de <i>Escherichia coli</i> e Controle de Salmonella.	43
Figura 5.6 - Comportamento dos valores de pH em relação ao tempo de fermentação das amostras submetidas aos métodos: Canakapalli (2019) e Sulistyarsi et. al (2022).	47
Figura 5.7 - Comportamento dos valores de pH em relação ao tempo de fermentação das amostras submetidas aos métodos: Baudar (2018) e Katz (2014).	48
Figura 5.8 - Comportamento dos valores de acidez em relação ao tempo de fermentação das amostras submetidas aos métodos: Canakapalli e Sulistyarsi et. al.	50
Figura 5.9 - Comportamento dos valores de acidez em relação ao tempo de fermentação das amostras submetidas aos métodos: Baudar e Katz.	50
Figura 5.10 - Visualização de células de leveduras coradas com lactofenol de algodão no microscópio com objetiva de imersão (100x).	55
Figura 5.11 - Representação microbiana nas placas de PCA. As figuras a, b e c representam as bactérias em cocos e bacilos gram positivos; As figuras d, e, f, g, h e i representam as bactérias em cocos e bacilos com interferência leveduriforme. Microscópio com objetiva de imersão (100x).	57
Figura 5.12 - Representação do manômetro indicando valor, alerta e risco de pressão.	58
Figura 5.13 - Valores de pH das bebidas fermentadas por 3 e 30 dias para cada metodologia.	59
Figura 5.14 - Gráfico representativo dos valores de acidez das bebidas fermentadas por 3 e 30 dias para cada metodologia.	60
Figura 5.15 - Fenólicos totais equivalentes a mg de ácido gálico (mg AGE/ mL de amostra).	68
Figura 5.16 - Representação microbiana das placas das bebidas: bactérias gram positivas em bacilos e cocos com interferência leveduriforme, independente da bebida. Microscópio com objetiva de imersão (100x).	71

Figura 5.17 - Visualização microscópica de células de leveduras coradas com lactofenol de algodão, independente da bebida. Microscópio com objetiva de imersão (100x).	72
Figura 5.18 - Avaliação da intenção de compra da bebida fermentada.	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 - Quantificação de açúcares e etanol dos <i>starters</i> finais.....	52
Tabela 5.2 - Quantificação de açúcares e etanol na bebida final (após 3 dias de fermentação).....	65
Tabela 5.3 - Quantificação de açúcares e etanol na bebida final armazenada por 30 dias	65
Tabela 5.4 - Quantificação de ácidos orgânicos na bebida final (após 3 dias de fermentação).....	66
Tabela 5.5 - Quantificação de ácidos orgânicos na bebida final armazenada por 30 dias.	66
Tabela 5.6 - Quantificação de bactérias e fungos totais nas bebidas fermentadas.	69
Tabela 5.7 - Quantificação de bactérias probióticas: <i>Lactobacillus</i> e <i>Streptococcus</i>	70
Tabela 5.8 - Valores obtidos da escala hedônica estruturada de 9 pontos.....	73

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	14
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
3.1	Fermentação	15
3.2	Condições Fermentativas	17
3.3	Fermentação alcoólica	18
3.4	Fermentação láctica	19
3.5	Bebidas Fermentadas	20
3.5.1	<i>Bebidas fermentadas alcoólicas.....</i>	<i>22</i>
3.5.2	<i>Bebidas fermentadas não alcoólicas</i>	<i>24</i>
3.5.3	<i>Ginger ale</i>	<i>27</i>
3.6	Microrganismos fermentativos	29
3.6.1	<i>Leveduras.....</i>	<i>30</i>
3.6.2	<i>Bactérias acéticas e lácticas</i>	<i>31</i>
3.7	Fontes vegetais de microrganismos	33
3.7.1	<i>Gengibre</i>	<i>34</i>
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	37
4.1	Material.....	37
4.1.1	<i>Unidade experimental</i>	<i>37</i>
4.1.2	<i>Reagentes e substratos</i>	<i>38</i>
4.2	Métodos.....	38
4.2.1	<i>Experimento preliminar do starter de gengibre - Ginger bug.....</i>	<i>38</i>
4.2.2	<i>Produção da bebida fermentada - Ginger ale</i>	<i>39</i>
4.2.3	<i>Análise de pressão no reator 2 - Garrafas PET.....</i>	<i>40</i>

4.2.4	<i>Análises microbiológicas</i>	41
4.2.5	<i>Análises físico-químicas</i>	43
4.2.6	<i>Análise sensorial</i>	45
4.2.7	<i>Análise estatística dos dados experimentais</i>	46
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1	<i>Starter de gengibre - Ginger bug</i>	46
5.1.1	<i>Análises físico-químicas</i>	46
5.1.2	<i>Análises microbiológicas</i>	53
5.2	<i>Bebida fermentada - Ginger ale</i>	58
5.2.1	<i>Análise de pressão no reator 2 - Garrafas PET</i>	58
5.2.2	<i>Análise físico-química</i>	59
5.2.3	<i>Análises microbiológicas</i>	69
5.2.4	<i>Estudo e comparação das metodologias das culturas iniciais utilizadas para produção da bebida em maior escala</i>	73
5.2.5	<i>Análise sensorial</i>	73
6	CONCLUSÃO	75
7	REFERÊNCIAS	76

1 INTRODUÇÃO

As mudanças nos hábitos alimentares observadas na população mundial têm sido ocasionadas especialmente por dois fatores. O primeiro são os surtos infecciosos que vêm acontecendo nos últimos anos, além da facilidade ao acesso às informações proporcionadas principalmente pelas mídias e redes sociais, que apresentam diversas pesquisas na área da alimentação e saúde. O segundo fator é a crescente preocupação por parte da população em relação à saúde e, por isso, a busca por alimentos saudáveis e funcionais tem se tornado comum, a fim de proporcionar benefícios à saúde física e mental, o que impacta diretamente na qualidade de vida. Entre estes alimentos funcionais estão os probióticos, que contém microrganismos vivos capazes de alterar a colonização do intestino e conferir benefícios à saúde. (Sanders *et. al*, 2013; Sánchez *et. al*, 2016; Bhushan *et. al*, 2021; Gautier *et. al*, 2021; Brahma *et. al*, 2022 e Wang *et. al*, 2022).

Devido aos benefícios relacionados à saúde e à boa aceitabilidade por consumidores de todas as idades, a procura e o desenvolvimento de bebidas funcionais a base de sucos de frutas e chás tem aumentado bastante, a exemplo de iogurtes de kefir, kombuchas e outras bebidas fermentadas de frutas e vegetais, o que impulsiona o crescimento do mercado desta categoria de alimentos (Derkyi *et. al*, 2018 e Kittibunchakul *et. al*, 2021).

Hortaliças, frutas, vegetais e raízes possuem uma população microbiana que depende das características de cada matriz vegetal e origem geográfica, essa microbiota é composta principalmente por microrganismos benéficos incluindo as leveduras (gêneros *Sacharomyces*, *Pichia*, *Candida* e *Torulaspora*), e as bactérias (*Bacillus spp.* e *Acetobacter spp.*) que são responsáveis pela fermentação espontânea de frutas e vegetais crus (Torres *et. al*, 2020; Pandey *et. al*, 2022). Essa microbiota presente nos vegetais pode atuar como cultura para fermentação, dando origem a bebidas fermentadas produzidas de forma artesanal. Esse fato pode atribuir alto valor agregado e vantagem competitiva e mercadológica ao produto como a *ginger ale*, que são bebidas fermentadas a partir do gengibre (Derkyi *et. al*, 2018; Nutakor *et. al*, 2020 e Torres *et. al*, 2020).

A *ginger ale* é uma opção de bebida bastante promissora, uma vez que o rizoma é muito conhecido por seu valor nutricional e atividades terapêuticas, que vão desde atividades antioxidantes, anti-inflamatória e antimicrobiana até imunomoduladora. A bebida também representa uma opção para as pessoas cuja preferência alimentar tem mudado progressivamente ao buscarem por bebidas menos alcoólicas, menos açucaradas e mais saudáveis, em substituição ao refrigerante comercial, ou aquelas com condições específicas, como diabéticos e hipertensos

(Srinivasan *et. al*, 2017; Nutakor *et. al*, 2020). A *ginger ale* ainda não é muito estudada nem explorada, não se têm muitos estudos científicos sobre a bebida que possibilite sua comparação, assim como padrões estabelecidos para sua identidade e qualificação. Foram encontrados alguns estudos específicos sobre a bebida, Canakapali (2019), Sulistyarsi *et. al* (2022), Baudar (2018) e Katz (2014) que foram utilizados como base para produção das bebidas neste trabalho. Por esse motivo, são necessários mais estudos que envolvem o processo fermentativo na produção da bebida e sua caracterização.

2 OBJETIVOS

Objetivo geral:

O objetivo geral é produzir uma bebida fermentada não alcoólica utilizando microrganismos nativos provenientes do gengibre.

Objetivos específicos:

- Estudar e padronizar o inóculo (*starter* de gengibre) segundo as metodologias de Sulistyarsi *et. al* (2022), Canakapalli (2019), Baudar (2018) e Katz (2014).
- Elaborar a formulação da bebida, a partir do estudo das concentrações iniciais dos ingredientes;
- Estudar o tempo de fermentação da bebida;
- Identificar os microrganismos presentes na bebida fermentada final, assim como no *starter*;
- Analisar as características físico-químicas da bebida fermentada como: acidez titulável, acidez volátil, pH, sólidos solúveis, açúcares totais, etanol, ácidos láctico, acético e cítrico e compostos fenólicos.
- Analisar sensorialmente a bebida final mediante a avaliação de aceitação e intenção de compra da bebida.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Fermentação

A palavra “fermentação” vem da palavra latina “*fermentum*”, e é definida como um processo natural de decomposição, o qual envolve a transformação química de substâncias orgânicas complexas em compostos mais simples, pela ação de catalisadores orgânicos gerados por microrganismos de origem animal ou vegetal (Steinkraus, 1983).

A fermentação pode ser vista como um método biológico de conservação de alimentos, podendo ser classificada em duas categorias: (i) natural ou espontânea (ou selvagem), na qual os microrganismos estão naturalmente presentes no alimento cru ou no ambiente de processamento; (ii) fermentação por adição de culturas iniciadoras, também denominada fermentação cultura dependente (Rezac *et. al.*, 2018; Verón *et. al.*, 2019 e Torres *et. al.*, 2020).

A fermentação espontânea é um dos mais antigos processos alimentares e métodos de preservação de culturas comestíveis, contribui com o incremento de vitaminas, ácidos orgânicos e aminoácidos que determinam conjuntamente a nutrição, sabor e aroma dos alimentos e bebidas fermentados. No entanto, a fermentação espontânea é facilmente influenciada pela matéria-prima, temperatura, valor de pH, estresse ambiental e presença de microrganismos desconhecidos (Xiang *et. al.*, 2020 e Xiang *et. al.*, 2022).

Trata-se de um processo de obtenção de energia anaeróbia, através da quebra de glicose em moléculas de piruvato que são posteriormente transformadas em outros produtos, dependendo do microrganismo envolvido no processo. Durante a fermentação os microrganismos, especialmente os probióticos, quebram os carboidratos fermentáveis em produtos como ácidos orgânicos, dióxido de carbono e álcool, e sintetizam metabólitos antimicrobianos como as bacteriocinas, que aumentam a segurança do alimento por inibir ou matar os microrganismos patógenos (Campbell, 1994; Lehninger *et. al.*, 1995; Simova *et. al.*, 2009; Kim *et. al.*, 2022).

A atividade conservante proposta da fermentação é proveniente das enzimas microbianas, produção de ácidos orgânicos, como o lático, etanol e diminuição do pH durante o processo fermentativo. Como resultado da ação dessas enzimas, através da hidrólise de polissacarídeos, proteínas e lipídeos, são produzidos substratos não tóxicos com potenciais bastante desejáveis, como uma ampla diversidade de sabores, aromas e texturas; melhoria da digestibilidade de proteínas e carboidratos, bem como a biodisponibilidade de vitaminas e

minerais. Além disso, há pesquisas que comprovam que a fermentação possui potencial de enriquecer nutricionalmente o alimento (Steinkraus, 1983 e 2002; Altay *et. al*, 2013; Nuraida, 2015; Makwana e Hati, 2019 e Xiang *et. al*, 2019).

Chitra *et. al* (1996) mostraram em seus estudos o potencial da fermentação em aumentar o valor nutricional dos alimentos através do mecanismo de redução de fatores antinutricionais, como o ácido fítico. Os autores estudaram o processo de fermentação em sementes de leguminosas como feijão, grão de bico e soja, utilizando coalhada natural, e comprovaram que houve uma redução no teor de ácido fítico das sementes em até 65%. Steinkraus (1998) relata que o milho carece de vitamina A e B12, porém, quando fermentado os valores de vitaminas B12 e B2 são aumentados consideravelmente. Mokoena *et. al* (2005) e Chelule *et. al* (2010) analisaram a influência da fermentação em farinha de milho e observaram que além de aumentar os níveis de proteínas nas amostras, a fermentação também diminuiu drasticamente as micotoxinas detectadas nas amostras de milho após a fermentação.

Tang *et. al* (2023) desenvolveram uma bebida fermentada de maçã e melão com excelente capacidade antioxidante. Os autores utilizaram 9% de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) em suco adoçado com sacarose e fermentaram a 27°C por 11 dias e depois inocularam com 9% de bactérias lácticas (*Streptococcus thermophilus* e *Streptococcus intestinalis*) por 16 dias a 36%. Eles obtiveram resultados muito satisfatórios com a fermentação do suco de frutas, pois a atividade antioxidante total da bebida aumentou de forma significativa, com valor de $15,57 \pm 0,6$ UFC/mL.

Qiu *et. al* (2023) estudaram os efeitos da fermentação de bactérias lácticas no teor de fitoquímicos, sabor e aroma de bebida mista de rosas comestíveis e cogumelos, e observaram maiores teores de fenóis e flavonoides totais, aminoácidos livres e nucleotídeos de sabor, bem como maior capacidade antioxidante nas amostras fermentadas do que no controle. Na análise sensorial, os resultados apresentaram redução significativa nos sinais de amargor e adstringência na bebida fermentada.

Os microrganismos mais conhecidos e comumente utilizados na fermentação incluem bactérias ácido lácticas (*Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus* e *Bifidobacterium*) e fungos leveduriformes (*Saccharomyces cerevisiae*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Torulaspora* e *Rhodotorula*) (Chisti, 2014 e Tamang *et. al*, 2016), embora fungos filamentosos tenham ocupado importantes nichos específicos nesta área possuindo importante papel na produção de enzimas, como a hesperidinase que possui grande potencial para hidrólise de flavonoides naturais, e a degradação de fatores antinutricionais (Aidoo e Nout, 2010; Severo, 2022).

Os substratos podem variar de forma bastante ampla, podendo ser qualquer substância que suporte o crescimento microbiano disponibilizando nutrientes para eles, desde que ele seja seguro e atóxico. Desta forma, os produtos derivados da fermentação também variam amplamente (Xiang *et. al*, 2019).

3.2 Conduções Fermentativas

A maioria dos processos fermentativos podem ser classificados como fermentação em estado sólido e fermentação submersa. Na fermentação em estado sólido, os microrganismos crescem em um sólido úmido com pouca ou nenhuma água. Alguns exemplos desse tipo de fermentação são panificação, o cultivo de cogumelos, processamento de cacau e fabricação de alguns alimentos como *missô* (pasta de soja) e saquê (Chisti, 1999; 2014). Na fermentação submersa os substratos podem ser usados dissolvidos, como em uma solução de sacarose ou um substrato sólido suspenso em uma grande quantidade de água para formar uma pasta. Alguns exemplos da utilização desse tipo fermentação são na produção de iogurte, fabricação de cerveja, vinhos, bebidas fermentadas como kombucha, kefir e *ginger ale*, e molho de soja (Chisti, 2014; Xiang *et. al*, 2020).

Os processos fermentativos, tanto em estado sólido quanto submersos podem acontecer em condições aeróbicas, que requerem a presença de oxigênio, e em condições anaeróbicas, que devem ser conduzidos na ausência de oxigênio (Chisti, 2014).

As conduções fermentativas podem ser realizadas em batelada, batelada alimentada ou de forma contínua. As fermentações caracterizadas como batelada e batelada alimentada são as mais empregadas para a obtenção de vários produtos fermentados. O processo batelada é o modo de operação em que o sistema é operado de maneira descontínua, em regime transiente ou estado não estacionário, isto é, em cada batelada (ciclo) o sistema é carregado com as matérias-primas e reagentes necessários, de forma que é efetuada a reação e formam-se os produtos. A cultura em batelada alimentada é a técnica operacional em processos biotecnológicos aonde um ou mais nutrientes (substratos) são adicionados (alimentados) ao biorreator durante o cultivo e em que o(s) produto(s) permanece no biorreator até o fim da fermentação. Esse tipo de condução é muito usado em indústria de alimentos, farmacêutica e de biocombustíveis. Na indústria de alimentos é muito usual em processos fermentativos de bebidas, como cerveja, vinhos, cachaça entre outros. Esse processo tem como vantagem alta facilidade no controle microbiológico e limpeza das dornas com maior frequência (Chisti, 1994; 1999, 2010; 2014; Schimidell e Facciotti, 2001). O processo de fermentação contínua

caracteriza-se por possuir uma alimentação contínua de meio de cultura a uma determinada vazão constante, sendo o volume da reação mantido constante através da retirada contínua de caldo fermentado. A desvantagem desse processo é o controle microbiológico e a dificuldade de limpeza das dornas, o que faz com que indústrias de alimentos optem por processos em batelada e batelada alimentada (Chisti, 1994; 1999, 2010; Schmidell e Facciotti, 2001).

Uma fermentação é influenciada por diversos fatores, incluindo temperatura, pH, natureza e composição do meio, oxigênio e dióxido de carbono dissolvidos, conduções operacionais, tais como batelada alimentada ou contínuo. Essas variações interferem diretamente na taxa de fermentação, variedade e rendimento do produto, nas propriedades sensoriais (aparência, sabor, cheiro e textura), geração de toxinas, qualidade nutricional e outras propriedades físico-químicas (Chisti, 2014; Xiang *et. al*, 2022).

3.3 Fermentação alcoólica

A fermentação alcoólica refere-se à produção de etanol, através de moléculas de piruvato oriundas da glicólise, e é provocada por diversos microrganismos, incluindo fungos filamentosos, leveduras e bactérias ácido lácticas. Destes, as leveduras são o principal tipo de microrganismos utilizados para a produção de bebidas alcoólicas (Fleet, 2003, Torija *et. al*, 2003; Nout e Kiers, 2005; Zamora, 2009). Dentre as leveduras, a espécie *Saccharomyces cerevisiae* é a mais importante do ponto de vista econômico. Ela é bastante utilizada na produção de cervejas, vinhos, e outras bebidas alcoólicas, além de desenvolver um papel importante na maturação da massa de pão, produzindo gás carbônico para seu crescimento (Fleet, 2003; Nout e Kiers, 2005; Clavijo *et. al*, 2010; Day *et. al*, 2016).

Na produção de bebidas alcoólicas, como o vinho e a cerveja, e na produção de pães e bolos, a fermentação alcoólica tem um papel fundamental. No primeiro caso, a produção de etanol que ocorre neste tipo de fermentação é o passo mais importante; enquanto para indústria panificadora, o efeito provocado pela libertação de dióxido de carbono, nesta reação, é extremamente útil e indispensável (Lee, 2009).

Embora a reação principal seja a conversão de açúcares redutores em etanol e dióxido de carbono, muitos outros produtos secundários são obtidos ao longo do processo, como glicerol, ácidos orgânicos, álcoois superiores, ésteres e outros componente voláteis que conferem as características especiais a cada produto formado (Ribéreau-Gayon *et. al*, 2006 e Gavaglia *et. al*, 2022).

Após a fermentação alcoólica e sob exposição ao oxigênio, a fermentação acética acontece e o etanol, formado durante a fermentação alcoólica, é transformado, por bactérias acéticas, em ácido acético liberando água. Os vinagres são o resultado da fermentação acética de fruta e de bebidas alcoólicas (Lee, 2009).

Aponte *et. al* (2020) fizeram um estudo com o objetivo de avaliar a dominância e implantação de culturas *starters* para fermentação do vinho. Os autores monitoraram *starters* comerciais de *Saccharomyces cerevisiae* e linhagens selvagens durante a fermentação dos mostos e constataram que as fermentações espontâneas eram conduzidas inicialmente por leveduras não *Saccharomyces* e posteriormente, após cinco dias, por elevado número de *S. cerevisiae*, que apresentaram desempenhos superiores aos registrados para linhagens comerciais. O estudo destacou ainda o baixo domínio e prevalência de algumas culturas iniciais comerciais.

Han *et. al* (2020) comparam as características físico-químicas e sensoriais abrangentes de bebida alcoólica de *greengage* (GAB), grupo de cultivares da ameixeira, fermentada por três linhagens de comerciais de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, a saber, *Angel RV171*, *Lalvin 71B* e *Angel BV818*, a fim de determinar a linhagem mais adequada para produção da bebida. Foi feita a monitoração das principais propriedades físico-químicas da bebida, como teor de açúcar total, ácido total, álcool, ácido ascórbico e proteína total, e as características sensoriais foram feitas pelo método de 100 pontos e avaliadas por 20 provadores treinados quanto a aparência, tipicidade, sabor e aroma. Os autores sugeriram a cepa *Lalvin 71B* como a mais adequada para fermentação da bebida, com a maior concentração de álcool, de 14,31%, teor de açúcar residual de 5,72g/L e teor de ácido total de 9,72g/L, se mostrando bastante eficiente, além de abundância de compostos voláteis de sabor detectados, como ésteres e álcoois (290,67 mg/L). A análise sensorial da bebida fermentada por *Lalvin 71B* resultou em uma bebida de aroma mais forte, de sabores doce e azedo mais confortáveis, segundo os avaliadores, obtendo a maior pontuação (84,50 pontos), com coloração amarelo claro, transparente e límpida.

3.4 Fermentação láctica

Assim como no processo fermentativo alcoólico, na fermentação láctica os organismos que vivem em condições de anaerobiose utilizam a via fermentativa para degradar as moléculas de piruvato obtidas pela glicólise, no entanto a principal característica é a redução do piruvato à ácido láctico como produto. Nos diferentes tipos de fermentação, realizados por diferentes tipos de células microbianas o que os definem são os produtos formados.

A fermentação láctica foi, possivelmente, um dos primeiros processos biológicos cujas propriedades benéficas foram descobertas e utilizadas pelos seres humanos (Lee, 2009). Existem diversos alimentos produzidos com base neste tipo de fermentação, são exemplos disso os iogurtes, os leites fermentados e o kefir.

Gocer *et. al* (2023) avaliaram amostras de kefir na fermentação em leite de nozes e leite de amêndoas para comparar com a fermentação em leite de vaca. Nos resultados foram observadas as diferenças nos parâmetros microbiológicos e reológicos de amostras. No leite de amêndoas os resultados mantiveram os microrganismos benéficos na microflora do kefir, com alta viabilidade do probiótico ($>10^7$ UFC g⁻¹), além disso os valores de viscosidade foram maiores no kefir de amêndoa do que nas outras amostras. Assim, o kefir de leite de amêndoa apresentou melhores características microbiológicas e reológicas.

Li *et. al* (2023) estudaram a cinética de crescimento e alterações metabólicas, assim como a atividade antioxidante, de probióticos em iogurte fermentado a base de cevada. Os autores utilizaram enzimas de cevada misturadas com concentrado de soja para preparação do iogurte, usando culturas de *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, com contagem viável de $1,9 \times 10^8$ UFC/mL para cada cepa, e obtiveram um iogurte com maiores concentrações de compostos fenólicos totais e flavonoides. Dessa forma obtiveram um produto com maior atividade antioxidante e pontuações sensoriais mais altas em comparação ao iogurte de controle, feito com açúcar branco e concentrado proteico de soja.

3.5 Bebidas Fermentadas

Os alimentos e bebidas fermentadas têm sido um componente integral da dieta humana desde 8000 a.C. e representam quase um terço do consumo mundial de alimentos, podendo chegar até 40% para algumas populações. Sua origem antecede a milhares de anos e são anteriores à existência de registros escritos de sua produção e consumo (Chilton *et. al*, 2015 e Xiang *et. al*, 2019)

De acordo com Franz *et. al* (2014), os alimentos e bebidas fermentadas tradicionais são, étnica e economicamente, os alimentos mais valiosos produzidos e consumidos em todos os países, sendo que a África se destaca por sua história antiga de produção de alimentos fermentados tradicionais, incluindo leite, e talvez seja o continente com a maior variedade de alimentos fermentados lácteos e alcalinos, que formam uma parte substancial da dieta de seus habitantes. Esses alimentos fermentados têm sido parte da dieta humana desde os tempos

antigos e permanecem importantes em muitos países em desenvolvimento, onde são parte integrante das culturas e tradições locais (Chilton *et. al*, 2015; Sanlier *et. al*, 2017).

A diversidade de microbiota e matérias-primas, bem como os diferentes tipos de processos de fermentação, levam a uma gama de bebidas fermentadas disponíveis nos mercados de alimentos globais, como: à base de grãos (cervejas, saquês e vinagres), vegetais (*ales* e algumas cervejas), frutas (cidras, vinagres e aguardente), mel (hidromel), laticínios (bebidas de kefir e iogurtes), chás (kombuchas) e soja (molhos de soja), que possuem propriedades sensoriais distintas pelo fato de serem produzidos a partir de fontes alimentares locais e preferência cultural (Xiang *et. al*, 2019).

Segundo Barghini (2018), as bebidas fermentadas, encontradas sob diversos nomes na América do Sul, como *cauim*, *chicha* e *caxiri*, eram alimentos líquidos fermentados, altamente nutritivos, desintoxicantes e com poder de proteção da flora intestinal. O autor ainda ressalta que somente em situações excepcionais essas bebidas sofriam um processo de fermentação mais longo, adquirindo alto teor alcoólico.

As bebidas fermentadas de baixo teor alcoólico, ou nenhum, são capazes de promover a saúde, podendo estar associadas à prevenção de doenças, a exemplo das cardiovasculares, cânceres, distúrbios gastrointestinais, algumas condições alérgicas e intolerâncias alimentares (Mozaffarian *et. al*, 2011; Eussen *et. al*, 2016; Marco *et. al*, 2017; Jayachandran e Xu, 2019). Tais benefícios são atribuídos aos compostos bioativos, sintetizados pelos microrganismos envolvidos na fermentação, como flavonoides, compostos fenólicos, antioxidantes e antocianinas (Abaci *et. al*, 2022; Rosa *et. al*, 2023). Estes compostos têm despertado a atenção da população que busca maior qualidade de vida, e cuja preferência alimentar tem mudado progressivamente ao aumentar a procura por bebidas menos alcoólicas, menos açucaradas e mais saudáveis (Nutakor *et. al*, 2020 e Zion, 2020; Abaci *et. al*, 2022).

Shudong *et. al* (2022) avaliaram o potencial bioativo de bebida vegetal a base de proteína de soja fermentada com *Bacillus coagulans*, isolado do repolho, e identificaram a presença de alguns dos principais metabólitos bioativos, incluindo o ácido 2-hidroxicinâmico, D-Glucarato, L-triptofano, desoxicitidina, ácido imidazol propiônico dentre outros. Neste contexto, Santos *et. al* (2021) também avaliaram o potencial bioativo de bebida fermentada, utilizando o maracujá para a fermentação alcóolica, assim como sua aceitação sensorial, usando escala hedônica híbrida de nove pontos (1= desgostei extremamente e 9= gostei extremamente), e intenção de compra, em escala categórica de 5 pontos (1= certamente não compraria e 5 = com certeza compraria). Os autores identificaram vinte e um compostos fenólicos, entre eles ácidos fenólicos, flavonóis e estilbenos, atividade antioxidante promissora e a pontuação

sensorial obtida foi muito satisfatória, situando-se na categoria “gostei ligeiramente”, com pontuação 6, e no teste de intenção de compra com pontuação 4 (“possivelmente compraria”).

Araújo *et. al* (2023) desenvolveram uma bebida não láctea fermentada com kefir sabor morango para prever o teor de compostos fenólicos, antioxidantes e antocianinas no produto fermentado e comprovaram teores de compostos fenólicos de 0,85, 1,72 e 2,52 mg de ácido gálico/100mL; antioxidantes de 0,67, 0,74 e 2,02 %; e antocianinas totais de 0,18, 0,89 e 3,11 mg de cianidina-3-glicosídeo/100mL,

De acordo com a EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) (2022), a pesquisa anual de tendências realizada pela Tetra Pak no Brasil, na qual 2.300 indivíduos foram ouvidos, constatou que mais da metade dos entrevistados (58%) aumentou o consumo de produtos que reforçam o sistema imunológico, e outros 39% desejam fazer isso, e nesse cenário os produtos lácteos fermentados representam 37% das preferências.

3.5.1 *Bebidas fermentadas alcoólicas*

Bebida fermentada alcoólica é aquela obtida por processo de fermentação alcoólico, com graduação alcoólica acima de meio por cento em volume até cinquenta e quatro por cento em volume, a vinte graus Celsius (Brasil, 1994). As bebidas fermentadas mais conhecidas consistem em vinhos, cervejas e destilados, como a cachaça, que dentre as bebidas fermentadas de teor alcoólico, sem dúvida é uma das mais conhecidas no Brasil (Boscolo *et. al*, 2000; Nout, 2014; Silva *et. al*, 2020).

Os vinhos estão entre as bebidas alcoólicas mais antigas conhecidas e são produzidos pela fermentação de suco de frutas (mais comumente a uva) por leveduras, que podem ser adicionadas ou estar presentes naturalmente nas cascas das uvas. Elas fermentam os açúcares naturais do suco e produzem etanol e gás carbônico. O hidromel também é uma bebida fermentada alcoólica, e é considerado um vinho feito a partir dos açúcares no mel diluídos, enquanto o saquê é feito pela fermentação do arroz (Nout, 2014 e Day *et. al*, 2016).

A cerveja é a bebida fermentada resultante do mosto da cevada, preparada pela maceração do malte e adição de lúpulo, que contribui com uma desejável nota amarga. É a terceira bebida mais popular do mundo depois da água e do chá, sendo o produto alcoólico mais importante produzido em todo o mundo, com consumo global liderado pela China, seguida pelos Estados Unidos e Brasil, embora o maior consumo per capita ocorra em países europeus como República Tcheca, Áustria ou Alemanha, com mais de 100 litros por ano (Anderson *et.*

al, 2009; Rivaroli *et. al*, 2021, Rodríguez *et. al*, 2022 e González *et. al*, 2023). Sua fabricação é baseada na ação de enzimas e na atividade microbiológica que ocorre durante o processo de maltagem e fermentação do mosto, feita pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* para converter os açúcares fermentáveis, como glicose, sacarose, maltose e maltotriose em etanol e dióxido de carbono, além disso as leveduras também geram uma gama de compostos aromáticos (Bamforth, 2009 e Wauters *et. al*, 2022). O teor alcoólico de uma cerveja pode variar desde 0,05% nas chamadas cervejas sem álcool, até 14,9% de álcool por volume, na cerveja suíça *Samichlaus*. Contudo, na maioria das cervejas mundialmente consumidas o teor de álcool fica em torno de 5%, e as americanas em torno de 4% (Júnior *et. al*, 2009).

Canakapalli (2019) desenvolveu uma cerveja artesanal de gengibre, *ginger beer*, e analisou o microbioma da bebida fermentada para detecção de probióticos e segurança para consumo humano. O tempo utilizado pelo autor para fermentação das bebidas foram, uma, duas e três semanas, e foi constatado que os teores de álcool na bebida eram baixos, uma vez que para o maior tempo de fermentação o teor máximo de álcool foi 0,65% v/v, quando comparados a uma cerveja sem álcool que tem cerca de 0,5% v/v. Também, a presença de bactérias e leveduras foi bastante alta, com a presença do gênero *Trabulsiella*, com potencial probiótico, concluindo que a bebida não continha nenhum indício que a fizesse parecer insegura ao consumo humano.

As bebidas destiladas são bebidas fermentadas alcoólicas que evoluíram um pouco mais tarde que o vinho e a cerveja. As primeiras bebidas destiladas eram derivadas de vinho e seu teor alcoólico era baixo. Mais tarde, outras fontes, mais baratas que o vinho, foram testadas incluindo cervejas derivadas de fontes fermentadas de carboidratos como trigo, centeio, e bagaço de uva, o que levou ao desenvolvimento de uma série de destilados nacionais, como a cachaça. (Day *et.al*, 2016).

Diversas bebidas alcoólicas de fontes variadas estão sendo feitas e estudadas. An *et. al* (2022) fizeram uma bebida fermentada de caqui e analisaram os compostos voláteis na bebida fresca e armazenada em diferentes temperaturas (10, 20 e 30°C). Eles identificaram uma diversidade de compostos não voláteis e voláteis tais como o etanol e álcool iso-amílico, que foram os álcoois majoritários. Os autores relatam que o teor alcoólico da bebida fermentada de caqui foi maior no armazenamento do que na bebida fresca, devido à fermentação contínua da levedura na bebida em temperaturas mais altas, resultando na transformação contínua do açúcar em álcool. A concentração aumentou de 11,98 para 12,64, 13,68 e 12,68% em volume, nas temperaturas de 10, 20 e 30°C respectivamente.

Almeida *et. al* (2020) estudaram uma bebida alcoólica de mangaba, variando o teor de sólidos solúveis (15° a 18° Brix) e concentração de levedura (20 a 30 g/L), resultando em teores alcoólicos de 5,67% (para menor valor de sólidos solúveis e menor concentração de leveduras), 5,43% (para menor valor de sólidos solúveis e maior concentração de leveduras) 7,30% (para maior valor de sólidos solúveis e menor concentração de leveduras) e 7,70% (para maior valor de sólidos solúveis e maior concentração de leveduras). Os autores concluíram a viabilidade na elaboração de fermentados alcoólicos de mangaba, uma vez que todas as formulações apresentaram contagem mínima de micro-organismos nocivos à saúde, com ausência de *Salmonella spp.* e valores menores que 3 NMP, na tabela do Número Mais Provável, para Coliformes a 35 e 45°C. Quanto à parte sensorial do estudo, feita em escala hedônica estruturada de nove pontos, os autores revelaram bons resultados (médias superiores a 5: não gostei/ nem desgostei) para todos os parâmetros analisados e boa intenção de compra, com média superior a 3 (talvez compraria/ talvez não compraria) em uma escala de 5 pontos.

Francesco *et. al* (2021) mostraram em seus estudos uma nova bebida fermentada alcoólica que é a fusão da cerveja e do vinho, conhecida como Italian Grape Ale (IGA). Os autores, ao analisarem 22 amostras de IGA's, concluíram que a melhor estratégia para obter o sabor entre o vinho e a cerveja foi a maturação em barricas de madeira associadas a fermentação espontânea. Estas bebidas possuem alto teor alcoólico, variando de 5,7 a 10,3% v/v, baixo amargor e baixo pH, com valores menores que 4,1.

Székelyhidi *et. al* (2022) estudaram o efeito benéfico da dosagem de hortelã-pimenta e capim-limão sobre o teor de antioxidantes totais e polifenóis durante a fermentação alcoólica à base de ervas, e relataram que a dosagem de capim-limão aumentou 77,86% o teor de antioxidantes e 70,98% o teor de polifenóis ao final do processo fermentativo. Quanto à dosagem de hortelã-pimenta, o aumento foi de 72,80% no teor de antioxidantes e 72,05% de polifenóis. Os autores concluíram que a fermentação combinada com a dosagem de ervas pode aumentar a biodisponibilidade de produtos funcionais e desenvolver novos alimentos com potencial benéfico a saúde populacional.

3.5.2 Bebidas fermentadas não alcoólicas

A bebida fermentada não alcoólica é aquela com graduação alcoólica até meio por cento em volume, a vinte graus Celsius (Brasil, 1994). O desenvolvimento dessas bebidas tem aumentado muito devido a boa aceitabilidade por consumidores de todas as idades e seus benefícios à saúde, uma vez que contêm bioativos importantes com propriedades funcionais, e

microrganismos com potencial probiótico (Derkyi *et. al*, 2018; Bushan *et. al*, 2021; Brahma *et. al*, 2022). As tendências globais de consumo de alimentos com propriedades funcionais foram enfatizadas devido as mudanças socioeconômicas, o aumento da expectativa de vida média e a demanda por melhor qualidade de vida com baixos gastos (Nazir *et. al*, 2019; Sknepnek *et. al*, 2021, Wu *et. al*, 2021 e Qiu *et. al*, 2023). O mercado de bebidas funcionais é o mercado que mais cresce entre todas as categorias de alimentos funcionais e estima-se que essas bebidas correspondam a 40% de todas as demandas do consumidor até 2025 (Nazir *et. al*, 2019 e Tireki, 2021).

De acordo com Tireki (2021), as bebidas não alcoólicas têm impacto significativo na economia global, com volume médio consumido de 109,5L por pessoa em 2020. O volume desse mercado deverá crescer mais de 6,8% ao ano e deverá ser de 935.758,3 milhões de litros até 2025. Em função da alta demanda, diversos estudos têm sido realizados acerca desses produtos.

Pswarayi *et. al* (2022) mostraram em seus estudos que as bebidas fermentadas de cereais não alcoólicas, que são tradição na dieta das comunidades rurais da África Oriental, Central e Austral, obtidas através de mingau, são importantes para a saúde e fazem parte da dieta básica dessa população. Estas bebidas contêm *Lactobacillus* e leveduras.

As bebidas fermentadas não alcoólicas a exemplo das bebidas de kefir e a kombucha, ganharam muito espaço entre os consumidores pois, além de serem totalmente naturais são bebidas gaseificadas de sabor apreciado que conferem propriedades probióticas, e são opções para substituir os refrigerantes e bebidas artificiais comercializados atualmente (Waldherr *et.al*, 2010; Chakravorty *et. al*, 2016; Coelho *et. al*, 2020; González *et. al*, 2021).

A kombucha é uma bebida fermentada pelo *SCOBY* (*Symbiotic Colony Of Bacteria and Yeasts*), um biofilme de celulose constituído de colônias simbióticas de diversas bactérias e leveduras, enquanto as bebidas de kefir são fermentadas por grânulos de polissacarídeos enriquecidos com esses microrganismos. Ambos servirão como inóculo a uma mistura de água e sacarose que, após algumas horas de incubação anaeróbia à temperatura ambiente, resultará em bebidas efervescentes e turvas, levemente doce e de baixa acidez (Laureys, 2014; Mukadam *et. al*, 2015 e 2016; Di Filippis *et. al*, 2018; Coelho *et. al*, 2020 e Moretti *et. al*, 2022). Essas bebidas ganharam popularidade devido às alegações de efeitos terapêuticos contra uma série de doenças e efeitos benéficos já foram demonstrados. (Yang *et. al*, 2009 e Bhattacharya *et. al*, 2013 e Selvaraj *et. al*, 2023).

Diversos estudos exploram os benefícios dessas bebidas fermentadas não alcoólicas assim como os microrganismos comumente encontrados. Liu *et. al* (2022) estudaram as

propriedades funcionais e características sensoriais de kombucha feito com substratos de ervas, frutas, vegetais e algas. Os autores concluíram que a fermentação pode não apenas diversificar os produtos tradicionais de kombucha, sensorialmente, mas também aumentar a bioacessibilidade dos bioativos e aumentar as atividades biológicas como antioxidante, imunomodulador, antiproliferativo e antidiabético. Lazarolli e colaboradores (2023) avaliaram a recuperação e valorização de subprodutos da indústria alimentícia através da aplicação de folhas de oliveira na fabricação de chá de kombucha. Os autores conferiram amostras de kombucha com maior atividade antioxidante, mais ricas em compostos bioativos e com teores elevados de fenólicos totais, e concluíram que a presença da folha de oliveira teve um impacto significativo nas propriedades nutricionais e perfil sensorial da bebida.

Waldherr *et. al* (2010) identificaram as bactérias em grãos de kefir, que incluem *Lactobacillus spp.*, *Lactococcus spp.*, *Leuconostoc spp.*, *Enterobacter spp.*, e *Gluconobacter spp.*, e as leveduras, que incluem *Saccharomyces spp.*, *Zygosaccharomyces spp.*, *Hanseniaspora spp.*, e *Candida spp.* Alraddadi *et. al* (2022), avaliaram as comunidades microbianas em grãos de kefir ao longo do tempo, e encontraram as bactérias *Lactobacillus kefirifaciens* e *Lactococcus lactis*, e as leveduras *Torulaspora delbruekii* e *Kaz turicensis*. Yilmaz *et. al* (2022) estudaram bactérias lácticas derivadas de kefir em laticínios, em relação aos benefícios à saúde. Os autores concluíram que as bactérias ácido lácticas compõem grande parte da microbiota do kefir, sendo responsáveis por efeitos benéficos em relação a doenças cardiovasculares, diabetes, obesidade, modulação do sistema imunológico, dentre outros. Além disso, peptídeos bioativos e produtos metabólicos do kefir mostraram resultados promissores como componentes benéficos à saúde (Antunes *et. al*, 2020 e Hamida *et. al*, 2021). Youn *et. al* (2022) em seus estudos, relatam a bebida de kefir com efeitos antiobesidade, redução de colesterol e efeitos antidiabéticos. Yildiz *et. al* (2022) realizaram um estudo com o objetivo de esclarecer os benefícios do kefir no processo de cicatrização de feridas em camundongos e obtiveram resultados positivos bastante satisfatórios sobre os fatores que desempenham papel na cicatrização de feridas, acelerando o processo de regeneração.

Muitas outras pesquisas vêm sendo realizadas sobre o isolamento e caracterização de microrganismos fermentativos probióticos, bem como sua encapsulação para início a uma cultura de fermentação (Véron *et. al*, 2017; Piraine *et. al*, 2022). González *et. al* (2021), isolaram a população de leveduras presentes em beringela Almagro de duas fábricas diferentes na Espanha, fermentadas naturalmente em solução de salmoura e obtiveram contagens bastante elevadas, 10^7 e 10^8 UFC/mL, para fábrica A e 10^2 para fábrica B. De um total de 380 isolados, os autores identificaram apenas oito espécies diferentes como *Pichia occidentalis*,

Kazachstania exigua, *Kazachstania unispora*, *Zygosaccharomyces baili*, *Candida ethanolica*, *Pichia kudriavzevii*, *Issatchenkia orientalis* e *Pichia mashurica*. Buatong *et. al* (2022) isolaram e selecionaram bactérias ácido lácticas de alimentos fermentados indígenas e tailandeses, para rastrear cepas antimicrobianas e produtoras de antioxidantes para o uso como cultura inicial de fermentação em bebidas funcionais de amêndoa. *Lactiplantibacillus plantarum* foi a cepa isolada selecionada pelos autores para aplicação no suco de amêndoa, e foi considerada ideal pois atendeu os padrões exigidos para consumo de bebidas fermentadas, mostrando-se uma cultura promissora para produção de bebida probiótica funcional.

3.5.3 *Ginger ale*

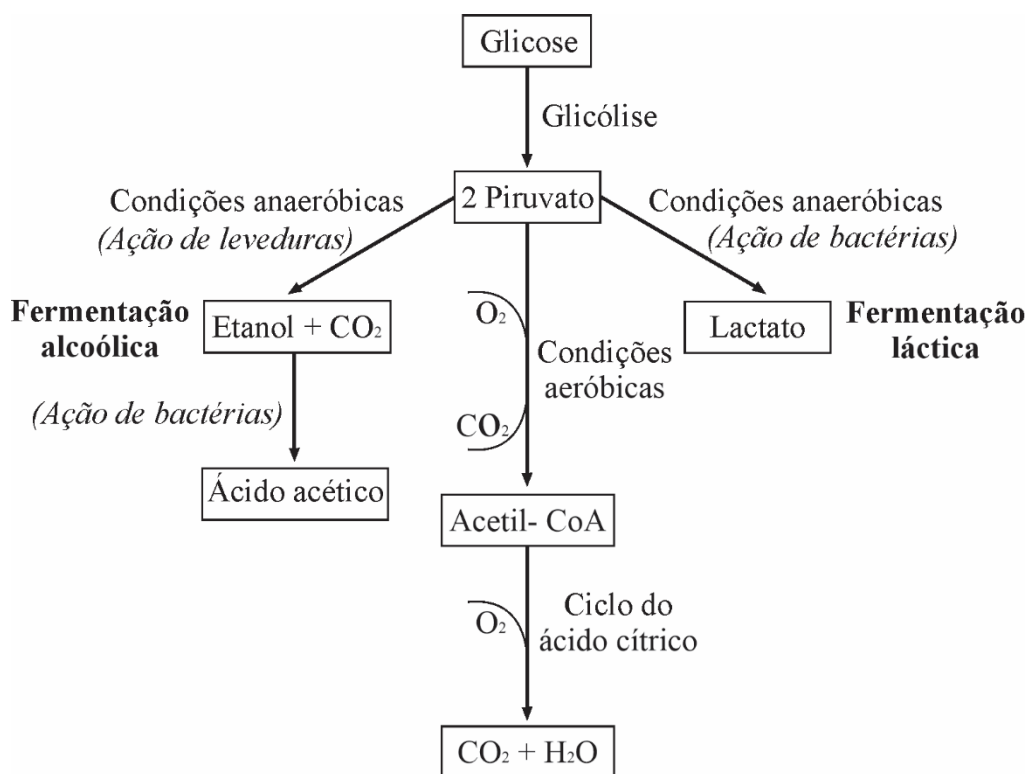
As bebidas de gengibre, as chamadas *ginger ale*, foram criadas pelo farmacêutico Jamer Vernor, em Detroit – Michigan em 1890. Seu crescimento corporativo fez parte da história de Michigan, quando um farmacêutico inventou um refrigerante de gengibre exclusivo conhecido como *Detroit's Drink* (Ebner, 1919; Poremba, 2002; Rouch, 2003 e Fasoli *et. al*, 2012).

Ao cultivar os microrganismos naturais presentes no gengibre, via fermentação espontânea pela microflora natural, com nutrientes e substratos apropriados, um ambiente propício é criado para a sobrevivência desses microrganismos, uma combinação envolvendo bactérias e leveduras dando início a um *starter*, ou cultura fermentativa, que poderá ser utilizada para fermentar outras soluções e substratos desejáveis, conhecido como *ginger bug* (Katz, 2014; Xiang *et. al*, 2019; Torres *et. al*, 2020; Pandey *et. al*, 2022; Sulistyarsi *et.al*, 2022). Este processo de coleta da cultura selvagem do gengibre, para formação do *starter ginger bug*, pode durar aproximadamente 5 dias, de modo que o *starter* começa a produzir gás carbônico e a cultura fica bastante efervescente (Katz, 2014 e Sulistyarsi *et.al*, 2022).

A associação de leveduras e bactérias permite a utilização de substratos em diferentes vias metabólicas, resultando em uma variedade de compostos bioativos presentes na bebida, como compostos fenólicos (Jakubczyk *et. al*, 2020; Kitwetcharoen *et. al*, 2023). As leveduras e bactérias presentes hidrolisam a sacarose do meio em glicose e frutose através da enzima invertase. A levedura produz etanol via glicólise utilizando frutose como substrato primário e as bactérias do ácido acético utilizam a glicose, para produzir ácidos, como o glucônico, e o etanol, produzido pela levedura, para produção do ácido acético (lactato) (Dufresne *et. al*, 2000). O ácido acético é o composto orgânico responsável pelo sabor e aroma avinagrado comumente associado as bebidas fermentadas, como na kombucha e *ginger ale* (Nguyen *et. al*,

2015). A Figura 3.1 mostra as possíveis vias metabólicas envolvidas no processo de produção da bebida fermentada *ginger ale*.

Figura 3.1. Vias metabólicas envolvidas no processo de produção da *ginger ale*



Fonte: Autora

Sulistyarsi *et.al.* (2022) produziram uma bebida fermentada de gengibre, *ginger ale*, a partir de três tipos de gengibre da Indonésia, com fermentação por sete dias a temperatura ambiente. Eles desenvolveram a cultura selvagem, *ginger bug*, pelo processo em batelada não alimentada e determinaram a presença de bactérias probióticas e compostos fenólicos contidos na bebida fermentada, além de avaliá-la sensorialmente. Os autores relataram a presença de bactérias probióticas incluindo *Lactobacillus*, *Streptococcus* e *Micrococcus*, além da presença de flavonas fenólicas, especialmente luteolina. Os valores de açúcar redutor encontrados variaram de 3,65, 6,34 e 9,78% e pH de 3 e 4, para os diferentes tipos de gengibre utilizados. Os autores encontraram na bebida níveis de álcool de 11,04, 12,31 e 14,8%, eles relatam ainda a necessidade de conhecer mais profundamente a bebida para poder produzi-la com baixos, ou nenhum, níveis de álcool a ponto de atenderem crianças e idosos a fim de causarem efeitos benéficos a saúde. Quanto aos testes sensoriais, os autores constataram que a bebida com teor de açúcar redutor maior foi mais bem aceita, e reforçam a necessidade de se fazer mais estudos

para desenvolver uma *ginger ale*, de fermentação natural, que possa ser apreciada pela população em geral, desde crianças a adultos. Barghini *et. al* (2018) trazem em seus estudos que as bebidas fermentadas que sofrem processo de fermentação mais longo, adquirem alto teor alcoólico.

Canakapalli (2019) analisou o microbioma da *ginger beer* artesanal, fermentada por uma semana a temperatura ambiente com o *ginger bug*, feito em batelada alimentada, para detecção de probióticos e segurança para consumo humano, e constatou na bebida teores de álcool muito baixos, semelhantes à de uma cerveja sem álcool ou bebida fermentada não alcoólica, com valores de 0,65 e 0,3% de álcool por volume. Constatou também a presença de leveduras e bactérias com potencial probiótico, como do gênero *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Trabulsiella*.

Baudar (2018) estudou a fermentação espontânea de diversas frutas, vegetais e hortaliças, para produção de bebidas fermentadas alcoólicas e não alcóolicas. Ele desenvolveu o *ginger bug*, com alimentação contínua do *starter* para bebida fermentada de fruta. O autor relata ser uma bebida refrescante e com sabor agradável, com potencial benéfico e muito promissor à saúde humana, devido a microrganismos probióticos presentes nela.

Katz (2014), em seus estudos com fermentação espontânea de frutas, vegetais e hortaliças, desenvolveu o *ginger bug* para produção de diversas bebidas fermentadas, alcoólicas ou não. O autor relata que a bebida fermentada com cultura de gengibre é bastante refrescante e saborosa, como um refrigerante natural, e possui microrganismos benéficos bastante promissores à saúde humana. O autor cultivou e desenvolveu várias culturas selvagens para fabricação de bebidas gaseificadas, obtendo sucesso em todas elas.

Adeniran *et. al* (2010) estudaram a atividade antimicrobiana de dois isolados de probióticos bacterianos em bebidas à base de gengibre. Os autores verificaram que o gengibre adicionado de probiótico, bebidas de gengibre com alho, bem como bebidas de gengibre sem os probióticos inibem o crescimento dos patógenos de origem alimentar.

3.6 Microrganismos fermentativos

Existem organismos que vivem em condições de anaerobiose e, como tal, apenas utilizam a via fermentativa para degradar as moléculas de piruvato, são exemplos disso as bactérias e leveduras. Estes microrganismos são largamente utilizados nos processos fermentativos, no entanto, as leveduras possuem maior destaque, sendo a espécie *Saccharomyces cerevisiae* a mais conhecida (Nout *et. al*, 2014 e Day *et. al*, 2016).

Os fungos são organismos eucariontes, aclorofilados e aeróbios. Todos são heterotróficos, podendo ser saprófitos, parasitas ou simbioses. São divididos em dois grandes grupos, os unicelulares, que são as leveduras, e os pluricelulares, os bolores (Raven *et. al* citado por Beux, 1995). Já as bactérias fermentativas, mais comumente as bactérias ácido lácticas, são seres procariontes e unicelulares que transformam, por hidrólise, os polímeros em monômeros, e estes em acetato, hidrogênio, dióxido de carbono, ácidos orgânicos de cadeia curta, aminoácidos e outros produtos. Há ainda outro grupo de bactérias denominadas acetogênicas, produtoras de hidrogênio, que dão continuidade à fermentação iniciada pelas primeiras bactérias fermentativas, convertendo os produtos gerados por elas (aminoácidos, açúcares, ácidos orgânicos e álcoois) em acetato, hidrogênio e dióxido de carbono (Purves *et. al*, 2003).

De acordo com Anton *et. al* (2016), ambientes com valores baixos de pH impedem o crescimento da maioria dos resíduos e organismos patogênicos, também favorece o crescimento de leveduras e bactérias probióticas do ácido láctico.

3.6.1 Leveduras

Para o desenvolvimento destes organismos é necessária a presença de nutrientes como carboidratos, proteínas, vitaminas e sais minerais. O pH ideal está em torno de 4,5 a 5,0, embora sobrevivam na faixa de 3,0 a 7,5. Quanto a temperatura, elas geralmente se desenvolvem entre 20° e 30°C e morrem a 45° ou 47°C. As leveduras são consideradas anaeróbicas facultativas, na presença de oxigênio elas se desenvolvem mais rapidamente produzindo dióxido de carbono (CO₂) e água (H₂O), e na ausência elas crescem mais lentamente eliminando etanol, CO₂ e H₂O. As leveduras mais comuns em alimentos e bebidas são: *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulaspora*, *Candidas*, *Debaromyces* e *Mycoderma* (Leitão, 1988; Guzel-seydim *et. al*, 2000; De Guidi *et. al*, 2023).

A *Saccharomyces cerevisiae* prevaleceu sozinha na maior parte do tempo na produção de cervejas e vinhos, devido à alta aptidão fermentativa, sendo capaz de iniciar a fermentação e concluí-la sem ser afetada por condições ambientais variáveis e adversas, além da tolerância a altas concentrações de álcool sem a produção de sabores desagradáveis (Regodón *et. al* 1997; Pretorius, 2000 e Bonciani *et. al* 2016). No entanto, esse quadro começou a mudar há algumas décadas, quando espécies de leveduras não convencionais exibiram seu potencial para participação. Alguns exemplos dessas leveduras são *Starmerella bacillaris*, *Lachancea thermotolerans* e *Metschnikowia pulcherrima*, que estão sendo cada vez mais propostas como

cultura alternativa à *Saccharomyces cerevisiae* devido a sua desejável contribuição para o processo de fermentação e características sensoriais do vinho, por exemplo (Bonciani *et. al*, 2018; Câmara *et. al*, 2019 e Gamero-Sandemetrio *et. al*, 2019).

Junior *et. al* (2021) avaliaram a capacidade de diferentes leveduras não *Saccharomyces* como *Lachancea thermotolerans*, *Metshnikowia spp.* e *Starmerella bacillaris* para produzir compostos antioxidantes como o tiol na produção de vinhos, e relataram que as leveduras não convencionais apresentaram boa capacidade de produção de tiol, principalmente a espécie *Metshnikowia spp* com 4,59 nmol/mg célula, enquanto pela *Saccharomyces* o teor foi de 3,13 nmol/mg célula. Gamero-Sandemetrio *et. al* (2019) analisaram o desempenho, capacidade fermentativa e resposta ao estresse oxidativo em várias espécies de leveduras não convencionais para produção de vinho. Os autores relatam que as defesas oxidativas foram ineficientes em espécies não convencionais, causando desempenho fermentativo inadequado para produção da levedura seca ativa e que, em geral, as leveduras não convencionais apresentaram baixos rendimentos de biomassa, exceto pela *Candida stellata* cujo desempenho foi quase 50% superior ao da cepa controle de *Saccharomyces cereviasie* e a espécie *Torulaspora delbrueckii* foi a que apresentou maior capacidade fermentativa.

3.6.2 Bactérias acéticas e lácticas

As bactérias acéticas são responsáveis pela transformação do álcool em ácido acético, na fermentação acética, conferindo o gosto característico de vinagre ao produto. Elas pertencem à família *Pseudomonodaceae*; aos gêneros *Acetobacter* e *Gluconobacter*. As principais espécies de bactérias acéticas são: *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus*, *Acetobacter xylinum*, *Acetobacter schützembachii* e *Gluconobacter oxydans*. (EMBRAPA, 2003). As principais espécies de *Acetobacter*, utilizadas na produção de vinagre, apresentam-se nas formas de bastonetes e cocos, formando correntes e filamentos. Em relação à temperatura, o melhor rendimento é obtido entre 25°C e 30°C, embora suportem temperatura mínima de 4°C a 5°C e máxima de 43°C. No entanto temperaturas inferiores a 15°C e superiores a 35°C tornam a fermentação acética muito lenta, pois reduzem a atividade bacteriana. Quanto ao álcool, a maior parte das espécies suportam até 11,0% v/v. Em relação ao ácido acético, as bactérias acéticas geralmente suportam até 10,0% (EMBRAPA, 2003; Gullo & Giudici, 2008).

Segundo Ben Hammouda *et. al* (2021), as bactérias do ácido acético, semelhantes as bactérias do ácido láctico, que são classificadas como probióticos, produzem uma variedade de

compostos, incluindo ácidos orgânicos, compostos antimicrobianos e vitaminas. A propriedade pró-saúde das bactérias acéticas também tem aplicação em compostos relevantes para a indústria alimentícia, além da síntese de ácidos orgânicos são capazes de sintetizar miglitol, um medicamento antidiabético, exopolissacarídeos, celulose bacteriana e acetano (Lynch *et al.*, 2019; Shinjoh & Toyama, 2016; Taban & Saichana, 2017; Neffe-Skocińska *et. al*, 2023).

Quanto as bactérias lácticas, ou ácido-lácticas, constituem um grupo de bactérias gram-positivas unidas por características morfológicas, metabólicas e fisiológicas. A descrição geral das bactérias incluídas no grupo são organismos procariontes, unicelulares, cocos ou bacilos, gram-positivos não esporulados e não respiratórios, que produzem ácido láctico como principal produto durante a fermentação de carboidratos (Carr *et. al*, 2002; Axelsson, 2004; Vázquez *et. al*, 2009). Os principais gêneros de bactérias ácido-lácticas são *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Aerococcus* e *Bifidobacterium*. Além disso, as bactérias lácticas são tolerantes ao ácido sendo capazes de crescer em valores de pH baixos, de 3,2, e altos, de 9,6, porém o valor ótimo de pH está entre 4 e 4,5, permitindo-lhes sobreviver naturalmente em ambientes mais ácidos, onde outras bactérias não suportariam (Carr *et. al*, 2002 e Axelsson, 2004).

As bactérias lácticas são, também, responsáveis pela melhoria da qualidade e da segurança dos alimentos onde se encontram incluídas, devido às suas propriedades antimicrobianas e probióticas. Elas possuem a capacidade de inibir o crescimento de outros microrganismos por produzirem as bacteriocinas, que são proteínas ou complexos de proteínas com atividade antibiótica, produzidas por determinadas linhagens de bactérias lácticas com capacidade de inibição de crescimento de outras bactérias indesejáveis. Outro fator envolvido nesta inibição é a produção de ácido láctico e, em alguns casos, ácido acético, que leva a uma diminuição do pH do meio; muitos microrganismos não conseguem crescer em condições de baixo pH, sendo por isso inibidos na presença destas bactérias (Raspor e Goranovič, 2008 e Vázquez *et. al*, 2009).

Muitas das bactérias ácido lácticas são designadas de probióticas, definidas como organismos vivos que após ingestão numa certa quantidade, conferem ao hospedeiro benefícios à saúde, como a inibição de agentes patogênicos entéricos, alívio de prisão de ventre e de diarreias, estimulação do sistema imune, redução do colesterol, entre vários outros (Barboza *et. al*, 2004; Ouwehand *et. al*, 2004; Adeniran *et. al*, 2010).

Contudo, para uma determinada estirpe bacteriana ser considerada probiótica, tem que completar uma série de critérios, tais como: i) ser de origem humana; ii) sobreviver à passagem pelo trato intestinal; iii) aderir às células da mucosa intestinal; iv) possuir boas propriedades

tecnológicas; v) ser segura, tanto para uso clínico como alimentar; vi) ter efeitos benéficos comprovados na saúde do seu hospedeiro; vii) produzir substâncias antimicrobianas; e viii) permanecer viável após o processamento (Adeniran *et. al*, 2010)

Hossain *et. al* (2023) estudaram a fermentação simbiótica de bactérias lácticas e *Acetobacter orientalis* destinada à produção de iogurte enriquecido com ácido lactobiônico, com 1% de bactérias lácticas e variando de 10, 15 e 20% de *A. orientalis*. Os autores relataram que o nível de inoculação de *A. orientalis* foi o principal regulador para a produção de ácido lactobiônico no iogurte e sugerem a inoculação de 20% do microrganismo, que confere diversos benefícios a saúde.

Ji *et. al* (2023) analisaram a influência da fermentação das bactérias lácticas no aroma e composição funcional do suco de maçã usando *Lactobacillus reuteri*, e relataram a presença de 54 substâncias aromáticas, como álcoois e ésteres que afetaram de forma positiva o aroma da bebida após a fermentação. O teor de ácidos orgânicos como ácido succínico, tartárico, málico e pirúvico afetou o sabor, e o conteúdo de polifenóis aumentou, como ácido gálico e ácido protocatecuico, aumentando a capacidade antioxidante e funcionalidade da bebida após a fermentação pela bactéria.

3.7 Fontes vegetais de microrganismos

O isolamento de leveduras de ambientes e fontes naturais é realizado desde o início do século XX e as plantas são consideradas os nichos mais comuns. Características como a temperatura, pH, oxigênio e a atividade de água refletem seu o crescimento e sobrevivência (Dennis e Buhagiar, 1980).

A química dos hospedeiros representa um importante papel na distribuição das espécies de leveduras na natureza, sendo que as frutas, devido ao seu processo natural de deterioração, são consideradas excelente habitat para estes microrganismos. Dessa forma as espécies que primeiramente colonizam os frutos maduros, ou em início de deterioração, são caracterizados pelo rápido crescimento de microrganismos como *Kloeckera*, *Hanseniaspora* e *Saccharomycodes* (Lachance e Starmer, 1998).

Prada e Pagnocca (1997) realizaram um levantamento de leveduras existentes em frutos nativos da Mata Atlântica. O trabalho mostrou a predominância de alguns gêneros como *Candida* e *Kloeckera*. Em um estudo realizado por Fernandes (2008) foram identificadas as leveduras *Candida quercitrusa*, *Candida pseudointermedia*, *Pichia guilliermondii* e *Hanseniaspora uvarum* isoladas de abacaxi, banana, maçã, manga, mamão, pêssego e uva.

Resultado semelhante obtiveram Rao *et. al* (2008) ao isolar leveduras do mamão, uva, morango, figo, manga, banana e goiaba, onde os gêneros *Candida* e *Pichia* foram mais frequentes, e *Kluyveromyces*, *Issatchenkia*, *Clavispora*, *Debaryomyces*, *Metschnikowia*, *Rhodotorula* e *Cryptococcus* em menor número. *Pichia cecembensis* foi isolada do mamão papaia por Bhadra *et. al* (2007).

Segundo Inácio *et. al* (2002), no filoplano predominam as leveduras de afinidade basidiomiceta, que são caracterizados como fungos que produzem esporos, em particular do gênero *Erythrobasidium* e *Rhodotorula*. Os gêneros *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula* e *Debaryomyces* são encontrados nas águas doces e salgadas. No solo são frequentemente encontrados *Lipomyces* e *Schwanniomyces*. Quanto às flores e frutos, as espécies *Hanseniaspora uvarum*, *Kloeckera apiculata* e *Metshnikowia spp.* são encontradas com frequência (Nagahama *et. al*, 2001; Tortora *et. al*, 2005).

Os gêneros e espécies de leveduras que se desenvolvem em determinado habitat, dependem da composição do substrato presente nele, por consequência produzem diferentes concentrações de metabólitos. Dessa forma, a busca por leveduras desconhecidas é constante, pois novas estirpes podem transferir características sensoriais únicas, melhorando a qualidade final do produto (Dennis e Buhagiar, 1980; Schmidell, *et. al.*, 2001).

As hortaliças, frutas e raízes possuem uma população microbiana cuja composição depende das características de cada matriz vegetal, assim como sua origem geográfica. Essa microbiota é composta principalmente por microrganismos benéficos incluindo as leveduras (*Sccharomyces*, *Pichia*, *Candida*), bactérias aeróbicas (*Bacillues spp.* e *Acetobacter spp.*), que são responsáveis pela fermentação espontânea de frutas e vegetais crus (Torres *et. al*, 2020).

Essa microbiota pode atuar como uma cultura para fermentação. Os produtos fermentados de forma artesanal utilizando cultura selvagem, que se desenvolvem de forma espontânea, podem apresentar propriedades sensoriais únicas as quais estão relacionadas à participação da microbiota nativa. Esse fato pode atribuir alto valor agregado e vantagem competitiva mercadológica em bebidas fermentadas como, kefir, kombucha e *ginger ale* (Poremba, 2002; Rouch, 2003; Torres *et. al*, 2020)

3.7.1 *Gengibre*

Zingiber officinale é uma planta herbácea de rizoma perene constituída de água, proteína, carboidrato, cálcio, fósforo, ferro, vitaminas, óleos essenciais e fenóis (gingerol e derivados), os quais lhe proporcionam sabor característico e importância terapêutica já

comprovada em experimentos científicos, dentre as quais citam-se atividades anti-inflamatória, antiemética, anti-mutagênica, antiúlcera, hipoglicêmica e antibacteriana (Girardi e Pescador, 2010; Sen e Chakraborty, 2017; Srinivasan *et. al*, 2017; Yu *et. al*, 2022, Nutakor *et. al*, 2020).

Srinivasan *et. al* (2017) relata a ação estimulante digestiva do gengibre devido a capacidade estimuladora da produção de ácidos biliares pelo fígado, assim como outras enzimas digestivas. Além dos benefícios do trato intestinal, outros benefícios do gengibre são relatados, como efeitos antiobesidade e cardioprotetores, efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios a até prevenção do câncer (Nutakor *et. al*, 2020). Silva *et. al* (2012) descreveram a otimização do isolamento e purificação de gingeróis e observaram atividades antiproliferativas contra células tumorais, sugerindo um modelo importante para produção de medicamentos, para o tratamento contra o câncer.

O gengibre é utilizado no oriente há mais de 2000 anos com função expectorante e afrodisíaca, havendo referências nos séculos XII a XIV. Considerado tão popular quanto a pimenta do reino, foi introduzido na América logo após o descobrimento e, atualmente, possui prognóstico promissor em função do aumento da área de cultivo nos principais países produtores (Negrelle *et. al*, 2005; Girardi e Pescador, 2010).

O rizoma é nativo da Ásia, porém a China é o principal país produtor e exportador de gengibre do mundo, com produção média anual de 511.902,3 toneladas de 2010 a 2019, e volume médio anual de exportação de 492.300 toneladas (Ravindran e Badu, 2005; Li *et. al*, 2019; Nutakor *et. al*, 2020; Yu *et. al*, 2022; He *et. al*, 2023).

De acordo com a FAO (*Food Agricultural Organization*) (2019), a produção mundial de gengibre aumentou de 1.581.506 t (tonelada métrica) em 2007 para 2.156.453 t em 2014. Os dez principais países produtores são a Índia, China, Nepal, Indonésia, Tailândia, Bangladesh, Japão, Nigéria Camarões e Taiwan, sendo a China e a Índia a liderança da produção mundial de gengibre fresco, com uma participação de 30% e 19%, respectivamente. A produção mundial da raiz aumentou a uma taxa anual de 3,5% durante o período de sete anos e todos os dez principais países produtores, exceto a Nigéria, exibiram uma taxa de crescimento positiva. O Brasil já esteve no ranking nos anos 2000 e se encontrava entre os três principais países exportadores de gengibre, e ocupava o terceiro lugar de maior exportador de gengibre seco, chegava a exportar mais de 6000 toneladas métricas. Nos tempos atuais, o Brasil não se destaca mundialmente nas exportações de gengibre, seu cultivo ocorre principalmente no estado do Paraná, ocupando uma área de 100 hectares. Os produtores relatam que a principal causa das reduções de áreas ocupadas com gengibre ocorrem devido à ausência de “tecnologias limpas” nas lavouras (Almeida *et. al*, 2007; Elpo *et. al*, 2009).

Nos últimos anos, muitos novos estudos têm sido feitos com o gengibre assim como a elaboração de alimentos com a alegação de proporcionar benefícios à saúde, como atividade antioxidante, ação antimicrobiana e atividade probiótica. Ivane *et. al* (2024) identificaram os principais polifenóis no extrato da casca do gengibre e avaliaram seu impacto na vida útil de hambúrgueres bovinos refrigerados ao longo de oito dias, eles verificaram que a adição em 3% do extrato nos hambúrgueres teve um efeito positivo na estabilidade proteica e lipídica, bem como melhorou as propriedades antioxidantes durante o armazenamento. Xiong *et. al* (2024) fizeram kombucha de alcaçuz e gengibre para avaliação com base nas capacidades antioxidantes, composto fenólicos e qualidade sensorial, e constataram que as bebidas apresentaram forte capacidade antioxidante e alto teor fenólico em comparação com a kombucha tradicional. Ghasemzadeh *et. al* (2010), ao estudarem a atividade antioxidante, compostos fenólicos e flavonoides em duas variedades de gengibre concluíram que o *Zingiber officinale* possui uma alta capacidade de combate ao estresse oxidativo. Enquanto Onyeagba *et. al* (2004) comprovaram, *in vitro*, a inibição do crescimento de algumas bactérias patogênicas, ou seja, a ação antimicrobiana presente no gengibre.

No gengibre estão naturalmente presentes microrganismos, assim como as plantas e outras espécies vegetais, com uma população microbiana própria, dominante e constante, responsável pela fermentação espontânea de frutas e vegetais crus (Pennacchia *et. al*, 2008, Di Cagno, 2013).

Leonel *et. al* (2005) verificaram a composição química do rizoma do gengibre e concluíram que são constituídos por 84,37% de umidade, 1,17% de proteína, 0,86% de lipídeos, 0,93% de fibras, 0,96% de cinzas, 11,42% de amido e 0,34% de açúcares. O conteúdo de amido presente possibilita a utilização do rizoma na indústria de bebidas destiladas e fermentadas. Portanto, os rizomas são uma matéria-prima interessante para o processo de hidrólise e sacarificação para obtenção de açúcares fermentescíveis. Além disso, o amido presente na sua composição pode ser utilizado como substrato para o desenvolvimento de fungos, que podem ser isolados e analisados para uso na produção de bebidas fermentadas.

Lucio *et. al* (2009) caracterizaram genericamente o gengibre e constataram a presença de fungos, bolores e leveduras. Entretanto, não identificaram a quais gêneros e espécies pertenciam. Os estudos científicos em que são isoladas e identificadas as leveduras do gengibre são escassos, mas ao analisar sua composição química pode-se observar que apresenta condições adequadas, enquanto substrato, para o desenvolvimento de microrganismos.

Chen *et. al* (2023) estudaram os efeitos da fermentação natural e da fermentação por inoculação nas substâncias aromáticas voláteis das conservas de gengibre e relataram que 55 e

51 compostos voláteis foram detectados nas amostras de fermentação natural e fermentação por *Lactiplantibacillus plantarum*, respectivamente, como alcenos, álcoois, aldeídos e ésteres, em ambos os gengibres fermentados. Os autores detectaram também 40 e 43 gêneros bacterianos nos gengibres naturalmente fermentados e fermentados por inoculação, respectivamente, incluindo 15 gêneros bacterianos principais como *Lactobacillus*, eles relatam ainda que a abundância de gêneros bacterianos no gengibre inoculado é maior quando comparado ao de fermentação natural, provocando assim melhoria de compostos voláteis de sabor.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Unidade experimental

A unidade experimental utilizada consistiu em reatores de vidro, reator 1, e garrafas de polietileno tereftalato (PET), reator 2. O reator 1 consistiu em um recipiente de vidro, com capacidade para 3 litros, para a produção das culturas fermentativas, recoberto com tecido organza e ajustado com elástico na parte superior, para a realização da fermentação aeróbia. O reator 2 consistiu em garrafas PET, devidamente esterilizadas com ácido peracético a 0,2% em imersão por 30 minutos, com capacidade de 500 mL para o processo de fermentação da bebida final. O volume útil (grau de enchimento) dos reatores para fermentação da bebida foi de 90%, totalizando 400 mL. As garrafas foram fechadas hermeticamente e conduzidas à incubadora para fermentação.

Os reatores 1 e 2 estão representados na Figura 4.2 (Dourado, 2017). As fermentações foram realizadas em incubadora BOD (marca MYLABOR + SS), para controle de temperatura, à $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Os experimentos foram conduzidos em triplicata nos Laboratórios de Físico-química e Análise Sensorial do curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Uberlândia, campus Patos de Minas.

Figura 4.2 - Recipiente de vidro, para fermentação dos *starters*, e garrafa PET, para fermentação das bebidas, reatores 1 (a) e 2 (b), respectivamente.



Fonte: Autora

4.1.2 Reagentes e substratos

Os gengibres foram adquiridos no comércio local de Patos de Minas, junto a produtores de gengibre orgânico, livre de agrotóxicos, para garantir a microbiota natural. Os rizomas foram limpos com escova de cerdas e enxaguados somente com água corrente para retirada das sujidades maiores e não comprometimento da microbiota natural do gengibre, para a fermentação posterior. Após a higienização, os gengibres foram secos em papel toalha e armazenados sob refrigeração até sua utilização.

O suco de limão, da variedade Taiti, e a sacarose, açúcar cristal comercial, foram utilizados como substratos e adquiridos no comércio local de Patos de Minas. Todos os outros reagentes utilizados foram de grau analítico.

4.2 Métodos

4.2.1 Experimento preliminar do starter de gengibre - *Ginger bug*

Para o preparo do *ginger bug*, foram avaliadas 4 metodologias disponíveis na literatura. Inicialmente, os gengibres foram picados com o auxílio de um cortador manual, colocados no reator 1, com capacidade para 3 litros, e fechados com tecido organza para a respiração. A solução adicionada variou em concentrações de sacarose, água e gengibre, conforme cada metodologia empregada. Foi avaliada a influência das condições iniciais de substrato para a formação do *starter*. Na tabela 4.1 estão descritas as metodologias adotadas.

Tabela 4.1 - Metodologias adotadas nos preparos das culturas de fermentação.

Metodologia	Condições Iniciais	Alimentação	Tempo (dias)
Canakapalli (2019)	40g gengibre 40g sacarose 950mL água	diária (13g gengibre; 28g sacarose)	4
Sulistyarsi <i>et. al</i> (2022)	22g gengibre 28g sacarose 500mL água	-	4
Baudar (2018)	50g gengibre 100g sacarose 500mL água	2 vezes na semana (15g gengibre, 12g sacarose e 15 mL água)	7
Katz (2014)	50g gengibre 100g sacarose 500mL água	diária (25g gengibre e 25g sacarose)	7

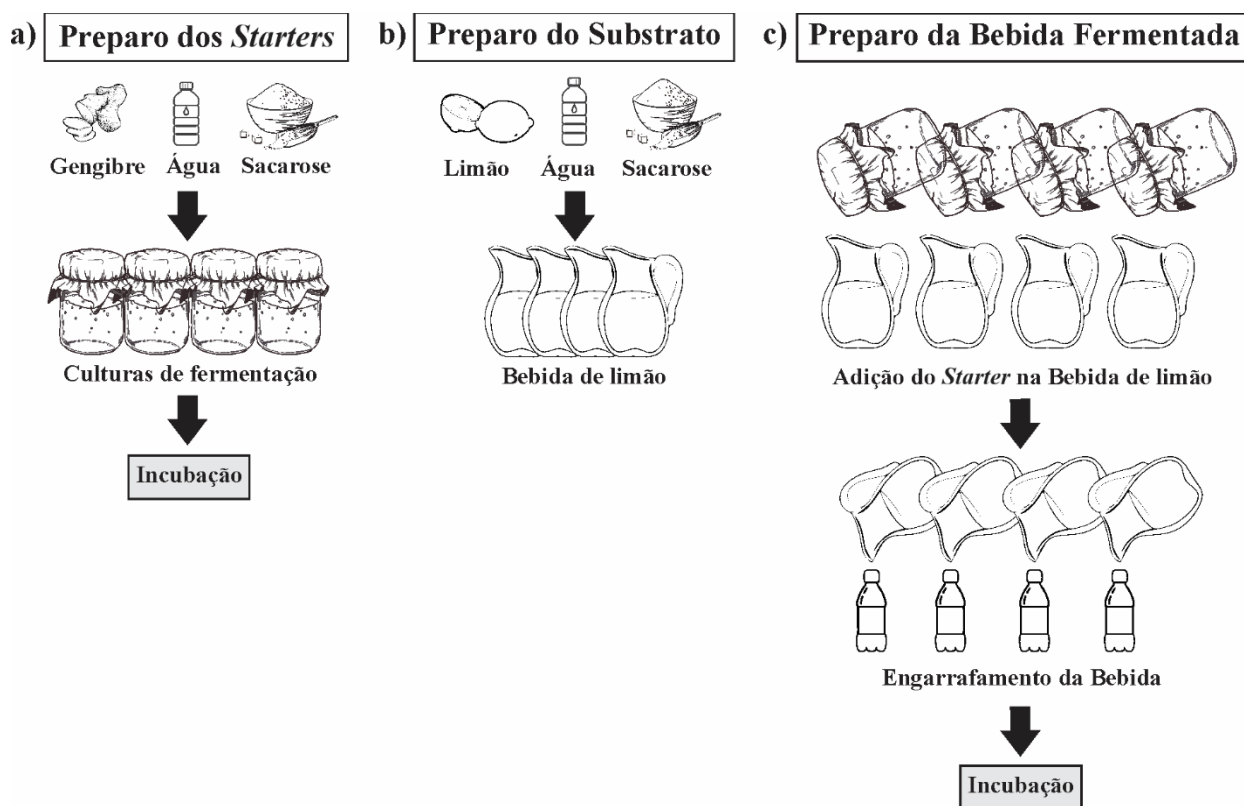
A formação de gás carbônico nos *starters* foi percebida visualmente, ao analisar de forma qualitativa a fermentação. O acompanhamento dos *starters* foi realizado diariamente com amostras destrutivas, ou seja, uma amostra foi designada somente para o dia de análise sem comprometer o volume da amostra final. Ao final do processo as amostras foram retiradas para análises microbiológicas e físico-químicas. O número de colônias formadas, a formação de gás carbônico observada e a quantidade de álcool formado, foram os indicadores escolhidos para qualificação do melhor *starter* para uso posterior.

4.2.2 Produção da bebida fermentada - *Ginger ale*

Para a bebida fermentada foi utilizado o reator 2, as garrafas PET de 500 mL devidamente higienizadas. As garrafas foram preenchidas com o suco dos limões, utilizando água filtrada e sacarose, e o *ginger bug*, que foi preparado anteriormente como cultura iniciadora, completando o volume de 90% da garrafa. Para o preparo do suco foi utilizado 17,5% de limão, 8,5% de açúcar sob o volume do substrato e o inóculo a 10% sob o volume total de suco preparado, baseando-se nas proporções utilizadas por Canakapalli (2019) e Sulistyarsi *et. al* (2022), que testaram a qualidade da bebida fermentada de gengibre, e Velicanski *et. al* (2013), que analisaram as características da fermentação de kombucha com ervas medicinais. As garrafas preenchidas foram levadas à incubadora a $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ com

monitoramento de pressão, controlada por manômetro, e fermentadas por três e cinco dias, para posteriores análises microbiológicas e físico-químicas. As análises físico-químicas foram repetidas após 30 dias de armazenamento das bebidas sob refrigeração a 5°C, para acompanhamento e vida útil. A Figura 4.3 mostra o fluxograma das etapas para produção da *ginger ale*.

Figura 4.3 - Etapas do processo de produção da *ginger ale*: a) Preparo dos *starters*; b) Preparo do substrato; c) Preparo da bebida fermentada.



Fonte: Autora

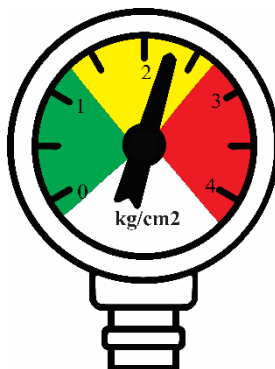
4.2.3 Análise de pressão no reator 2 - Garrafas PET

A pressão nas garrafas foi medida com um manômetro de baixa pressão marca HBS de 52 mm, recomendado para uso em garrafas PET e PET *growler*, com pressão máxima de 5 bar, representado na Figura 4.4.

O manômetro foi introduzido no gargalo de um reator (garrafa) contendo a bebida para verificação e quantificação da pressão nos tempos determinados. De forma qualitativa a pressão também foi avaliada, segundo Katz (2014), pelo manuseio da garrafa. Quando esta apresentasse

aspecto rígido à pressão com os dedos, a fermentação no interior do reator era considerada alta, atingindo o ápice, para posterior refrigeração.

Figura 4.4 - Manômetro de baixa pressão utilizado no reator 2.



Fonte: Autora

4.2.4 *Análises microbiológicas*

As análises microbiológicas foram realizadas nas culturas *starters* (durante todos os dias de fermentação) e na bebida final, a fim de avaliar o crescimento microbiano, tanto na produção do *starter* como na bebida fermentada. Foi avaliada também a qualidade higiênico sanitária do produto, com análises de Coliformes e Salmonella, além da verificação da presença de probióticos, terceirizada pelo laboratório credenciado na cidade de Patos de Minas, Celasa - Análises e Consultoria Ambiental. Todas as análises microbiológicas foram realizadas em duplicata.

4.2.4.1 Culturas fermentadoras – *Starters*.

Foi realizado o acompanhamento do crescimento de bactérias, bolores e leveduras das culturas, que são responsáveis pela fermentação da bebida, para escolha da metodologia que fosse eficaz e viável para a sua produção. O plaqueamento foi feito nas diluições 10^0 até 10^{-8} e a contagem foi feita apenas nas placas que apresentaram leitura. Foram feitas diluições seriadas das amostras da fase líquida do *ginger bug* em água peptonada 0,1%, e o plaqueamento realizado por *spread plate*, para bactérias, e *pour plate*, para fungos (Power e Johnson, 2009)

Para a contagem bacteriana foi utilizado o meio PCA (*Plate Count Agar*), 20g/L, que é um meio sugerido pelo Manual Difco & BBL para contagem total de bactérias aeróbicas e

anaeróbicas em produtos alimentícios. A temperatura de incubação foi de $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, por 24h, até 48h, para certificação do desenvolvimento microbiano (Power e Johnson, 2009).

Para a contagem fúngica, bolores e leveduras, foi preparado o meio PDA (*Potato Dextrose Agar*) utilizando como substrato batatas inglesas, ágar e glicose nas quantidades 250, 15 e 20g/L, respectivamente, em água deionizada. Esse meio, de uso geral para leveduras e bolores, foi suplementado com ácido tartárico estéril a 10% para inibir o crescimento de bactérias com a diminuição do pH do meio para aproximadamente 3,5. A temperatura de incubação foi de $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, por 7 dias (Power e Johnson, 2009)

4.2.4.2 Culturas da bebida fermentada

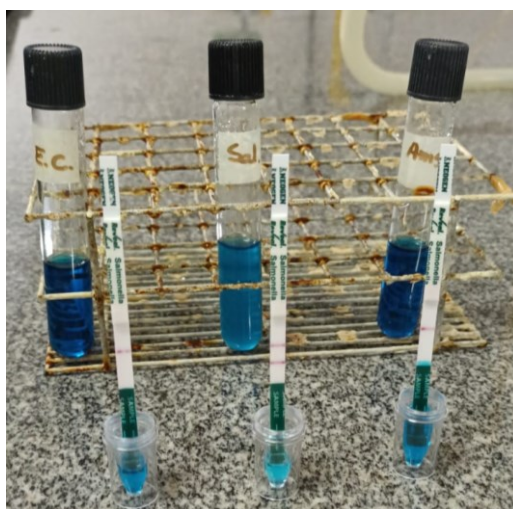
Foram realizadas análises do crescimento microbiológico para a bebida fermentada, bactérias, bolores e fungos, conforme item 4.2.4.1. Para avaliar a qualidade higiênico sanitária do produto elaborado, foram feitas as análises de Coliformes totais, Coliformes a 45°C , e *Salmonella*, seguindo a Instrução Normativa IN nº 161/22 (Brasil, 2001; Power e Johnson, 2009). Nessa normativa as bebidas devem obedecer ao seguinte padrão: bactérias do grupo Coliformes a 45°C , máximo de 10 NMP/mL e *Salmonella*, ausência em 25 g. Foi realizada, também, a análise para a verificação da presença de probióticos, terceirizada pelo laboratório Celasa - Análises e Consultoria Ambiental. As bactérias quantificadas pela empresa foram *Lactobacillus* e *Streptococcus*, pelos métodos APHA de 2014 e ISO 6888-1 de 2016, respectivamente, devido a capacidade de atendimento do laboratório.

Para os Coliformes foi utilizada a técnica de tubos múltiplos, para estimativa da densidade de bactérias do grupo Coliformes por número mais provável (NMP). Para execução do teste, são feitos dois ensaios, o presuntivo e o confirmativo. O ensaio presuntivo consiste na semeadura de volumes determinados da amostra em séries de tubos de Caldo Lauril Triptose (CLT) com púrpura de bromocresol, que são incubados a $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, durante 24-48 horas, ocorrendo um enriquecimento de organismos fermentadores da lactose. A acidificação, com ou sem produção de gás, decorrente da fermentação da lactose contida no meio de cultura empregado nesse ensaio é prova presuntiva positiva para a presença de bactérias do grupo Coliformes. O ensaio confirmativo consiste na transferência de cada cultura com resultado presuntivo positivo para Caldo Lactosado com Verde Brilhante e Bile a 2% (CLVBB), sendo a incubação efetuada também a $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, durante 48 horas. A produção de gás a partir da fermentação da lactose neste meio é prova confirmativa positiva para a presença de bactérias do grupo Coliformes. Esta etapa do exame reduz a possibilidade de ocorrência de resultados

falsos-positivos, decorrentes da atividade de bactérias esporuladas e de bactérias Gram-positivas fermentadoras da lactose (USEPA, 2005; CETESB-ANA, 2011).

Para análise de *Salmonella* spp. foi feito o teste Reaveal® 2.0, um método efetivo testado de desempenho da AOAC Research Institute para detecção de *Salmonella*, que consiste em fitas para comparação de positivo ou negativo. Para o método foi necessário o enriquecimento da amostra em caldo seletivo para *Salmonella*, caldo Rappaport Vassiliadis, 0,1 mL de amostra em tubo contendo 5 mL do caldo e incubação a $41\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Para a leitura, as amostras foram colocadas em tubos contendo 200 μL de água peptonada para inserção da fita, e o resultado foi obtido após 15 minutos. Foi feito um teste Controle de *Salmonella* e com *Escherichia coli* para verificação, como mostra a Figura 4.5. Duas tiras representam o controle indicando a presença da *Salmonella* (positivo) e uma tira indica ausência de *Salmonella* (negativo).

Figura 4.5 - Teste de *Escherichia coli* e Controle de *Salmonella*.



Fonte: Autora

4.2.5 Análises físico-químicas

Todas as análises físico-químicas descritas nos itens abaixo foram realizadas para a bebida fermentada, o produto. Para as culturas *starters* foram feitas as análises de acidez, pH, etanol, açúcares e ácidos. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.2.5.1 Acidez titulável e pH

As análises de acidez titulável foram realizadas de acordo com o método titulométrico da A.O.A.C. (1995). As amostras foram tituladas com NaOH 0,1 N, padronizado, até o ponto de viragem, utilizando a fenolftaleína como indicador.

Foi retirada uma alíquota de 5 mL da amostra descarbonatada, em agitador, e colocado em frasco Erlenmeyer de 500 mL, contendo 10 mL de água destilada. Foi adicionado 0,5 mL de fenolftaleína e titulado com solução de hidróxido de sódio 0,1N padronizada, até a coloração rósea persistente. O cálculo da acidez total é descrito pela Equação 4.1.

$$\frac{n \times f \times N \times 1000}{V} = \text{Acidez em meq/L} \quad (4.1)$$

Na equação, “n” é o volume de solução de hidróxido de sódio gasto na titulação; “f” o fator de correção da solução de hidróxido de sódio; “N” a normalidade da solução de hidróxido de sódio e “V” o volume da amostra.

As medidas de pH foram efetuadas por leitura direta em pHmetro, previamente calibrado, por meio da inserção do eletrodo na amostra, seguindo a metodologia A.O.A.C. (1995).

4.2.5.2 Sólidos Solúveis

Para analisar os sólidos solúveis presentes nas bebidas foi utilizado um refratômetro óptico manual (EduTec, EEQ9029, Brasil) para leitura direta, seguindo a metodologia das normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985). Foram transferidas 3 gotas da amostra homogeneizada para o prisma do refratômetro e após um minuto foi realizada a leitura diretamente na escala °Brix.

4.2.5.3 Determinação de açúcares, etanol, ácidos láctico, acético e cítrico

Os açúcares, etanol e os ácidos láctico, acético e cítrico foram quantificados pelo método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). O modelo do equipamento é da marca Shimadzu, modelo Prominence LC - 20AT, com bomba modelo CTO - 20A, com forno modelo LC - 20AT e um sistema de injeção acoplado a um detector de índice de refração. As concentrações de açúcar e etanol foram determinadas usando um detector de índice de refração,

enquanto os ácidos foram detectados usando um detector de arranjo de fotodiodos (PDA) a 210 nm. Foi utilizada a coluna analítica Supelco C610H 30cm x 7,8mm para os experimentos. A eluição das amostras foi feita no modo isocrático, utilizando uma solução de ácido fosfórico a 0,1% e vazão de 0,5 mL min⁻¹. A temperatura do forno foi fixada em 32°C. As curvas de calibração foram obtidas com os padrões analíticos de grau cromatográfico para cada componente. Os parâmetros cromatográficos foram definidos de acordo com os modelos já estabelecidos no laboratório didático de Engenharia de Alimentos.

4.2.5.4 Compostos Fenólicos Totais

Para a determinação do teor de fenólicos totais das bebidas utilizou-se o método de Folin-Ciocalteu com modificações (Singleton *et. al*, 1999 e Rodrigues *et. al*, 2022). Transferiu-se 0,5 mL de amostra para os tubos de ensaio que foram adicionados de 2,5 mL de Follin-Ciocalteu a 10% m/v. Os tubos foram agitados e mantidos no escuro por 3 minutos. Após esse tempo adicionou-se 2,0 mL de uma solução recém preparada de carbonato de sódio a 7,5% m/v aos tubos, que, após nova agitação, ficaram em repouso por 1 hora no escuro. Após a reação, realizou-se a leitura da absorbância a 760 nm, utilizando água destilada como branco. O teor de fenólicos totais das amostras foi calculado a partir da construção de uma curva padrão de ácido gálico nas concentrações de 5, 15, 20, 25, 50, 75 e 100 mg/L. Os resultados de fenólicos totais foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico por mL de amostra (mg AGE/mL de bebida).

4.2.6 Análise sensorial

A avaliação sensorial da bebida foi conduzida com 100 julgadores não treinados, de ambos os sexos e idade entre 18 e 60 anos, recrutados como voluntários nas instalações da Universidade Federal de Uberlândia - *Campus* Patos de Minas. A análise foi realizada em cabines individuais, sob incidência de luz branca, após leitura e concordância com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

As amostras foram servidas à temperatura de refrigeração (5-8°C), em copos descartáveis de 80 mL codificados de três dígitos. A avaliação da aceitação do produto foi realizada para os atributos aparência, cor, textura, aroma, sabor e impressão global do produto, utilizando uma ficha contendo escala hedônica não estruturada com 9 pontos (1 = desgostei muitíssimo e 9 = gostei muitíssimo) (ABNT, 1998 e Meilgaard, 1999). Também foi realizada a

avaliação da intenção de compra das bebidas por meio de escala mista estruturada de cinco pontos, em que: 1 correspondia a certamente compraria e 5 à certamente não compraria.

4.2.7 *Análise estatística dos dados experimentais*

Os dados obtidos foram tabulados e submetidos à análise estatística de médias, após verificação de normalidade e homoscedasticidade dos dados. Foi utilizada ANOVA e teste de média paramétrico SNK, a 5% de probabilidade de erro, para dados que apresentaram as condições supracitadas. O *software* utilizado foi o *SPEED Stat*, que é um software livre desenvolvido pelo Prof. D.Sc. André Mundstock Xavier de Carvalho, da Universidade Federal de Viçosa (Brasil), e pelo Engenheiro M.Sc. Felipe Queiroz Mendes. O *SPEED STAT* está licenciado sob uma Licença Creative Commons Atribuição-Uso não-comercial-Compartilhamento pela mesma licença 4.0 Unported (Carvalho, 2020).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 *Starter de gengibre - Ginger bug*

5.1.1 *Análises físico-químicas*

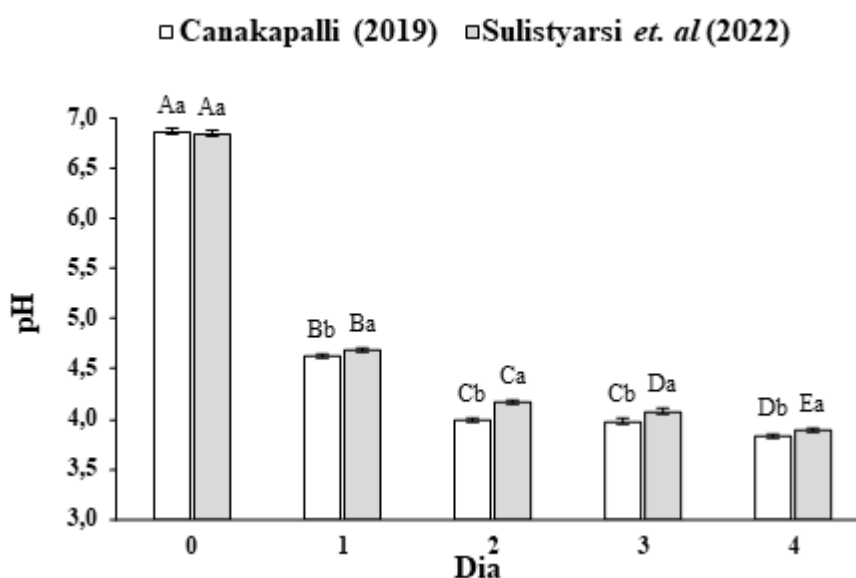
5.1.1.1 Acidez titulável e pH

O gráfico da Figura 5.6 mostra o comportamento dos valores de pH em relação ao tempo de fermentação, em dias, de acordo com as metodologias adotadas da literatura, Sulistyarsi *et. al* (2022) e Canakapalli (2019), e a Figura 5.7 mostra os valores de pH de acordo com Baudar (2018) e Katz (2014). Analisando os gráficos, observou-se uma queda brusca nas primeiras 24 horas de fermentação com tendência estável ao final do processo. Este comportamento indica a acidificação do meio ao longo dos dias de fermentação, uma vez que os valores de pH diminuíram gradualmente com o tempo.

No tempo zero, os valores de pH das amostras foram próximos de 7,0 para as quatro metodologias, como pode ser observado nos gráficos. No primeiro dia de fermentação os valores de pH para as metodologias foram de $4,63 \pm 0,07$ para Canakapalli (2019), $4,69 \pm 0,03$ para Sulistyarsi *et. al* (2022), $5,09 \pm 0,09$ para Baudar (2018) e $5,4 \pm 0,05$ para Katz (2014), e seguiram diminuindo até o último dia de fermentação. No segundo dia de fermentação o pH

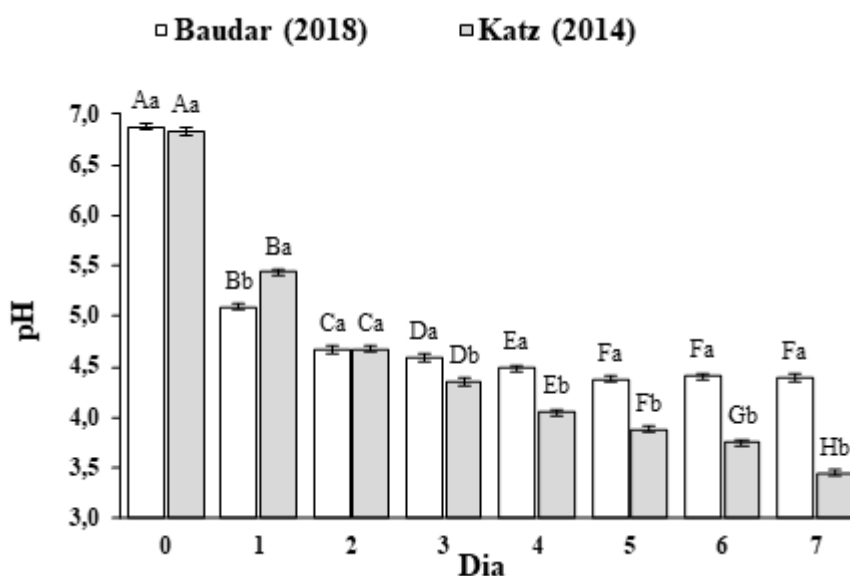
diminuiu de forma lenta, finalizado em $3,84 \pm 0,08$ e $3,80 \pm 0,02$ para os métodos de Canakapalli (2019) e Sulistyarsi *et. al* (2022). Para o método de Baudar (2018) os valores seguiram o decaimento e apresentaram estabilidade a partir do quinto dia de fermentação, finalizando com valor de $4,40 \pm 0,09$, para Katz (2014) os valores de pH diminuíram constantemente de forma a não apresentarem tendência estável durante os sete dias de fermentação, chegando ao valor final de pH de $3,45 \pm 0,06$.

Figura 5.6 - Comportamento dos valores de pH em relação ao tempo de fermentação das amostras submetidas aos métodos: Canakapalli (2019) e Sulistyarsi *et. al* (2022).



*As médias seguidas pela mesma letra maiúscula, entre os dias de avaliação, e minúscula entre os métodos de Canakapalli (2019) e Sulistyarsi *et. al* (2022)., não diferem entre si pelo teste SNK a 5% de probabilidade de erro. Barras representam o desvio padrão do experimento. C.V. = 0,46%.

Figura 5.7 - Comportamento dos valores de pH em relação ao tempo de fermentação das amostras submetidas aos métodos: Baudar (2018) e Katz (2014).



*As médias seguidas pela mesma letra maiúscula, entre os dias de avaliação, e minúscula entre os métodos de Baudar (2018) e Katz (2014), não diferem entre si pelo teste SNK a 5% de probabilidade de erro. Barras representam o desvio padrão do experimento. C.V. = 0,69%.

De acordo com Cecchi (2003), a medida do pH é importante para as determinações do crescimento de microrganismos no meio e atividade de enzimas. Segundo alguns autores como Lobo (1991) e Atkins e Jones (2006), o pH está diretamente relacionado à acidez, e sua avaliação pode ser uma ferramenta importante para determinar a quantidade de ácido presente no meio. Não há padrão para valores de pH para culturas fermentativas, apenas para a bebida kombucha em seu estágio final, que pode variar entre 2,5 e 4,2, conforme a legislação IN N° 41, de 17 de setembro de 2019, que estabelece o Padrão de Identidade e Qualidade da Kombucha em todo o território nacional. Neste caso, observa-se que os valores encontrados na primeira fermentação, para os *starters*, estiveram dentro dos padrões estabelecidos para a bebida kombucha, estando em $3,84 \pm 0,08$, $3,80 \pm 0,02$ e $3,45 \pm 0,06$ para os métodos de Canakapalli (2019), Sulistyarsi *et. al* (2022) e Katz (2014). Para Baudar (2018) o valor de pH foi o mais alto ($4,40 \pm 0,09$) estando fora dessa qualificação. Tais valores podem ser considerados satisfatórios para início da produção da *ginger ale* pois, na segunda fermentação, para a produção da bebida, espera-se ainda um aumento na acidificação, e estes valores encontrados nos *starters* estiveram distantes dos valores de limite mínimos permitidos para a bebida kombucha.

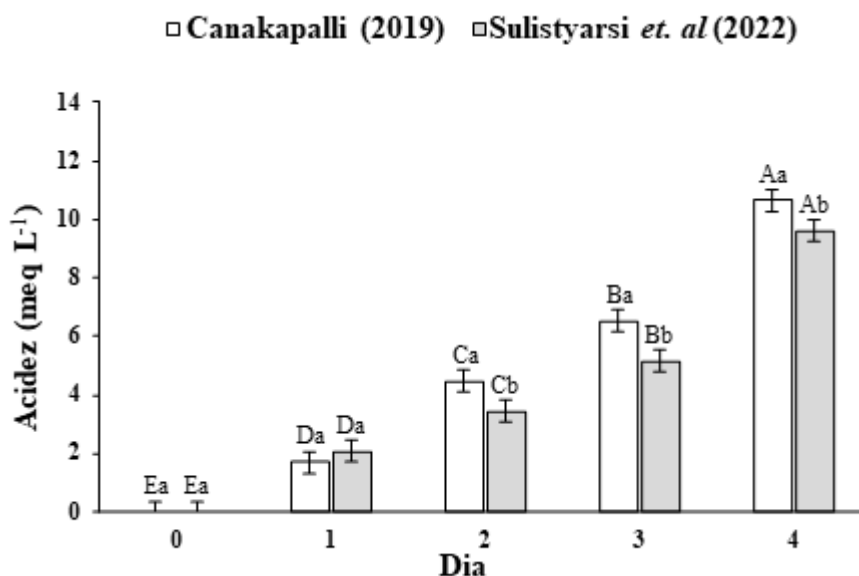
O gráfico da Figura 5.8 mostra o comportamento dos valores de acidez em relação ao tempo de fermentação, em dias, segundo as metodologias adotadas de Canakapalli (2019) e

Sulistyarsi *et. al* (2022), e a Figura 5.9 mostra os valores de acidez segundo as metodologias de Baudar (2018) e Katz (2014). Observou-se um comportamento em comum nos gráficos obtidos, que é o aumento contínuo da acidez no decorrer dos dias de fermentação. Analisando os gráficos, percebeu-se também que a acidez aumentou de forma mais rápida quando utilizados os métodos de Canakapalli (2019) e Sulistyarsi *et. al* (2022) do que nos demais métodos, uma vez que os valores da acidez chegaram a $10,6 \pm 0,37$ meq/L e $9,6 \pm 1,1$ meq/L, respectivamente, com apenas quatro dias de fermentação, enquanto que, com o mesmo tempo de fermentação, os demais métodos apresentaram valores de acidez de $3,80 \pm 0,95$ e $5,84 \pm 1,07$ meq/L, para Baudar (2018) e Katz (2014) respectivamente. Para estes últimos, a acidez final ficou em $6,57 \pm 0,15$ e $12,93 \pm 0,04$ meq/L, respectivamente.

Ao longo do processo fermentativo, também foi observado a turbidez do meio assim como a produção de dióxido de carbono, analisados de forma qualitativa. Nos métodos de Canakapalli (2019) e Sulistyarsi *et. al* (2022) a turbidez foi mais sutil que nas demais metodologias e a presença de dióxido de carbono também foi mais notada. Para as metodologias de Baudar (2019) e Katz (2014), além de turbidez mais evidente, somente após o terceiro dia de fermentação que o gás foi facilmente observado. Segundo Bier (1977), a turbidez do meio de cultura está diretamente relacionada ao número e ao peso das células bacterianas presentes nele.

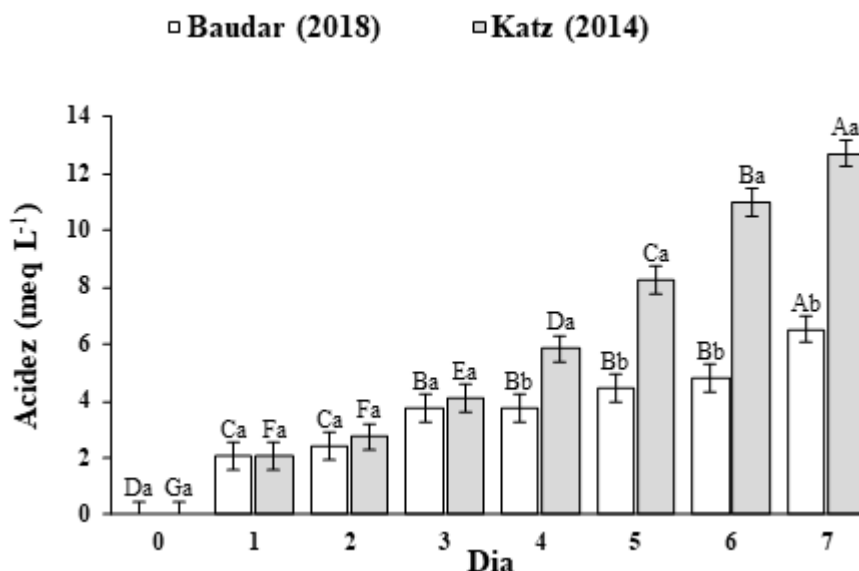
Rocha *et. al* (2020) avaliaram a kombucha submetida a diferentes proporções de suco de uva (40, 50 e 60%) e tempos (0, 4 e 8 dias) na fermentação secundária sobre diversos parâmetros, dentre eles a turbidez. Eles observaram que o aumento no tempo de fermentação promoveu aumento na turbidez, além de coloração mais avermelhada desenvolvida pelo produto com acidez mais elevada.

Figura 5.8 - Comportamento dos valores de acidez em relação ao tempo de fermentação das amostras submetidas aos métodos: Canakapalli e Sulistyarsi *et. al*.



*As médias seguidas pela mesma letra maiúscula, entre os dias de avaliação, e minúscula entre os métodos de Canakapalli (2019) e Sulistyarsi *et. al* (2022) não diferem entre si pelo teste SNK a 5% de probabilidade de erro. Barras representam o desvio padrão do experimento. C.V. = 10,56%.

Figura 5.9 - Comportamento dos valores de acidez em relação ao tempo de fermentação das amostras submetidas aos métodos: Baudar e Katz.



*As médias seguidas pela mesma letra maiúscula, entre os dias de avaliação, e minúscula entre os métodos de Baudar (2018) e Katz (2014), não diferem entre si pelo teste SNK a 5% de probabilidade de erro. Barras representam o desvio padrão do experimento. C.V. = 10,1%.

Aung e Eun (2021) produziram uma bebida através da fermentação da kombucha, e observaram, durante a fermentação, que houve uma diminuição do pH em todas as amostras,

saindo de 4,5 para até 3,1 ao final do período da fermentação. Os autores ainda concluem que a queda dos valores de pH está associada à produção de ácidos durante o processo fermentativo, como ácido acético e ácido α -cetoglutárico. Foi estudado, também, o impacto do tempo e temperatura nas propriedades físico-químicas, microbiológicas e nutracêuticas do kombucha (*Porphyra dentata*) durante o processo fermentativo e constatou-se um declínio acentuado nos valores de pH desde o primeiro dia de fermentação, que diminuiu para 3,13 e permaneceu próximo a esse valor durante os sete dias de fermentação, além de um aumento gradual da acidez titulável no decorrer dos dias. Os autores concluem que esta tendência é indicativa do sucesso da fermentação devido à produção de ácidos orgânicos, especialmente ácido acético durante a fermentação do kombucha.

Observações semelhantes foram discutidas por Xia *et. al* (2019) sobre a fermentação de kombucha de leite de soja, que apresentou valor de pH 6,71 e acidez 10,54 mg/mL, e após a inoculação de 5% de kombucha, o valor de pH diminuiu para 6,54 e a acidez aumentou para 12,76 mg/mL, devido aos ácidos orgânicos produzidos na fermentação, como ácido acético e láctico.

5.1.1.2 Determinação de açúcares, etanol, ácidos láctico, acético e cítrico.

No estágio inicial dos *starters* não foi detectada a presença de etanol, frutose e ácidos orgânicos, o que era esperado uma vez que não tinham sido submetidos ao processo fermentativo. A glicose foi detectada em todos os *starters* iniciais, porém em quantidades muito baixas para os métodos de Canakapalli e Sulistyarsi *et. al* ($1,43 \pm 0,03$ e $0,97 \pm 0,02$ g/L), para os outros métodos de *starters*, Baudar e Katz, foram $13,58 \text{ g/L} \pm 0,01$ e $13,61 \text{ g/L} \pm 0,01$, respectivamente, não havendo, entre eles, diferença significativa pelo teste SNK a 5% de probabilidade de erro. Quanto aos *starters* finais, a Tabela 5.1 mostra os resultados de açúcares e etanol obtidos ao final da fermentação dos *starters*.

Tabela 5.1 - Quantificação de açúcares e etanol dos *starters* finais.

Metodologia	Sacarose	Glicose	Frutose	Etanol
Canakapalli	103,45g/L±0,12 ^c	5,54g/L±0,02 ^b	3,72g/L±0,02 ^b	0,25±0,03 ^d
Sulistyarsi <i>et. al</i>	46,73g/L±0,16 ^d	1,71±0,02 ^d	0,20±0,04g/L ^d	0,86g/L±0,09 ^c
Baudar	141,66g/L±0,07 ^b	8,50g/L±0,06 ^c	2,26g/L±0,03 ^c	10,71g/L±0,15 ^a
Katz	251,93±0,08 ^a	37,21g/L±0,03 ^a	19,01g/L±0,01 ^a	2,60g/L±0,08 ^b

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste SNK a 5% de probabilidade de erro.

Observou-se a formação de etanol e frutose em todos os *starters*. No *starter* obtido pelo método de Baudar (2018) houve a maior formação de etanol, enquanto as menores quantidades foram encontradas nas metodologias de Sulistyarsi *et. al* (2022) e Canakapalli (2019). As metodologias de Baudar e Katz apresentaram maiores concentrações de sacarose inicial nos *starters* e com isso observou-se uma maior concentração de etanol formado. Além disso, a diferença de concentração de etanol de um método para o outro também era esperada, pois a metodologia do *starter* de Katz apresentou maior adição de sacarose durante o processo, o que pode ter levado a saturação do meio, e assim menor rendimento e produtividade em etanol, ocasionada pela queda nas taxas de absorção dos carboidratos disponíveis em excesso, enquanto para metodologia de Baudar, a alimentação intercalada pode ter tornado o meio propício para que a fermentação ocorresse de forma mais acentuada (Almeida *et. al* 2007). Além disso, a metodologia de Baudar apresentou o dobro da concentração de ácido acético formado comparado ao método de Katz (1,18±0,09 e 2,15±0,13g/L). Segundo alguns autores como, Jönsson *et. al* (2013), Rasmussen *et. al* (2014) e Ko *et. al* (2015), os ácidos fracos, como o ácido acético, se classificam como compostos inibidores da fermentação e inibem as etapas subsequentes de hidrólise enzimática e fermentação microbiana limitando a utilização eficiente do hidrolisado para produção de etanol (Palmqvist e Hahn-Hägerdal 2000). Para as demais metodologias, Canakapalli e Sulistyarsi *et. al*, as concentrações do ácido acético foram 0,21±0,05 e 0,36±0,03g/L, respectivamente. De acordo com Dufresne *et. al* (2000), as leveduras produzem etanol via glicólise e as bactérias acéticas utilizam o etanol para produção do ácido acético (Nguyen *et. al*, 2015).

A metodologia de Sulistyarsi *et. al* (2022) apresentou maior teor de glicose do que a de Katz (2014), mas a frutose detectada foi baixa, o que pode indicar a preferência dos microrganismos em utilizar a frutose como fonte de carboidrato. Quanto à formação de ácidos orgânicos nos *starters*, houve a presença de ácido láctico nas metodologias de Canakapalli e Katz, 2,34±0,01 e 5,91g/L±0,01 respectivamente.

5.1.2 Análises microbiológicas

Nas análises microbiológicas bacterianas, cultivadas em meio PCA, nas culturas dos quatro *starters*, observou-se um forte crescimento de microrganismos anaeróbios, com presença de aeróbios, que pôde ser notada com o crescimento das colônias na superfície, meio e fundo das placas. O crescimento microbiano intenso logo foi percebido ao analisar as placas no primeiro dia de fermentação.

Ao final do processo fermentativo, as placas com possíveis leituras para todas as metodologias foram as de diluição 10^{-8} , com contagem de 4×10^8 UFC/mL para Canakapalli, 6×10^8 UFC/mL para Sulistyarsi *et. al*, 5×10^8 UFC/mL para Baudar e 3×10^8 UFC/mL para Katz.

Em relação às placas de PDA, para quantificação de fungos, ao serem analisadas ao final dos processos fermentativos, foi observado que nas diluições 10^0 até as diluições 10^{-3} houve o desenvolvimento de fungos filamentosos formadores de hifas, ou seja, bolores, de cores branca, vermelha, roxa e avermelhada, apresentando aspecto seco. Esse fato foi observado para todas as metodologias. A partir dessa diluição, não houve mais o crescimento de fungos filamentosos, e predominou somente a presença de leveduras, de aspecto úmido, pastoso, gelatinoso, branco, esbranquiçado e amarelo alaranjado.

Ao acompanhar, diariamente, o crescimento desses fungos filamentosos nas diluições 10^{-3} e 10^{-5} , durante o processo fermentativo, observou-se que o crescimento destes não foi bem-sucedido quanto ao último dia de fermentação nas mesmas diluições. A predominância foi de leveduras pastosas brancas e esbranquiçadas. O fato dos bolores não se desenvolverem na fase inicial do processo fermentativo e se desenvolverem na fase final em diluições mais concentradas, até 10^{-3} , pode ser explicado pelo fato dos bolores serem seres pluricelulares enquanto as leveduras são seres unicelulares, ou seja, seres mais simples se reproduzem de forma mais simples e mais rápida, além da seleção natural dos microrganismos, assim, nas culturas, a predominância de leveduras foi muito maior e observada até as últimas diluições (Barrere *et. al*, 2023)

Ao observar as placas das diluições de 10^{-8} , percebeu-se que nos primeiros dias de fermentação não houve crescimento, e apenas no último dia do processo o crescimento de leveduras esbranquiçadas foi notado, de forma bem isolada, tornando possível a contagem de UFC para as metodologias de Canakapalli (2019) e Sulistyarsi *et. al* (2022). Para as metodologias de Baudar (2018) e Katz (2014) a contagem foi feita na diluição 10^{-6} , pois a partir desta não foi observado o crescimento.

Na diluição de 10^{-8} a contagem de UFC foi de 3×10^9 UFC/mL para Canakapalli e 1×10^9 UFC/mL para Sulistyarsi *et. al.* A contagem de UFC realizada na diluição de 10^{-6} foi de 6×10^8 UFC/mL, tanto para Baudar quanto para Katz.

Vários estudos indicam que a kombucha possui uma quantidade rica de cultura inicial de mais de 10^9 UFC/mL. Xu *et. al* (2022) relataram que a kombucha continha uma cultura inicial de 4×10^9 UFC/mL. Um estudo feito por Silva *et. al* (2022) sobre a viabilidade do *SCOBY* da kombucha, na fabricação de novas cervejas, indicou que as populações de leveduras encontradas no chá fermentado foram de $2,33 \times 10^9$ UFC/mL. Wang *et. al* (2022) prepararam kombucha em cultura pura de *Saccharomyces cerevisiae* e a contagem foi de $2,5 \times 10^9$ UFC/mL de cultura inicial.

Nas diluições de 10^{-3} observou-se, pelo aspecto gelatinoso e brilhante, o crescimento predominante de leveduras ao longo dos dias de fermentação, embora houvesse um crescimento de bolores brancos no terceiro dia do processo. Quando a diluição foi aumentada para 10^{-5} não houve a presença de bolores e a predominância foi de leveduras. Foi observado também que tanto nas diluições 10^{-3} quanto de 10^{-5} , no primeiro dia, as leveduras apresentaram cores amareladas e esbranquiçadas, mas ao longo dos dias as leveduras de cor branca e transparentes persistiram. Lucio *et. al* (2009) constataram a presença de bolores no gengibre, além das leveduras, ao caracterizá-lo genericamente, tal fato pode estar associado a presença dos bolores observados nas culturas iniciais nos primeiros dias de fermentação e diluições concentradas. A persistência e permanência das leveduras ao longo da fermentação, em relação aos bolores, pode estar associada a seleção natural, perpetuando assim os organismos mais aptos a sobreviver em determinado local. Para Darwim (1859) e Wallace (1890), os organismos vivem em perpétua luta pela sobrevivência e somente por meio da exata adaptação de sua organização ao ambiente, incluindo seus instintos e hábitos, eles podem sobreviver e produzir descendentes que ocupem o seu lugar.

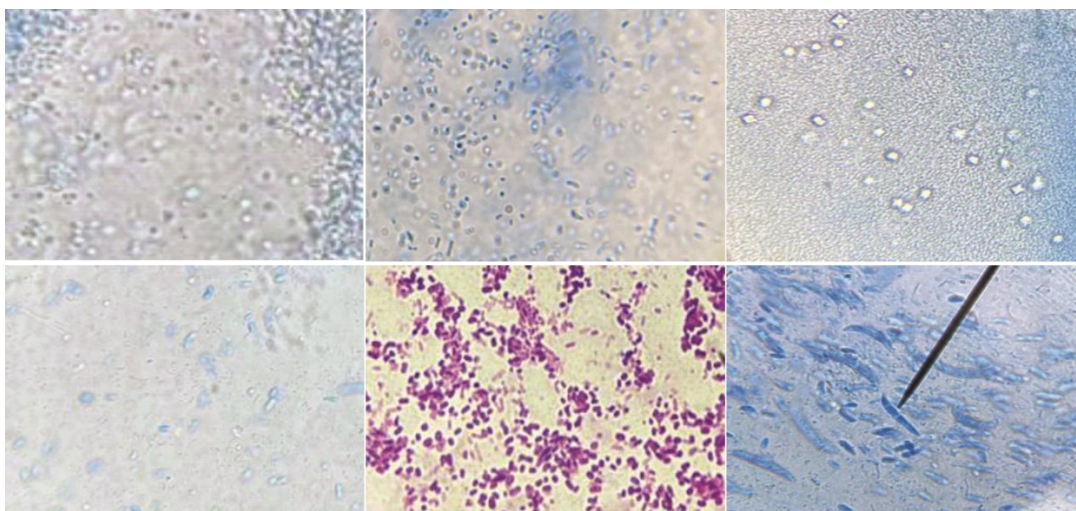
Ao analisar as placas nas diluições 10^{-8} , observou-se que nos primeiros dias de fermentação não houve nenhum crescimento nesta diluição, apenas no último dia do processo o crescimento de leveduras esbranquiçadas foi notado, de forma bem isolada tornando possível fazer a contagem de UFC.

No decorrer do processo fermentativo e com o aumento da acidez, não se observou grandes mudanças nos crescimentos microbianos, tanto em relação às bactérias quanto aos fungos, a não ser pela diminuição da quantidade de colônias formadas à medida que aumentava a diluição, diferentemente dos relatos de Ji *et. al* (2023), que fizeram um estudo relacionando as respostas de crescimento bactéria/fungo à acidez. Os autores relatam que o aumento

gradativo da acidez na fermentação do *baijiu* gergelim, afetou negativamente a estrutura e diversidade bacteriana, uma vez que ambientes ácidos, com valores de pH abaixo de 4,0, o metabolismo fisiológico das células bacterianas geralmente é inibido, exibindo tolerância de pH relativamente estreita. Os autores também relataram essa relação oposta observada no crescimento dos fungos, o aumento do crescimento da comunidade microbiana com o aumento da acidez, gradativamente. Rousk *et. al* (2009 e 2010) também relataram o efeito negativo no crescimento bacteriano relacionado com o aumento da acidez, enquanto o crescimento fúngico é afetado positivamente. Os fungos possuem ampla faixa de pH ótimo, suportando valores mais baixos, diferentemente das bactérias, com valores ótimos mais próximos a neutralidade, além da interação competitiva entre bactérias e fungos (Gock *et. al*, 2003; Lino *et. al*, 2021; Baudar, 2018).

As placas com os meios PDA e PCA foram levadas ao microscópio para análise visual das espécies. A Figura 5.10 mostra a presença de células de leveduras coradas com lactofenol de algodão e coloração de Gram. Observou-se esporos de leveduras nas formas circulares e ovaladas com formação de brotos, e a presença de leveduras com a formação de pseudohifas. Este fenômeno foi encontrado em todas as placas de PDA observadas, independente da metodologia e tempo de fermentação.

Figura 5.10 - Visualização de células de leveduras coradas com lactofenol de algodão no microscópio com objetiva de imersão (100x).



Fonte: Autora

As imagens microscópicas obtidas das placas com leveduras foram comparadas com imagens obtidas em atlas de microbiologia para possível identificação (Ellis e Kidd, 1998;

Tomé e Marques, 1999). Algumas espécies de leveduras apresentam características bastante semelhantes às aquelas que foram encontradas nas culturas de fermentação observadas neste trabalho, em sua morfologia colonial, uma vez que apresentaram forma circular, convexa ou não, bordos inteiros, brilhosa ou não com superfície lisa ou fosca de cor branca e esbranquiçada, são elas: *Wickerhamomyces anomala* – circular, bordos ondulados, papilada, fosca, superfície rugosa; *Saccharomyces cerevisiae* – circular, convexa, bordos inteiros, brilhosa, superfície lisa; *Cutaneotrichosporon curvatus* – circular, convexa, bordos inteiros, fosca, superfície rugosa; *Rhodotorula glutinis* – circular, convexa, bordos inteiros, brilhosa, superfície lisa; *Candida glabrata* – circular, convexa, fosca, bordos inteiros, superfície lisa (Murray, 1999).

Antoniassi *et. al* (2017), fizeram uma identificação presuntiva de leveduras de interesse biotecnológico em grãos de kefir, visto que há uma vasta população microbiana presente nestes grãos, incluindo leveduras e bactérias. Os isolados com características macroscópicas leveduriformes foram analisados por exame direto, prova do tubo germinativo e prova da ureia. Os dados obtidos foram comparados com atlas micológicos e chaves de identificação. No total foram isoladas seis colônias diferentes com presença de leveduras como *Candida sp.* e *Saccharomyces sp.*, que possuem grande relevância para os processos biotecnológicos.

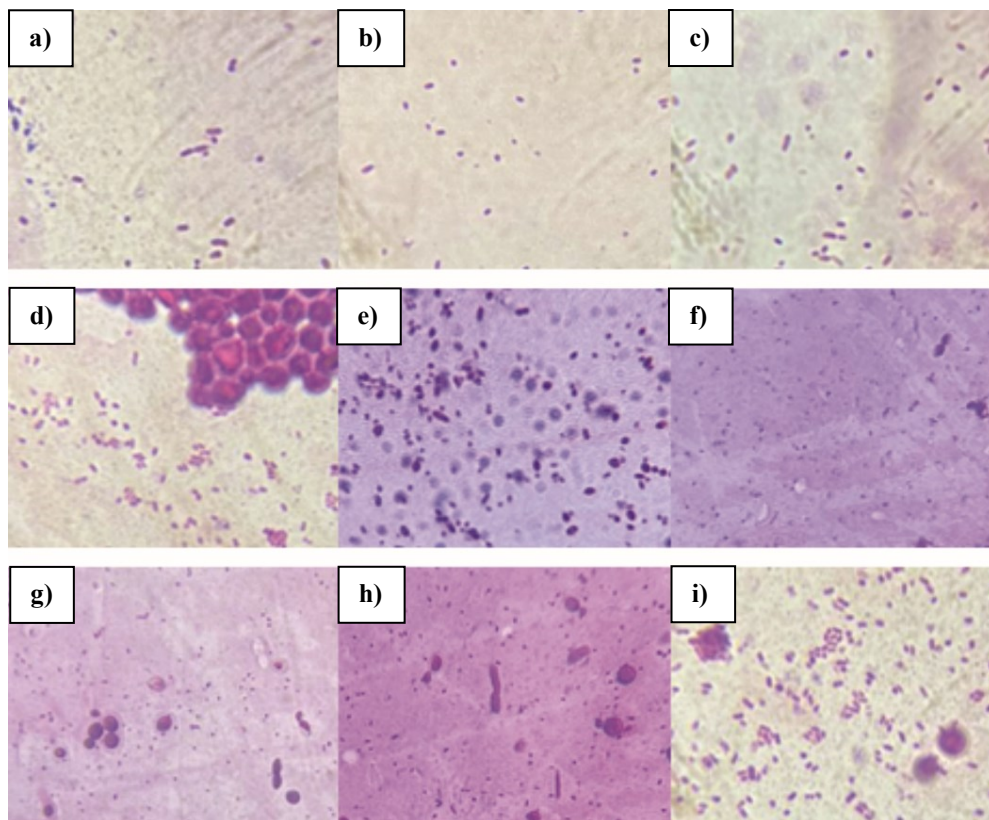
Em estudo realizado por Magalhães *et. al* (2011) com grãos de kefir obtidos na região de Lavras-MG, foram isoladas 110 leveduras entre espécies de *Saccharomyces sp.* e de *Candida sp.*, que foram identificadas por provas bioquímicas associadas a testes moleculares. Além disso, outras espécies de leveduras como *Kluyveromyces sp.*, *Pichia sp.* e *Zygosaccharomyces sp.* foram reportadas em outras pesquisas com grãos de kefir, obtidos em outros países como Canadá e Estados Unidos da América (Miguel *et. al*, 2012; Ahmed *et. al*, 2015),

Algumas das leveduras, que foram comparadas mediante suas características semelhantes às encontradas nas culturas de fermentação neste trabalho, são também encontradas em grãos de kefir. Segundo Greenwalt *et. al* (2000), as *Saccharomyces sp.*, *Torulopsis sp.*, *Pichia sp.*, dentre outras, compõem os grãos de kefir além de algumas bactérias ácido lácticas.

Sulistiyarsi *et. al* (2022) não relatou em seus estudos presença de leveduras, tanto nas culturas fermentadoras quanto nas bebidas de gengibre, o autor apresentou apenas a presença de bactérias do ácido láctico presentes nas bebidas fermentadas finais.

Nas placas bacterianas com meio PCA, independentemente da metodologia utilizada e tempo de fermentação, foram observadas bactérias gram positivas em formato de cocos e bacilos. Observou-se também o desenvolvimento de leveduras, com formatos circulares maiores e ovalados em brotamento, como mostra a Figura 5.11.

Figura 5.11 - Representação microbiana nas placas de PCA. As figuras a, b e c representam as bactérias em cocos e bacilos gram positivos; As figuras d, e, f, g, h e i representam as bactérias em cocos e bacilos com interferência leveduriforme. Microscópio com objetiva de imersão (100x).



Fonte: Autora

Sulistyarsi *et. al* (2022) observaram bactérias probióticas na bebida fermentada de gengibre, a ‘*ginger beer*’, e identificaram a presença dessas bactérias na bebida, dos gêneros *Lactobacillus*, *Streptococcus* e *Micrococcus*, portanto, pode-se associar a presença dessas mesmas bactérias nas culturas fermentadoras neste trabalho. Greenwalt *et. al* (2000) relataram a presença da cultura simbiótica em grãos de kefir, de bactérias ácido acéticas e leveduras, que segue a mesma linha de pensamento de Katz (2014), sendo que nessas culturas *starters* há a presença de cultura simbiótica de bactérias ácidos lácticos e acéticos e leveduras responsáveis pela fermentação e que são inibidoras de microrganismos nocivos à saúde.

Canakapalli (2019) analisou os microrganismos presentes na ‘*ginger beer*’ para detecção de probióticos e relatou a presença de bactérias probióticas como *Lactococcus* presente no *ginger bug*, e *Trabulsiella* na bebida de gengibre final. O autor relata ainda que não houve presença de bactérias patogênicas em nenhuma amostra de *ginger bug* ou amostra de

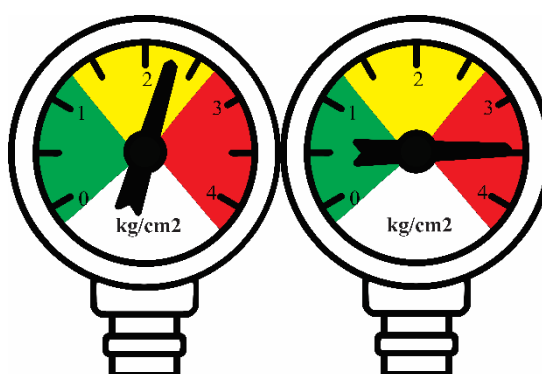
bebida. O autor ressalta que apesar de encontrar bactérias probióticas no *ginger bug* e na bebida fermentada, a quantidade não foi suficiente para considerá-la uma bebida probiótica.

5.2 Bebida fermentada - *Ginger ale*

5.2.1 *Análise de pressão no reator 2 - Garrafas PET*

As garrafas PET contendo a bebida fermentada apresentaram-se totalmente rígidas ao terceiro dia de fermentação, para todas as metodologias, e os valores das leituras monométricas não se diferenciaram, pelo teste SNK a 5% de probabilidade de erro, apresentando valor médio de $2,3 \pm 0,06$ kgf/cm² ou 2,2 atm. Ao serem analisadas no quinto de fermentação as garrafas estavam extremamente rígidas, sem possibilidade de serem pressionadas manualmente, para todas as metodologias, e os valores encontrados foram considerados iguais pela estatística apresentando leitura manométrica de $3,5 \pm 0,08$ kgf/cm² ou 3,4 atm. O manômetro no quinto dia de fermentação ficou na área vermelha, o que simboliza risco de pressão, enquanto no terceiro dia de fermentação ele se manteve na parte amarela, considerada segura pelo aparelho medidor, porém em estado de alerta. A Figura 5.12 ilustra a representação das leituras monométricas em kgf/cm².

Figura 5.12 - Representação do manômetro indicando valor, alerta e risco de pressão.



Fonte: Autora

De acordo IN N°41 de 2019, os valores de pressão atmosférica permitidos para a kombucha, quando adicionada de gás carbônico, são de 1,1 a 3,9 atm, enquanto na IN N°34 de 2012 para a bebida fermentada de fruta, os valores de pressão atmosférica permitidos são de 2 a 3 atm. Observou-se que a pressão gerada pelo gás carbônico neste trabalho, tanto com 3 dias

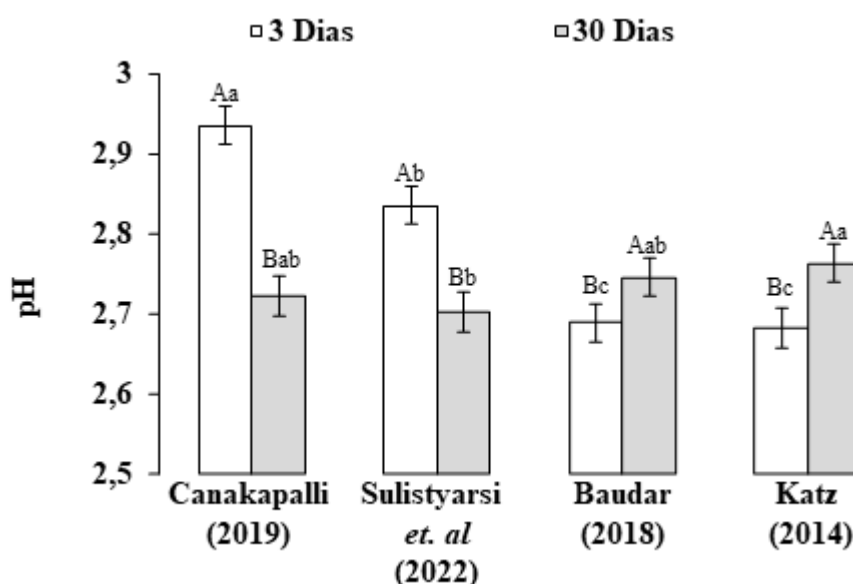
de fermentação quanto 5 dias, atendeu aos padrões estabelecidos pelas duas legislações usadas para bebidas fermentadas, porém a fermentação longa foi considerada inadequada uma vez que o manômetro permaneceu na área vermelha, o que indica risco de pressão. Desta forma, seguiu-se com as demais análises para as bebidas fermentadas por 3 dias, consideradas seguras para manuseio.

5.2.2 Análise físico-química

5.2.2.1 Acidez titulável e pH

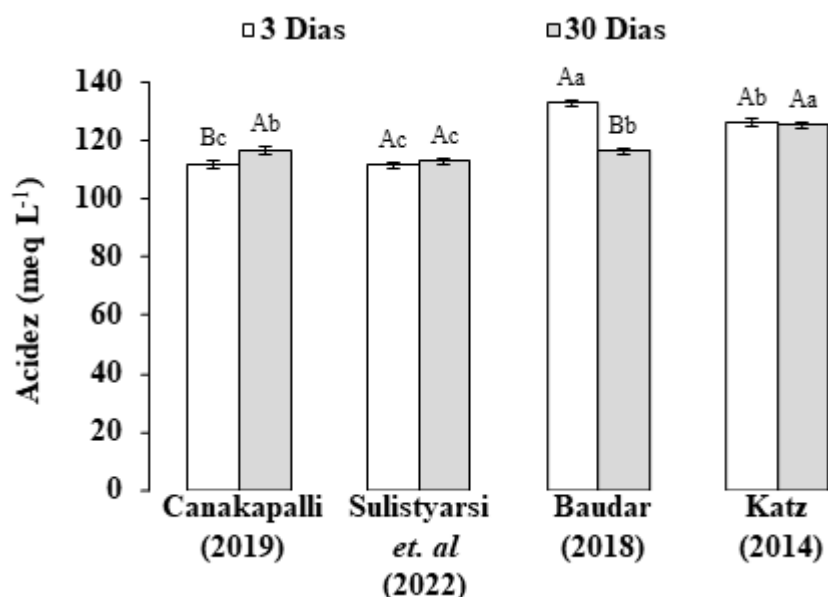
Os resultados de pH das bebidas fermentadas por 3 dias foram $2,94 \pm 0,05$; $2,84 \pm 0,03$; $2,69 \pm 0,02$ e $2,68 \pm 0,04$ e os valores de acidez foram de $111,6 \pm 0,90$; $111,3 \pm 1,37$; $132,6 \pm 1,04$ e $126,0 \pm 1,80$ meq/L para as metodologias de Canakapalli, Sulistyarsi *et. al*, Baudar e Katz, respectivamente (Figuras 5.13 e 5.14). Segundo Cardoso *et. al* (2020), os alimentos ácidos ($\text{pH} < 4,0$) são microbiologicamente seguros, pois os microrganismos patogênicos dificilmente desenvolvem-se nessas condições, por outro lado valores abaixo de pH 2,5 apresentam alta concentração de ácido acético, representando risco à saúde dos consumidores.

Figura 5.13 - Valores de pH das bebidas fermentadas por 3 e 30 dias para cada metodologia.



*Não há evidência suficiente de que médias seguidas por uma mesma letra maiúscula (tempo de fermentação) ou minúscula (metodologia) diferem estatisticamente entre si pelo teste SNK a 5% de probabilidade de erro. Barras representam o desvio padrão das médias. C.V. = 0,86%.

Figura 5.14 - Gráfico representativo dos valores de acidez das bebidas fermentadas por 3 e 30 dias para cada metodologia.



*Não há evidência suficiente de que médias seguidas por uma mesma letra maiúscula (tempo de fermentação) ou minúscula (metodologia) diferem estatisticamente entre si pelo teste SNK a 5% de probabilidade de erro. Barras representam o desvio padrão das médias. C.V. = 0,9%.

Observa-se que, com 3 dias de fermentação os menores valores de pH foram encontrados nas bebidas pelas metodologias de Baudar (2018) e Katz (2014), não diferenciando entre si, além de apresentaram os maiores valores de acidez. Para Canakapalli (2019) e Sulistyarsi *et. al* (2022) foi observado o contrário, os maiores valores de pH e menores de acidez.

Após 30 dias de armazenamento refrigerado das bebidas, no presente estudo, percebeu-se uma diminuição de pH para Canakapalli e Sulistyarsi *et. al* sendo, $2,72 \pm 0,01$ e $2,70 \pm 0,01$, e aumento de acidez para Canakapalli ($116,40 \pm 0,52$ meq/L). Para as demais metodologias, Baudar e Katz, observou-se o contrário, o aumento de pH, $2,7 \pm 0,01$ e $2,76 \pm 0,01$, respectivamente, e diminuição de acidez para Baudar, $116,10 \pm 0,90$ meq/L. Segundo Bauer e Dicks (2017), na fermentação malolática, que ocorre após a fermentação alcoólica como uma segunda fermentação, as bactérias lácticas endógenas ou exógenas presentes reduzem a acidez através da conversão do ácido málico em ácido láctico, aumentando as propriedades sensoriais através da geração de novos compostos voláteis (Pacheco *et. al* 2022). Essa fermentação é muito desejada principalmente nos vinhos, pois diminui o caráter verde e agressivo, característico do ácido málico, para convertê-lo em um agradável paladar como o do ácido láctico, reduzindo a

acidez total da bebida. Segundo Pacheco *et. al* (2022), geralmente o pH tende a aumentar quando a fermentação malolática acontece.

A legislação brasileira estabelece padrões de identidade e qualidade para bebidas fermentadas de frutas e kombucha quanto à algumas características físico-químicas como pH e acidez. De acordo com a Instrução Normativa N° 41 de 17 de setembro de 2019 (BRASIL, 2019), que estabelece o Padrão de Identidade e Qualidade da Kombucha em todo o território nacional, os valores de pH estabelecidos são de 2,5 a 4,2, e acidez de 30 a 130 meq/L, enquanto a Instrução Normativa N° 34 de 29 de novembro de 2012 (BRASIL, 2012) que estabelece padrões para Bebidas fermentadas de Frutas, os valores de acidez permitidos são 50 a 130 meq/L. As comparações dos valores preconizados por tais legislações são aplicáveis à bebida produzida neste trabalho, por se tratar também de uma bebida fermentada que utiliza suco de fruta. Os valores de pH e acidez obtidos para a bebida fermentada deste trabalho estão de acordo com o padrão de identidade e qualidade da kombucha.

Altay *et. al* (2013) fizeram uma revisão sobre as tradicionais bebidas fermentadas não alcoólicas turcas, como o suco de *shalgam*, *hardaliye* e *boza*. Elas são obtidas pela fermentação de vegetais, frutas e cereais, compostas principalmente por bactérias como *Lactobacillus plantarum* e *L. paracasei*. A bebida *Shalgam*, que é fermentada a partir de cenoura como substrato, a 10°C por 3-5 dias, apresentou valores de pH entre 3,3 e 3,8 e acidez de 1,06 e 9,1g/L. *Hardaliye*, é uma bebida fermentada de uva, por 5-10 dias, à temperatura ambiente, e apresentou pH entre 3,21 e 3,97, com acidez em torno de 4,14% e *boza*, bebida fermentada a partir de painço, milho, arroz e trigo fermentada a 30°C, por 24 horas, apresentou pH de 3,16 a 4,63 e acidez de 0,13%.

Ayed *et. al* (2016) fermentaram suco de uva com cultura kombucha a temperatura de 30°C avaliando suas características físico-químicas durante 12 dias de fermentação. Foi observado que após o oitavo dia o valor de pH se manteve em 2,91 até o último dia de fermentação. A acidez com seis dias de fermentação foi de 62,2 meq/L e pH 3,18, apresentando melhor aceitação pelos provadores na análise sensorial quando comparada à bebida com 12 dias, que apresentou acidez de 104,2 meq/L.

Miranda *et. al* (2023) utilizaram a infusão de café arábica para produzir uma bebida fermentada de kombucha. Os autores avaliaram as características físico-químicas ao longo de 21 dias de fermentação e observaram o mesmo fenômeno de redução de pH (4,52 a 3,25) e aumento de acidez na bebida produzida, com valor final de 7,2 g/L, além de atender às normas que estabelecem parâmetros para a qualidade da bebida fermentada. Silva *et. al* (2021) também observaram o mesmo fenômeno ao produzir kombucha de infusão de plantas comestíveis não

convencionais de malva e chá verde. Os autores relataram que ambas kombuchas apresentaram comportamentos semelhantes, com diminuição de pH nos primeiros dias e aumento de acidez, finalizando com valores de pH de 2,7 e 3,3, e acidez de 8,8 g/L e 3,9g/L para malva e chá verde, respectivamente. Resultados semelhantes foram mostrados por Zou *et. al* (2021) que caracterizaram a kombucha produzida a partir do chá de *Zijuan* (*Camellia sinensis var assamica* cv. *Zijuan*).

Cardoso *et. al* (2020) investigaram kombuchas dos chás verde e preto para diferenciação do perfil fenólico e ao caracterizarem as bebidas produzidas, obtiveram resultados bem próximos aos estudos citados anteriormente com valores de pH de 3,2 e 3,5, para kombucha de chá verde e preto, respectivamente, estando dentro dos valores permitidos para bebida.

Araújo *et. al* (2023) criaram uma bebida não láctea fermentada com kefir com o objetivo de produzir uma bebida funcional e fizeram sua caracterização físico-química, como pH e acidez. Os autores relataram que, como esperado, houve redução nos valores de pH bem como o aumento da acidez do produto fermentado. O valor de pH inicial foi 4,0 e reduziu para 3,01 ao final de 36 horas de fermentação da bebida, e a acidez foi de 0,4 para 1,6% nesse período de atividade fermentativa.

5.2.2.2 Sólidos solúveis

A medição dos sólidos solúveis não representa o teor exato dos açúcares, pois outras substâncias também se encontram dissolvidas (vitaminas, fenólicos, ácidos orgânicos etc.). No entanto, dentre estas, os açúcares são os mais representativos, chegando a constituir até 85 a 90% dos sólidos solúveis (Chitarra e Chitarra, 2005). Ao analisar as bebidas fermentadas por 3 dias, foi observado que para a metodologia de Katz obteve-se 11°brix, enquanto para as demais metodologias, Canakapalli, Sulistyarsi *et. al* e Baudar, o valor encontrado foi 9°brix. Após o período de 30 dias, das bebidas armazenadas sob refrigeração a 4°C, os sólidos solúveis encontrados nas bebidas continuaram nos mesmos valores, quando comparados aos encontrados nas bebidas com 3 dias de fermentação, para cada metodologia. Isso se deve a eficiente conservação pelo frio, que compõe um dos métodos mais suaves de conservação e consiste em diminuir a taxa metabólica da cultura microbiana a fim de prevenir o consumo dos açúcares e, conseqüentemente, a formação de produtos (Ordoñez, 2005).

Mendes *et. al* (2021) propuseram o maracujá como substrato útil no preparo da bebida fermentada de kefir. O processo de fermentação foi realizado inoculando kefir de água em suco

de maracujá da caatinga por 15 dias a 4°C. No fim da fermentação registraram uma bebida com 9,6°brix, valor muito semelhante ao encontrado neste trabalho.

Oliveira *et. al* (2023) fizeram a caracterização da bebida kombucha de chá verde, fermentada a 24°C por 7 dias, e encontraram o valor de sólidos solúveis de 9,5°brix, valor bem próximo ao encontrado neste trabalho. Xu *et. al* (2023) encontraram valores semelhantes ao analisarem a bebida fermentada por sementes de *Pueraria lobata*, uma planta nativa do Japão, a 26,5°C em três tempos diferentes, 0h, 42h, 84h e produto acabado, esterilizado a 115°C por 15 min, com valores de 8,7; 8,3; 8,4 e 11,7°brix respectivamente.

5.2.2.3 Determinação de açúcares, etanol, ácidos láctico, acético e cítrico

As Tabelas 5.2 e 5.3 mostram a quantificação de açúcares, etanol e ácidos orgânicos na bebida final e na bebida com 30 dias de armazenamento sob refrigeração. Analisando os resultados obtidos, das bebidas finais com 3 dias de fermentação, observou-se que a bebida que apresentou menor concentração de álcool foi a obtida pelo método de Sulistyarsi *et. al* (2022), seguida por Canakapalli (2019). Esses resultados já eram esperados pois os *starters* das metodologias Baudar (2018) e Katz (2014) já continham uma quantidade consideravelmente alta de sacarose e etanol para inicialização da fermentação do substrato em comparação aos demais *starters*, além de outros açúcares. Sulistyarsi *et. al* (2022) seguido por Canakapalli (2019) foram os *starters* que iniciaram com as menores concentrações de açúcares, o que explica a menor quantidade de álcool formada.

De acordo a Regulamentação da Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas, bebida alcoólica é aquela graduação alcoólica acima de meio por cento em volume e não alcoólica aquela com até meio por cento. Neste trabalho, os teores alcoólicos das bebidas produzidas foram relativamente baixos. Para as metodologias de Sulistyarsi *et. al* e Canakapalli os teores alcoólicos foram 0,39% v/v e 0,44% v/v, e não se enquadram como alcoólicas, sendo assim classificadas como bebidas não alcoólicas. Baudar e Katz apresentaram teores maiores, de 1,24 e 1,35% v/v, respectivamente, não se equiparando à cerveja, que possui em média 5% de teor alcoólico, porém, pela Regulamentação, as bebidas produzidas por Baudar e Katz, se classificam como alcoólicas.

Canakapalli (2019), que produziu a bebida em períodos de fermentação de 1, 2 e 3 semanas, encontrou teores de álcool mais baixos (0,02 - 0,01 - 0,09 %v/v respectivamente). Porém, ao produzir a bebida com *ginger bug* mais ‘velho’, fermentado por 19 dias, os teores

alcoólicos subiram (0,55 – 0,64 – 0,65%v/v, para bebidas fermentadas por 1, 2 e 3 semanas respectivamente). Sulistyarsi *et. al* (2022) encontraram teores alcoólicos bastante altos para as bebidas produzidas com 7 dias de fermentação (14,8%, 11,04% e 12,31%) utilizando 3 diferentes tipos de gengibre da Indonésia.

Neste trabalho, as bebidas classificadas como não alcoólicas foram analisadas quanto ao teor de álcool após 15 dias de armazenamento sob refrigeração, para Canakapalli (2019) a concentração encontrada foi 4,69g/L e para Sulistyarsi *et. al* (2022) foi 4,75g/L, apresentando teor alcoólico de 0,45%v/v e 0,46%v/v, respectivamente, estando ainda dentro da faixa de valores de classificação de bebidas não alcoólicas.

Ao analisar as concentrações do etanol nas bebidas com 30 dias de armazenamento (Tabela 5.4), observou-se um aumento de etanol para as metodologias de Canakapalli, Sulistyarsi *et. al* e Baudar (5,60g/L \pm 0,01; 5,53g/L \pm 0,01 e 16,07g/L \pm 0,02, respectivamente), exceto para Katz que houve um decréscimo (12,19g/L \pm 0,01), com 5% de probabilidade de erro pelo teste SNK. Portanto, as bebidas pelas metodologias de Canakapalli e Sulistyarsi *et. al*, consideradas antes como não alcoólicas, passaram a ser classificadas como alcoólicas com o armazenamento de 30 dias sob refrigeração, mesmo que com pouco aumento, apresentando teor de 0,54% v/v para ambas as metodologias (BRASIL, 1994).

Observa-se que, com 30 dias de armazenamento das bebidas, houve uma diminuição sutil nas concentrações de sacarose para todas as metodologias, enquanto para a glicose houve aumento para a metodologia de Sulistyarsi *et. al* (3,18g/L \pm 0,01) e Katz (9,72g/L \pm 0,03) e diminuição para Canakapalli e Baudar (3,13g/L \pm 0,03 e 4,17g/L \pm 0,05, respectivamente). Quanto a frutose, observa-se um pequeno decréscimo para as metodologias de Canakapalli e Baudar e acréscimo para Sulistyarsi *et. al* e Katz. A diminuição de sacarose observada com aumento de glicose e etanol, indica que a fermentação continuou acontecendo durante o armazenamento refrigerado, mesmo que lenta. As leveduras ao produzirem etanol via glicólise utilizam a frutose como substrato primário enquanto as bactérias utilizam a glicose para produção de ácidos orgânicos, o que pode explicar a diminuição e aumento desses componentes para as bebidas ao longo do tempo (Dufresne *et. al*, 2000; Nguyen *et. al*, 2015).

Tabela 5.2 - Quantificação de açúcares e etanol na bebida final (após 3 dias de fermentação).

Metodologia	<i>Etanol</i>	<i>Sacarose</i>	<i>Frutose</i>	<i>Glicose</i>
Canakapalli	4,56g/L \pm 0,02 ^c	69,12g/L \pm 0,11 ^c	5,33g/L \pm 0,03 ^c	3,46g/L \pm 0,02 ^c
Sulistyarsi <i>et. al</i>	4,01g/L \pm 0,02 ^d	51,92g/L \pm 0,04 ^d	4,01g/L \pm 0,03 ^d	2,91g/L \pm 0,02 ^d
Baudar	12,84g/L \pm 0,02 ^b	142,57g/L \pm 0,09 ^b	7,06g/L \pm 0,04 ^b	4,64g/L \pm 0,04 ^b
Katz	14,08g/L \pm 0,02 ^a	166,30g/L \pm 0,08 ^a	7,68g/L \pm 0,04 ^a	5,08g/L \pm 0,02 ^a

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste SNK a 5% de probabilidade de erro.

Tabela 5.3 - Quantificação de açúcares e etanol na bebida final armazenada por 30 dias

Metodologia	<i>Etanol</i>	<i>Sacarose</i>	<i>Frutose</i>	<i>Glicose</i>
Canakapalli	5,60/L \pm 0,01 ^c	62,57g/L \pm 0,11 ^c	4,90g/L \pm 0,03 ^c	3,13g/L \pm 0,03 ^c
Sulistyarsi <i>et. al</i>	5,53/L \pm 0,01 ^d	50,37g/L \pm 0,04 ^d	5,06g/L \pm 0,02 ^d	3,18g/L \pm 0,01 ^d
Baudar	16,07g/L \pm 0,02 ^b	141,34g/L \pm 0,09 ^b	6,88g/L \pm 0,02 ^b	4,17g/L \pm 0,05 ^b
Katz	12,19g/L \pm 0,03 ^a	164,70g/L \pm 0,08 ^a	9,56g/L \pm 0,04 ^a	9,72g/L \pm 0,03 ^a

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste SNK a 5% de probabilidade de erro.

Ao analisar as concentrações dos ácidos formados nas bebidas finais, representadas pela Tabela 5.4, verificou-se que a bebida fermentada por Katz apresentou concentração maior em ácido láctico que as demais, o que pode ser explicado pela concentração elevada de açúcares em seu *starter*. O ácido cítrico foi encontrado em todas as bebidas em quantidades maiores que os outros ácidos detectados, nas bebidas pelas metodologias de Katz e Baudar foram mais altas, não se diferenciando entre si, enquanto para a metodologia de Sulistyarsi *et. al* foi encontrado a menor quantidade do ácido. Isso se dá pelo fato do limão ser uma fruta cítrica, portanto este ácido está naturalmente presente no substrato (Penniston *et. al*, 2008). Foi formado ácido acético em todas as bebidas produzidas, em maior quantidade na bebida pela metodologia de Katz seguido pelas metodologias de Baudar, Sulistyarsi *et. al* e Canakapalli.

Nas bebidas armazenadas por 30 dias, representadas pela Tabela 5.5, observa-se que o ácido acético se manteve para todas as metodologias, assim como o ácido láctico. O ácido cítrico também esteve próximo para metodologia de Canakapalli (6,23g/L \pm 0,06) e aumentou ligeiramente para as demais. Segundo Brasil (2014), em ‘Aplicações do ácido cítrico na indústria de alimentos’ pela revista Food Ingredients Brasil, para a enologia, o ácido cítrico, que está presente em fracas quantidades nos mostos de uva e ausente nos vinhos, aumenta ligeiramente sua concentração durante a fermentação alcoólica, sendo posteriormente consumido durante a fermentação maloláctica.

Na kombucha, a atividade antimicrobiana que ela apresenta, contra bactérias patogênicas, é atribuída principalmente aos ácidos orgânicos formados como láctico e acético, principalmente o ácido acético, posto que o ácido acético é conhecido por inibir microrganismos gram-positivos e gram-negativos (Villarreal-Soto *et. al*, 2019; Jayabalan *et. al*, 2014). Em bebidas em que os valores de pH estão abaixo de 2,5, o ácido acético se encontra em altas concentrações, representando risco à saúde dos consumidores (Cardoso *et. al*, 2020). Neste trabalho, além de valores adequados de pH nas bebidas produzidas, as quantidades encontradas de ácido acético foram baixas. Além disso, segundo Nummer (2013), durante a fermentação, o acúmulo de dióxido de carbono produzido inibe a conversão de etanol em ácido acético no caso de recipientes fechados.

Tabela 5.4 - Quantificação de ácidos orgânicos na bebida final (após 3 dias de fermentação).

Metodologia	Ácido láctico	Ácido cítrico	Ácido acético
Canakapalli	0,12g/L±0,02 ^b	6,59g/L±0,06 ^b	0,06g/L±0,02 ^d
Sulistyarsi <i>et. al</i>	0,08g/L±0,04 ^d	5,55g/L±0,04 ^c	0,11g/L±0,02 ^c
Baudar	0,15g/L±0,02 ^c	13,67g/L±0,13 ^a	0,25g/L±0,03 ^b
Katz	2,22g/L±0,03 ^a	12,96g/L±0,10 ^a	0,53g/L±0,02 ^a

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste SNK a 5% de probabilidade de erro.

Tabela 5.5 - Quantificação de ácidos orgânicos na bebida final armazenada por 30 dias.

Metodologia	Ácido láctico	Ácido cítrico	Ácido acético
Canakapalli	0,09g/L±0,02 ^b	6,23g/L±0,06 ^b	0,07g/L±0,02 ^d
Sulistyarsi <i>et. al</i>	0,08g/L±0,04 ^d	6,90g/L±0,04 ^c	0,11g/L±0,04 ^c
Baudar	0,03g/L±0,02 ^c	14,57g/L±0,09 ^a	0,24g/L±0,03 ^b
Katz	2,18g/L±0,03 ^a	14,23g/L±0,05 ^a	0,51g/L±0,02 ^a

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste SNK a 5% de probabilidade de erro.

Outros ácidos orgânicos também foram detectados nas bebidas finais. O ácido málico foi encontrado por todas as metodologias, Canakapalli (0,60g/L±0,02), Sulistyarsi *et. al* (0,49g/L±0,02), Baudar (0,92g/L±0,01) e Katz (0,61g/L±0,03). Ácido succínico foi encontrado apenas nas bebidas produzidas pelas metodologias de Canakapalli (0,13g/L±0,04) e Baudar (0,38g/L±0,03). O ácido propiônico foi encontrado para os métodos de Canakapalli, na concentração de 0,4g/L±0,03, e em quantidades menores para Katz, 0,16g/L±0,02. Segundo Smid e Lacroix (2013) e Ghaffar *et. al* (2014), o ácido láctico tem potencial para ser utilizado

como substrato para a produção microbiana de ácido propiônico, ou seja, as bactérias ácido lácticas produzem o ácido láctico que atuará como substrato para o crescimento das bactérias responsáveis pela formação do ácido propiônico, e consequentemente o aumento deste (Bezirci *et. al*, 2023). No entanto, o ácido láctico detectado, em quantidades baixas na fermentação da bebida, pode ter servido como substrato para as bactérias produzirem o ácido propiônico que foi detectado em baixas concentrações.

Paredes *et. al* (2022) produziram uma bebida fermentada de kefir, obtida a partir de suco da mistura de maçã, morango, cenoura e beterraba, avaliando os efeitos das concentrações dos grãos de kefir (1, 2, 3 e 4%) e tempo de fermentação (12, 24 e 48 horas). Os autores analisaram as quantidades de ácidos orgânicos formados como, láctico, acético, cítrico, succínico e málico e relataram que houve aumento significativo de ácido láctico com o tempo de fermentação e concentração de grãos utilizados, portanto, em maior tempo e concentração de grãos, o teor do ácido atingiu 3,25g/L. Os outros ácidos, acético, cítrico, succínico e málico, nessas mesmas condições atingiram as concentrações de 0,27, 0,53, 0,38 e 1,76g/L.

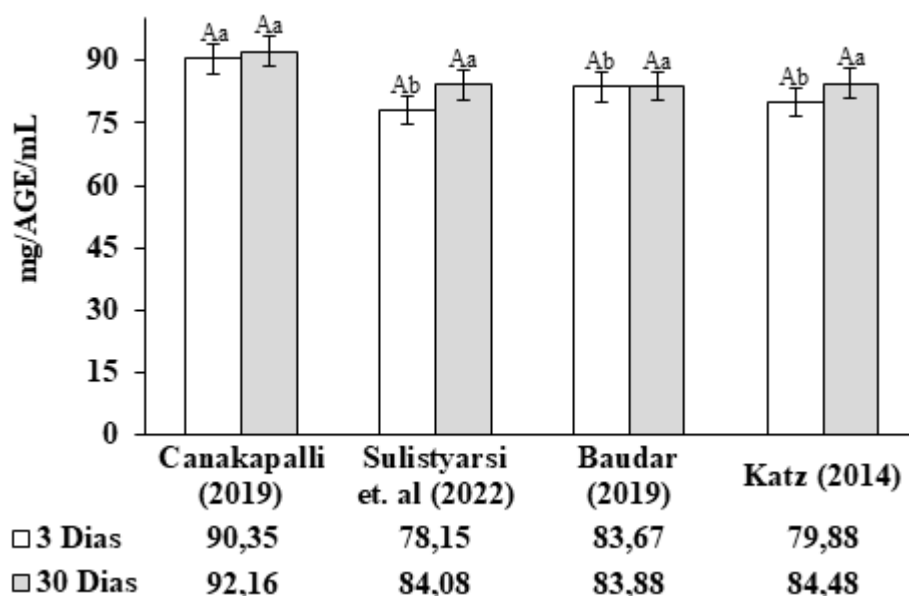
A diversidade de ácidos detectados no presente trabalho, podem ser explicados pelo consórcio microbiano, que metaboliza a sacarose do meio produzindo vários ácidos (Jayabalan *et. al*, 2007). De acordo com Coelho *et. al* (2020) e Martinez Leal *et. al* (2018), esses ácidos orgânicos possuem propriedades antibacterianas que podem evitar que bactérias patogênicas contaminem a bebida.

Outro componente encontrado nas bebidas foi o glicerol, nas concentrações de $0,56 \pm 0,02$, $0,42 \pm 0,01$, $1,11 \pm 0,03$ e $1,22 \pm 0,02$ g/L, para as metodologias de Canakapalli, Sulistyarsi *et. al*, Baudar e Katz, respectivamente. Além de etanol, o glicerol é um dos principais produtos da fermentação por leveduras, podendo ter seu aumento durante o processo fermentativo associado ao aumento da população de leveduras (Miguel *et. al*, 2012). Por ser um poliálcool viscoso, com leve sabor adocicado, ele contribui principalmente para o corpo em bebidas fermentadas, responsável por intensificar o sabor doce e suprimir a rugosidade percebida além de aumentar a retenção de sabor desagradável influenciando na volatilidade do aroma. Além disso, em situações de estresse osmótico, provocado, por exemplo, por elevadas concentrações de açúcares, o glicerol é o principal soluto produzido pela célula como forma de contrabalançar a pressão osmótica externa. Tal fato pode explicar as maiores quantidades de glicerol encontradas, neste trabalho, nas bebidas que continham maiores teores de açúcares, Baudar e Katz (Omori *et. al*, 1995; Scanes *et. al*, 1998; Peleg *et. al*, 1999; Jones *et. al*, 2008; Zhao *et. al*, 2015).

5.2.2.4 Fenólicos totais

O poder antioxidante em alguns alimentos pode ser atribuído ao seu teor de compostos fenólicos totais. A Figura 5.15 mostra o gráfico dos valores encontrados de fenólicos totais equivalentes, em mg de ácido gálico por mL de amostra, para as bebidas fermentadas neste estudo, de acordo com cada metodologia.

Figura 5.15 - Fenólicos totais equivalentes a mg de ácido gálico (mg AGE/ mL de amostra).



Não há evidência suficiente de que médias seguidas por uma mesma letra maiúscula (tempo de fermentação) ou minúscula (metodologia) diferem estatisticamente entre si pelo teste SNK a 5% de probabilidade de erro. Barras representam o desvio padrão das médias. C.V. = 4,14%.

Ao analisar o gráfico pode-se concluir que a quantidade de fenólicos não difere nas bebidas com 3 e 30 dias de fermentação. Pode observar também que com 3 dias de fermentação a metodologia de Canakapalli (2019) foi a que apresentou maior quantidade de fenólicos que as demais, que se mantiveram iguais entre si, enquanto com 30 dias de fermentação não houve diferença na quantidade de fenólicos de uma metodologia para outra, mantendo-se iguais.

Segundo Hernández *et. al* (2006) e Pacheco *et. al* (2022), na fermentação malolática ocorre uma reorganização da composição química das bebidas que, além do aumento de pH e redução de acidez, o que contribui para o sabor, ocorre a evolução do perfil fenólico. Neste trabalho, apesar da queda da acidez e aumento de pH em algumas bebidas, não houve evolução

significativa dos valores de fenólicos indicando aumento com o tempo de fermentação, contrariando assim a ocorrência de uma fermentação malolática completa.

5.2.3 Análises microbiológicas

A quantificação de bactérias e leveduras totais das bebidas fermentadas é descrita pela Tabela 5.6, em UFC/mL. Pode-se notar que a presença de leveduras brancas gelatinosas e opacas nas bebidas se encontram em maior quantidade que as bactérias, para todas as metodologias. Segundo Ramos *et. al* (2010), ocorre uma associação simbiótica entre as bactérias mesófilas coexistentes, as bacterias ácido lácticas (LAB) e leveduras durante a fermentação espontânea para produção de bebidas fermentadas. As LAB são tolerantes a ácidos e muitas vezes dominam a fermentação de cereais e hortaliças, principalmente devido à sua capacidade de transportar e metabolizar diferentes carboidratos (McDonald, Fleming e Hassan; 1990). Porém, o crescimento de leveduras em alimentos e bebidas fermentados, é favorecido pela acidificação do ambiente por bactérias, e o crescimento de bactérias é estimulado pela presença de leveduras, que podem fornecer fatores de crescimento como vitaminas, nitrogênio solúvel e outros compostos (Nout & Sarkar, 1999).

Tabela 5.6 - Quantificação de bactérias e fungos totais nas bebidas fermentadas.

Metodologia	Bactérias totais	Leveduras totais
Canakapalli	$1,9 \times 10^6$ UFC/mL	5×10^6 UFC/mL
Sulistyarsi <i>et. al</i>	7×10^5 UFC/mL	2×10^6 UFC/mL
Baudar	$3,7 \times 10^4$ UFC/mL	$1,4 \times 10^7$ UFC/mL
Katz	$5,9 \times 10^5$ UFC/mL	1×10^6 UFC/mL

Dwiloka *et. al* (2020) fizeram a *ginger ale* com a substituição do açúcar branco para o açúcar de palma em concentrações de 0%, 25%, 50%, 75% e 100%, para comparação em diversas de características físico-químicas como pH, açúcares totais, teor alcoólico além da contagem de micróbios totais. Os autores identificaram e quantificaram a levedura *Saccharomyces cerevisiae* em $1,29 \times 10^6$ UFC/mL.

Garofalo *et. al* (2020) estudaram a dinâmica microbiana que ocorre durante a produção de kefir de cinco grãos coletados na Bósnia e Hierzegovina e caracterizaram as bebidas produzidas quanto aos parâmetros físico-químicos e microbiológicos. Os autores encontraram nas bebidas fermentadas bactérias ácido lácticas e acéticas a 10^8 UFC/mL e leveduras a 10^6

UFC/mL. Canakapalli (2019) que produziu a *ginger beer* quantificou 10^6 UFC/mL para leveduras em suas bebidas, porém não foi sequenciado o DNA para identificação.

Podemos observar que a quantificação das culturas presentes nas bebidas deste trabalho não se distancia da encontrada em alguns estudos de outras bebidas fermentadas como kombuchas e kefir.

Já Bromley e Perry (2022) fizeram uma bebida de kombucha com chá preto e constataram que após 8 dias da fermentação, a viabilidade *Lactobacillus spp.* diminuiu apresentando valores entre 10^1 e 10^3 UFC/mL, sendo observado um decréscimo populacional considerável por volta do sexto dia de acidificação.

Quanto aos probióticos, foram encontradas bactérias ácido lácticas (LAB) como *Lactobacillus* e *Streptococcus* em todas as bebidas produzidas, porém em quantidades menores que 10^6 para ser considerada como bebida probiótica em potencial (Matei *et. al*, 2018; Marco *et. al* 2021). Essas bactérias produzem ácido lático como principal produto metabólico da fermentação e a acidificação inibe o crescimento de agentes de deterioração, além da produção de bacteriocinas proteicas por várias cepas de LAB o que fornece um obstáculo para a deterioração e microrganismos patogênicos (Reuben *et. al*, 2020 e Kim *et. al*, 2022). Além disso, o ácido lático e outros produtos metabólicos contribuem para o perfil sensorial e textural do alimento. A quantificação dessas bactérias é apresentada na Tabela 5.7, em UFC/g.

Tabela 5.7 - Quantificação de bactérias probióticas: *Lactobacillus* e *Streptococcus*.

Metodologia	<i>Lactobacillus</i>	<i>Streptococcus</i>
Canakapalli	$4,0 \times 10^5$ UFC/g	$5,7 \times 10^5$ UFC/g
Sulistyarsi <i>et. al</i>	$2,5 \times 10^4$ UFC/g	$3,2 \times 10^3$ UFC/g
Baudar	$4,3 \times 10^5$ UFC/g	$4,1 \times 10^3$ UFC/g
Katz	$3,7 \times 10^4$ UFC/g	$2,9 \times 10^2$ UFC/g

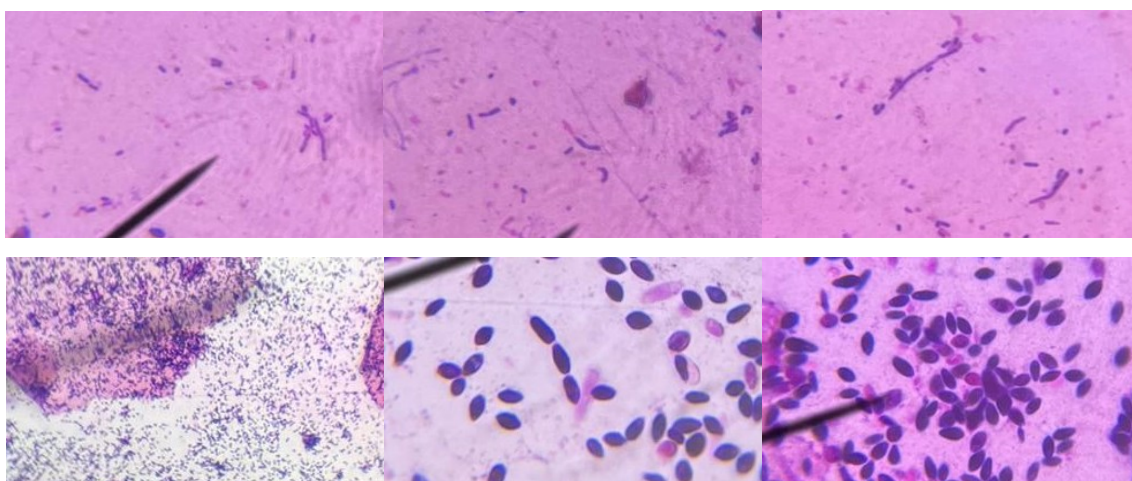
Canakapalli (2019), em seus estudos de produção da *ginger beer*, detectaram a presença de bactérias com potencial probiótico em suas bebidas do gênero *Lactococcus*, porém o autor ressalta que a quantidade foi mínima e que desempenharia um pequeno papel na bebida se fosse considerada probiótica.

Sulistyarsi *et. al* (2022) também encontraram bactérias probióticas ácido lácticas na *ginger ale*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* e *Micrococcus* observadas por meio de coloração de gram e identificação macroscópica e microscópica. Os *Lactobacillus* são bactérias gram positivas, se colorem de roxo no teste da coloração de Gram, em forma de bastonetes enquanto

os *Streptococcus* possuem formato redondo e podem formar longas cadeias redondas ou podem ficar sozinhos. Ambas as bactérias também foram detectadas nas bebidas deste trabalho.

Quanto à caracterização microscópica, as placas de contagem de bactérias das bebidas, com meio PCA e coloração de Gram, apresentaram, assim como os *starters*, bactérias gram positivas em formato de bacilos e cocos, como os *Lactobacillus* e *Streptococcus* detectados e quantificados, com desenvolvimento de leveduras, em formatos circulares maiores e ovaladas em brotamento, como mostra a Figura 5.16.

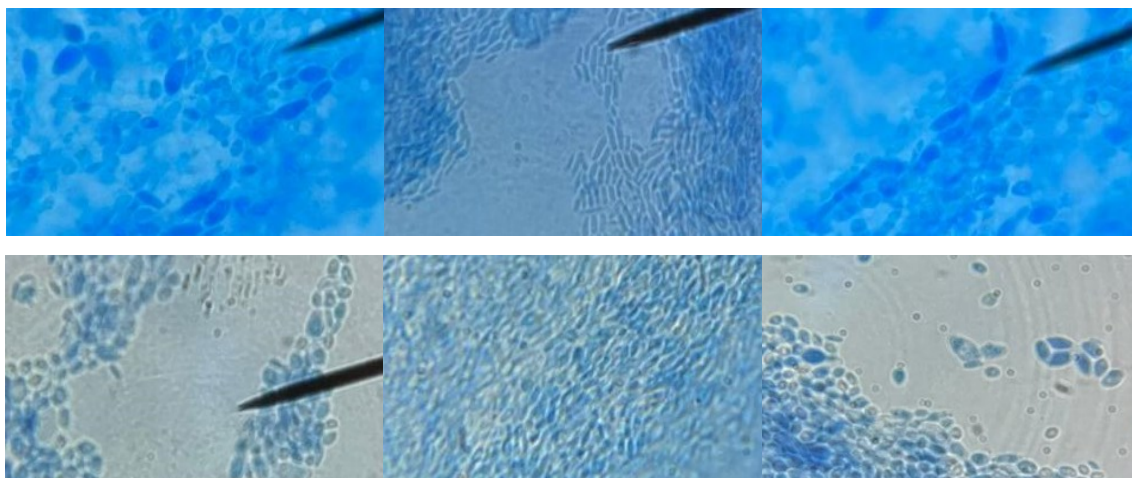
Figura 5.16 - Representação microbiana das placas das bebidas: bactérias gram positivas em bacilos e cocos com interferência leveduriforme, independente da bebida. Microscópio com objetiva de imersão (100x).



Fonte: Autora

Na visualização microscópica das placas com meio de PDA (Figura 5.17) observou-se esporos de leveduras nas formas circulares e ovaladas, com formação de brotos e a presença de leveduras com pseudohifas, como as observadas nos *starters*.

Figura 5.17 - Visualização microscópica de células de leveduras coradas com lactofenol de algodão, independente da bebida. Microscópio com objetiva de imersão (100x).



Fonte: Autora

Assim como nos *starters*, as imagens obtidas das leveduras foram comparadas com imagens obtidas em atlas de microbiologia para possível identificação (Ellis e Kidd, 1998; Tomé e Marques, 1999). As espécies de leveduras encontradas nas bebidas (Figura 5.16) apresentam muita semelhança àquelas vistas nos *starters* anteriormente, assim como as bactérias gram positivas vistas na Figura 5.15, foram responsáveis por toda a fermentação e se mantiveram íntegras nas bebidas. Logo, as imagens obtidas das leveduras foram comparadas com imagens obtidas em atlas de microbiologia para possível identificação, o formato das leveduras nas placas são circulares, esbranquiçadas brilhosas, lisas e opacas, e se assemelham à *Wickerhamomyces anomala*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Cutaneotrichosporon curvatus*, *Rhotorula Glutinis* e *Candida glabrata*, assim como nos *starters*.

Foram feitas também as análises microbiológicas para verificação da qualidade higiênico sanitária da bebida, Coliformes totais, e a 45°C, e Salmonella, conforme a Instrução Normativa IN nº 161/22 (Brasil, 2001; Power e Johnson, 2009). As bebidas não apresentaram contagem para Salmonella. Quanto aos Coliformes totais, no primeiro teste, o presuntivo, houve uma dúvida quanto a formação de gás em tubo de *Durham*, o que indicaria fermentação ativa, mas logo em seguida foi confirmado a ausência dessas bactérias nas bebidas pelo teste confirmativo.

5.2.4 *Estudo e comparação das metodologias das culturas iniciais utilizadas para produção da bebida em maior escala*

O intuito principal do presente trabalho foi a produção de bebida não alcoólica fermentada por cultura presente no gengibre, portanto o critério considerado mais relevante para a escolha da metodologia a ser utilizada para as culturas iniciais, *ginger bug*, para a produção da bebida em escala maior, foi o teor alcoólico. Diante do exposto, as metodologias utilizadas para produção dos *starters* que atenderam ao objetivo foram Canakapalli (2019) e Sulistyarsi *et. al* (2022), que produziram bebidas com teores alcoólicos de 0,39%v/v e 0,44%v/v. Além disso, após o 15º de armazenamento as bebidas continuaram nesta classificação, com teores de 0,45%v/v e 0,46%v/v, como visto nos tópicos anteriores. A metodologia de Sulistyarsi *et. al*, além de apresentar baixo teor alcoólico na cultura inicial e a bebida produzida com teor alcoólico, abaixo de meio por cento em volume, sendo classificada como não alcoólica, os teores de ácidos orgânicos encontrados como, acético e láctico, também foram mais baixos. Outro fator relevante é o ponto de vista financeiro, a metodologia se mostra a mais vantajosa e econômica uma vez que seu processo é feito por batelada não alimentada por menor período. Portanto, a metodologia de Sulistyarsi *et. al* (2022) foi a escolhida para realização da análise sensorial.

5.2.5 *Análise sensorial*

A análise sensorial desempenha um papel essencial no desenvolvimento e sucesso de um novo produto, pois a ferramenta permite compreender a percepção dos consumidores ao interagir com o produto. A metodologia de Sulistyarsi *et. al* (2022) foi a escolhida para produção da bebida fermentada não alcoólica para sensorial pois, além da economia de tempo e financeira, foi um dos *starters* que apresentou menor teor de álcool para produção da bebida.

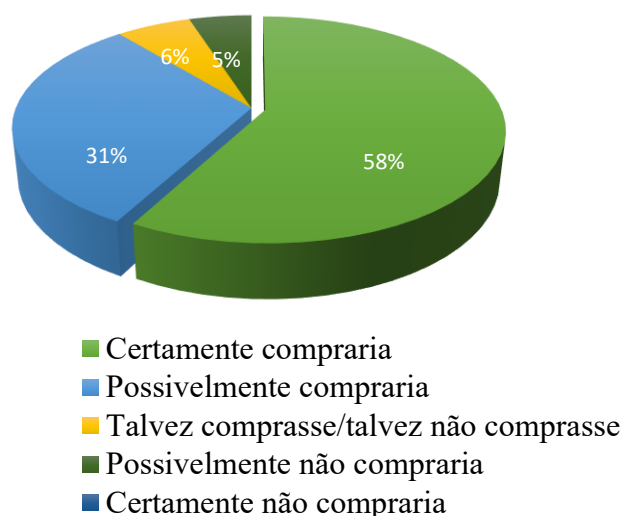
A Tabela 5.8 mostra os resultados da escala hedônica estruturada com 9 pontos (1 = desgostei muitíssimo e 9 = gostei muitíssimo), e as médias permaneceram entre os escores 7 e 8, “gostei moderadamente” à “gostei muito”, respectivamente, para todos os parâmetros.

Tabela 5.8 - Valores obtidos da escala hedônica estruturada de 9 pontos.

	Aparência	Cor	Textura	Aroma	Sabor	Modo Geral
Pontos	7,62	7,47	7,84	7,13	7,71	7,78
(%)	84,7%	83,0%	87,1%	79,2%	85,7%	86,4%

Com esses dados percebeu-se a satisfação dos participantes ao consumirem a bebida fermentada, uma vez que ela foi muito bem aceita por mais de 79% dos provadores. Os comentários positivos sobre a bebida se destacaram e ela foi comparada a bebidas industrializadas já existentes no mercado como, Schweppes Citrus e Sprite. Comentários não satisfatórios relataram uma bebida mais ácida e menos doce. A Figura 5.18 mostra a avaliação quanto a intenção de compra de bebida fermentada produzida neste trabalho.

Figura 5.18 - Avaliação da intenção de compra da bebida fermentada.



A avaliação da intenção de compra das bebidas, em escala mista estruturada de 5 pontos, mostrou que 58% das pessoas que participaram certamente comprariam o produto e outras 31% possivelmente comprariam. Apenas 6% das pessoas relataram que talvez comprariam ou talvez não comprariam e 5% possivelmente não comprariam. Nenhum dos provadores relatou que certamente não compraria o produto. Desta forma, a bebida apresentada neste trabalho mostrou-se promissora uma vez que, além de segura para consumo, se mostrou muito apreciada pelos provadores.

Outras bebidas fermentadas não alcoólicas, como a kombucha, também apresentaram notas boas quanto a gosto e boa aceitabilidade pelos provadores.

Zou *et. al*, (2021) fizeram a análise sensorial da kombucha feita com chá de *Zijuan*, uma cultivar rica em antocianinas representativa na China, para comparação em relação a preferência da kombucha feita com chá preto e chá verde. As bebidas foram avaliadas por uma equipe treinada de 8 jurados, entre 23 e 50 anos. Foi utilizada a escala de 9 pontos para sabor, odor, cor e aceitabilidade das bebidas. Os autores relataram que a pontuação para o sabor da bebida feita com *Zijuan* foi 6,7, sendo 5,8 e 4,0% inferior as bebidas feitas com chá preto e

verde, respectivamente. Quanto a pontuação para odor, a kombucha feita com *Zijuan* teve nota 7,1, sendo 4,5% menor que a bebida obtida para a kombucha de chá verde e 10% maior que a de chá preto. Quanto a cor, a bebida nova obteve pontuação de 8,4, representando 17% maior que as outras bebidas, devido a cor atraente rosa salmão pouco frequente em bebidas de chás. De modo geral, a nova bebida produzida apresentou a pontuação mais alta em aceitabilidade, com nota 7,7 entre as três bebidas de kombucha analisadas.

Xiong *et. al* (2024) ao desenvolverem uma kombucha utilizando alcaçuz e gengibre, como matérias-primas alternativas para o preparo das bebidas fermentadas, analisaram sensorialmente a bebida. A qualidade sensorial da bebida foi avaliada por um painel de 8 indivíduos do departamento de nutrição da escola de saúde pública da Universidade Sun Yat-Sen, envolvendo odor, cor, sabor e aceitabilidade geral em escala de 9 pontos. Para a bebida de alcaçuz a maior pontuação foi para cor, próximo de 7, para odor esteve próximo a 6,8, sabor em torno de 6,5 e aceitabilidade geral 6,6. A kombucha de gengibre, sem resíduos, apresentou pontuação próximo a 6,5 para cor, odor em torno de 7 e próximo de 6,8 para o gosto, quanto a aceitabilidade geral foi 6,5.

6 CONCLUSÃO

A metodologia Sulistyarsi *et. al* (2022) foi a que se mostrou mais vantajosa para utilização como cultura fermentadora pois, além da economia de tempo e financeira, devido ao processo batelada não alimentada em espaço menor de tempo (durante quatro dias), e a contagem de bactérias e leveduras satisfatória como cultura inicial, também foi um dos *starters* que apresentou menor teor de álcool para produção da bebida. As características físico-químicas das bebidas, como pH e acidez, obedeceram às normalidades da IN N°41 de 2019, que estabelece o Padrão de Identidade e Qualidade da Kombucha, e IN N°34 de 2012, que estabelece padrões para Bebidas fermentadas de Frutas. As bebidas obtidas pelas metodologias de Canakapalli (2019) e Sulistyarsi *et. al* (2022) se classificaram como bebidas não alcoólicas até o 15° dia de armazenamento sob refrigeração, além de maiores quantidades de fenólicos. Os reatores de garrafas PET apresentaram-se totalmente rígidos e seguros ao terceiro dia de fermentação. Todas as bebidas continham bactérias de potencial probiótico como *Lactobacillus* e *Streptococcus*, porém em quantidades não satisfatórias para se caracterizarem como sendo bebidas probióticas. As bebidas também foram consideradas seguras para o consumo, uma vez que não apresentaram contagens de Coliformes totais, e a 45°C, pelo teste de tubos múltiplos e Salmonella por Reveal® 2.0.

A bebida apresentada como não alcoólica teve notas bastante altas na análise sensorial, tanto na escala de gosto quanto na escala de intenção de compra, o que a torna uma bebida bastante promissora pois, além de muito bem aceita e segura para consumo, ela apresenta uma forma de refrigerante saudável que pode ser consumido por pessoas de todas as idades.

7 REFERÊNCIAS

ABACI, N., DENIZ, F. S. S., & ORHAN, I. E. (2022). Kombucha-An ancient fermented beverage with desired bioactivities: A narrowed review. *Food Chemistry: X*, 14, 100302.

<https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100302>

ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 14141: escalas utilizadas em análise sensorial de alimentos e bebidas. Rio de Janeiro, 1998.

ADENIRAN, A. H., ABIOSE, S. H., & UKEYIMA, M. T. (2010). Microbiological assessment of probioticated ginger-based beverages. *Nutrition & Food Science*, 40(2), 209-220.

<https://doi.org/10.1108/00346651011029246>

AHMED, Z.; WANG, Y.; AHMAD, A.; KHAN, S. T.; NISA, M.; AHMAD, H.; AFREEN, A. Kefir and Health: a contemporany perspective. *Food Sci Nutr*, v. 53, p. 422-434, 2015.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2010.540360>

AIDOO, K. E., AND NOUT, M. J. R. (2010). "Functional yeasts and molds in fermented foods and beverages," in *Fermented Foods and Beverages of the World*, eds J. P.Tamang and K. Kailasapathy (New York, NY: CRC Press, Taylor and Francis Group), 127-148.

<https://doi.org/10.1201/EBK1420094954-c4>

ALMEIDA, N.G. Aspectos econômicos da cultura do gengibre Curitiba: Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento, SEAB, Departamento de Economia Rural, DERAL, 2007. 9p.

ALMEIDA, F. L. C., OLIVEIRA, E. N. A. D., ALMEIDA, E. C., SILVA, L. N. D., SANTOS, Y. M. G. D., & LUNA, L. C. (2020). Estudo sensorial de bebidas alcoólicas de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes). *Brazilian Journal of Food Technology*, 23.. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.20819>

ALRADDADI, F. A., ROSS, T., & POWELL, S. M. (2023). Evaluation of the microbial communities in kefir grains and kefir over time. *International Dairy Journal*, 136. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105490>

ALTAY, F.; KARBANCIOGLU-GÜLER, F.; DASKAYA-DIKMEN, C.; HEPERKAN, D. A review on traditional Turkish fermented non-alcoholic beverages: microbiota, fermentation process and quality characteristics. *International Journal of Food Microbiology*, v. 167, n. 1, p. 44-56, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.06.016>

AN, X., WANG, Z., LI, J., NIE, X., LIU, K., ZHANG, Y., & AO, C. (2022). Analysis of flavor-related compounds in fermented persimmon beverages stored at different temperatures. *LWT*, 163, 113524. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113524>

ANDERSON, H.E., SANTOS, I.C., HILDENBRAND, Z.L., SCHUG, K.A., 2019. A review of the analytical methods used for beer ingredient and finished product analysis and quality control. *Anal. Chim. Acta* 1085, 1-20. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.07.061>

ANDRIETTA, S. R., MAUGERI, F., GALINDO, E., & RAMIREZ, O. T. (1994). *Advances in Bioprocess Engineering*.

ANTON, D., RAUDSEPP, P., ROASTO, M., MEREMÄE, K., KUUSIK, S., TOOMIK, P., ... & PÜSSA, T. (2016). Comparative study of microbiological, chemical and sensory properties of kefirs produced in Estonia, Latvia and Lithuania. *Journal of Dairy Research*, 83(1), 89-95.
<https://doi.org/10.1017/S0022029915000710>

ANTONIASSI, Fernanda Mincev; MARTINS, Bruna Letícia; DE QUEIROZ-FERNANDES, Geisiany Maria. Identificação presuntiva de leveduras de interesse biotecnológico em grãos de kefir. *Acta Biomedica Brasiliensia*, v. 8, n. 2, p. 111-117, 2017.
<https://doi.org/10.18571/acbm.145a>

ANTUNES, A. E., VINDEROLA, G., XAVIER-SANTOS, D., & SIVIERI, K. (2020). Potential contribution of beneficial microbes to face the COVID-19 pandemic. *Food research international*, 136, 109577.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109577>

AOAC, Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, 1995.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Methods of analysis of the AOAC International. 17th ed. Washington, 2000

AOAC. (2002). Yeast and mold counts in foods. Dry rehydratable film method, 997.02-2000 (16th ed.). Washington DC: AOAC Int.

APONTE, M., ROMANO, R., VILLANO, C., BLAIOTTA, G., 2020. Dominance of *S. cerevisiae* commercial starter strains during Greco di Tufo and Aglianico wine fermentations and evaluation of oenological performances of some indigenous/residential strains. *Foods*, 9, 1549.
<https://doi.org/10.3390/foods9111549>

ARAÚJO, C. S., MACEDO, L. L., & TEIXEIRA, L. J. Q. (2023). Use of mid-infrared spectroscopy to predict the content of bioactive compounds of a new non-dairy beverage fermented with water kefir. *LWT*, 176, 114514. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114514>

ATKINS, P.; JONES, L. *Princípios de Química: questionando a vida moderna e o meio ambiente*. 3. ed. Porto Alegre, RS: Bookman, 2006.

AUNG, T., & EUN, J.-B. (2021a). Production and characterization of a novel beverage from laver (*Porphyra dentata*) through fermentation with kombucha consortium. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129274>

AUNG, T., & EUN, J.-B. (2022b). Impact of time and temperature on the physicochemical, microbiological, and nutraceutical properties of laver kombucha (*Porphyra dentata*) during fermentation. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112643>

AXELSSON, L. (2004). Lactic acid bacteria: classification and physiology. *Food Science and Technology-New York-Marcel Dekker-*, 139, 1-66. <https://doi.org/10.1201/9780824752033.ch1>

AYED, L., BEN ABID, S., HAMDI, M., 2016. Development of a beverage from red grape juice fermented with the kombucha consortium. *Ann. Microbiol.* 67 (1), 111-121. <https://doi.org/10.1007/s13213-016-1242-2>

BAMFORTH, C.W., 2009. Current perspectives on the role of enzymes in brewing. *J. Cereal Sci.* 50 (3), 353-357. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2009.03.001>

BARBOZA-CORONA, J. E., VÁZQUEZ-ACOSTA, H., SALCEDO-HERNÁNDEZ, R., & BAUTISTA-JUSTO, M. (2004). Probióticos y conservadores naturales en alimentos.

Acta Universitaria, 14(3), 32-38.
<https://doi.org/10.15174/au.2004.224>

BARGHINI, A. Cauim: entre comida e ebriedade. Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas, v. 13, p. 561-571, 2018.
<https://doi.org/10.1590/1981.81222018000300005>

BARRERE, J., NANDA, P., & MURRAY, A. W. (2023). Alternating selection for dispersal and multicellularity favors regulated life cycles. *Current Biology*, 33(9), 1809-1817.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2023.03.031>

BAUDAR, P. The Wildcrafting Brewer: Creating Unique Drinks and Boozy Concoctions from Nature's Ingredients- Primitive beers, country wines, herbal meads, natural sodas and more. Editora Chelsea Green, 2018.

BAUER, R., & DICKS, L. M. T. (2017). Control of Malolactic Fermentation in Wine. A Review. *South African Journal of Enology & Viticulture*, 25(2).
<https://doi.org/10.21548/25-2-2141>

BEN HAMMOUDA, M., MAHFOUDHI, A., GHARSALLAH, H., EL HATMI, H., ATTIA, H., & AZABOU, S. (2021). Traditional homemade Tunisian vinegars: Phytochemical profile, biological, physicochemical and microbiological properties. *LWT*, 152, Article 112293.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112293>

BETTENHAUSEN, H.M., BARR, L., BROECKLING, C.D., CHAPARRO, J.M., HOLBROOK, C., SEDIN, D., HEUBERGER, A.L., 2018. Influence of malt source on beer chemistry, flavor, and flavor stability. *Food Res. Int.* 113 (July), 487-504..
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.024>

BHATTACHARYA, S., GACHHUI, R., & SIL, P. C. (2013). Effect of kombucha, a fermented black tea in attenuating oxidative stress mediated tissue damage in alloxan induced

diabetic rats. Food and Chemical Toxicology, 60, 328-340.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.07.051>

BHUSHAN, I., SHARMA, M., MEHTA, M., BADYAL, S., SHARMA, V., SHARMA, I., SISTLA, S. (2021). Bioactive compounds and probiotics-a ray of hope in COVID-19 management. Food Science and Human Wellness, 10(2), 131-140.
<https://doi.org/10.1016/j.fshw.2021.02.001>

BIER, O. Bacteriologia e microbiologia. 18.ed. São Paulo: Melhoramentos, 1977. 1056p.

BLANDINO, A., AL-ASEERI, M. E., PANDIELLA, S. S., CANTERO, D., & WEBB, C. (2003). Cereal-based fermented foods and beverages. Food research international, 36(6), 527-543.
[https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(03\)00009-7](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(03)00009-7)

BONCIANI T, SOLIERI L, DE VERO L, GIUDICI P (2016) Improved wine yeasts by direct mating and selection under stressful fermentative conditions. Eur Food Res Technol 6(6):899-910.
<https://doi.org/10.1007/s00217-015-2596-6>

BONCIANI, T., DE VERO, L., MEZZETTI, F., FAY, J. C., & GIUDICI, P. (2018). A multi-phase approach to select new wine yeast strains with enhanced fermentative fitness and glutathione production. Applied Microbiology and Biotechnology, 102(5), 2269-2278.
<https://doi.org/10.1007/s00253-018-8773-3>

BOSCOLO, M., BEZERRA, C. W. B., CARDOSO, D. R., LIMA NETO, B. S., & FRANCO, D. W. (2000). Identification and dosage by HRGC of minor alcohols and esters in Brazilian sugar-cane spirit. Journal of the Brazilian Chemical Society, 11(1), 86-90.
<https://doi.org/10.1590/S0103-50532000000100015>

BRAHMA, S., NAIK, A., & LORDAN, R. (2022). Probiotics: A gut response to the COVID-19 pandemic but what does the evidence show? *Clinical Nutrition ESPEN*. [https://doi:https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2022.08.023](https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2022.08.023)

BRASIL. (1994). Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas, autoriza a criação da Comissão Intersetorial de Bebidas e dá outras providências. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*.

BRASIL. 2005. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Métodos Físico-Químicos para Análises de Alimentos. *Diário Oficial da União Brasília: Ministério da Saúde*, 2005. 1018p.

BRASIL. 2012. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Instrução Normativa no 34, de 29 de novembro de 2012 - Estabelece a completção dos padrões e identidade e qualidade para bebidas fermentadas. *Diário Oficial da União*, 30 nov 2012. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/sementes-e-mudas/publicacoes-sementes-e-mudas/INN35de29denovembrode2012.pdf>. Acesso em: 17 de agosto, 2023.

BRASIL, Food Ingredients. Aplicações do ácido cítrico na indústria de alimentos. *Food Ingredients Brasil*, v. 30, p. 96-103, 2014. Disponível em: https://revista-fi.com/upload_arquivos/201606/2016060501597001464892932.pdf

BRASIL. 2019. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Instrução Normativa no 41, de 17 de setembro de 2019 - Estabelece o Padrão de Identidade e Qualidade da Kombucha *Diário Oficial da União*. 18 set 2019. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-41-de-17-de-setembro-de-2019-216803534>. Acesso em: 17 de novembro, 2023

BROMLEY, A., & PERRY, J. (2022). Survival of probiotic *Lactobacillus* spp. during kombucha fermentation. *Current Developments in Nutrition*, 6(Supplement 1), 507-507.
<https://doi.org/10.1093/cdn/nzac077.010>

BUCKENHUSKES, H.; GESSLER, A.; GIETRSCNER, K. Analytical characterization of canned and pasteurized sauerkraut. *Ind Obst Gemuserverwert*, v. 73, p. 434-463, 1988.

BUATONG, A., MEIDONG, R., TRONGPANICH, Y., & TONGPIM, S. (2022). Production of plant-based fermented beverages possessing functional ingredients antioxidant, γ -aminobutyric acid and antimicrobials using a probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* strain L42g as an efficient starter culture. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 134(3), 226-232.
<https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2022.05.008>

CANAKAPALLI, Sushumna S. Analysis of the microbiome of homebrewed ginger beer for detection of probiotics and determination of safety. 2019.
https://ir.library.oregonstate.edu/concern/honors_college_theses/73666b11h.

CAMPBELL-PLATT, G. (1994). Fermented foods - a world perspective. *Food Research International*, 27(3), 253-257.
[https://doi.org/10.1016/0963-9969\(94\)90093-0](https://doi.org/10.1016/0963-9969(94)90093-0)

CARDOSO, R. R., NETO, R. O., DOS SANTOS D'ALMEIDA, C. T., DO NASCIMENTO, T. P., PRESSETE, C. G., AZEVEDO, L., & DE BARROS, F. A. R. (2020). Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food research international*, 128, 108782.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108782>

CARR, F. J., CHILL, D., & MAIDA, N. (2002). The lactic acid bacteria: a literature survey. *Critical reviews in microbiology*, 28(4), 281-370.
<https://doi.org/10.1080/1040-840291046759>

CARVALHO, A.M.X.; MENDES, F.Q.; MENDES, F.Q.; TAVARES, L.F. SPEED Stat: a free, intuitive, and minimalist spreadsheet program for statistical analyses of experiments. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 20(3): e327420312, 2020.
<https://doi.org/10.1590/1984-70332020v20n3s46>

CECCHI, H. M. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. 2ed. Campinas - SP. Ed. Unicamp, 2003. 206 pgs.
<https://doi.org/10.7476/9788526814721>

CETESB; ANA. Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidas. São Paulo: CETESB; Brasília, DF: ANA. 2011. 325 p. Disponível em: Acesso em: set. 2022.

CHAKRAVORTY, S.; BHATTACHARYA, S.; CHATZINOTAS, A.; CHAKRABORTY, W.; BHATTACHARYA, D.; GACHHUI, R. (2016). Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology*, S0168160515301951.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015>

CHELULE, P. K., MBONGWA, H. P., CARRIES, S., & GQALENI, N. (2010). Lactic acid fermentation improves the quality of amahewu, a traditional South African maize-based porridge. *Food Chemistry*, 122(3), 656-661.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.026>

CHEN, Y., CHEN, L., LIU, L., BI, X., & LIU, X. (2023). Characteristics of microbial communities in fermentation of pickled ginger and their correlation with its volatile flavors. *Food Bioscience*, 53, 102736.
<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102736>

CHILTON, S., BURTON, J., & REID, G. (2015). Inclusion of Fermented Foods in Food Guides around the World. *Nutrients*, 7(1), 390-404.
<https://doi.org/10.3390/nu7010390>

CHISTI, Y., MOO-YOUNG, M., 1999. Fermentation technology, bioprocessing, scale-up and manufacture. In: Moses, V., Cape, R.E., Springham, D.G. (Eds.), *Biotechnology: The Science and the Business*, second ed. Harwood Academic Publishers, New York, pp. 177-222.
<https://doi.org/10.1201/9781003078432-13>

CHISTI, Y.; MOO-YOUNG, M. (1994). Clean-in-place systems for industrial bioreactors: Design, validation and operation. *Journal of Industrial Microbiology*, 13(4), 201-207.
<https://doi.org/10.1007/BF01569748>

CHISTI, Yu. Fermentation technology. *Industrial biotechnology: sustainable growth and economic success*, p. 149-171, 2010.
<https://doi.org/10.1002/9783527630233.ch3>

CHISTI, Y. (2014). FERMENTATION (INDUSTRIAL) | Basic Considerations. *Encyclopedia of Food Microbiology*, 751-761. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00106-3>

CHITRA, U., SINGH, U., & VENKATESWARA RAO, P. (1996). Phytic acid, in vitro protein digestibility, dietary fiber, and minerals of pulses as influenced by processing methods. *Plant Foods for Human Nutrition*, 49(4), 307-316.
<https://doi.org/10.1007/BF01091980>

CHITARRA, M.I.F; CHITARRA, A.B. Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio. 2Ed., Lavras: UFLA, 2005. 783p. Figueiredo, R.W. Qualidade e bioquímica de

parede celular durante o desenvolvimento, maturação e armazenamento de pedúnculo de caju. 2000, 154p. Tese (doutorado), USP, São Paulo.

COELHO, R. M. D., ALMEIDA, A. L. DE, AMARAL, R. Q. G. DO, MOTA, R. N. DA, & SOUSA, P. H. M. de. (2020). Kombucha: Review. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 22, 100272.
<https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100272>

DA SILVA, M. M., DE SOUZA, A. C., FARIA, E. R., MOLINA, G., DE ANDRADE NEVES, N., MORAIS, H. A., DIAS, D. R., SCHWAN, R. F., & RAMOS, C. L. (2022). Use of kombucha SCOBY and commercial yeast as inoculum for the elaboration of novel beer. *Fermentation*, 8(12), 1-14.
<https://doi.org/10.3390/fermentation8120748>

DARWIN, C. A origem das espécies. 3a ed. São Paulo. Editora Martin Claret. Tradução. 1859 [2004].

DAY, L.; MCSWEENEY, P. L. H. (2016). Beverages. Reference Module in Food Science.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03409-0>

DE ANCHIETA CÂMARA JÚNIOR, A., MARÉCHAL, P.-A., TOURDOT-MARÉCHAL, R., & HUSSON, F. (2019). Oxidative stress resistance during dehydration of three non-Saccharomyces wine yeast strains. *Food Research International*.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.04.059>

DE FRANCESCO, G., MARCONI, O., SILEONI, V., & PERRETTI, G. (2021). Barley malt wort and grape must blending to produce a new kind of fermented beverage: A physicochemical composition and sensory survey of commercial products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 103, 104112.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104112>

DE FILIPPIS, F., TROISE, A. D., VITAGLIONE, P., & ERCOLINI, D. (2018). Different temperatures select distinctive acetic acid bacteria species and promotes organic acids production during Kombucha tea fermentation. *Food Microbiology*, 73, 11-16. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.01.008>

DE GUIDI, I., LEGRAS, J. L., GALEOTE, V., & SICARD, D. (2023). Yeast domestication in fermented food and beverages: past research and new avenues. *Current Opinion in Food Science*, 101032. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2023.101032>

DERKYI, N. S. A., ACHEAMPONG, M. A., MWIN, E. N., AIDOO, S. C., & TETTEH, P. (2018). Product design for a functional non-alcoholic drink. *South African Journal of Chemical Engineering*, 25(1), 85-90. <https://doi.org/10.1016/j.sajce.2018.02.002>

DI CAGNO, R.; CODA, R.; DE ANGELIS, M.; GOBBETTI, M. (2013). Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food Microbiology*, 33(1), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.09.003>

DI CAGNO, R., FILANNINO, P., & GOBBETTI, M. (2016). Fermented Foods: Fermented Vegetables and Other Products. *Encyclopedia of Food and Health*, 668-674. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00284-1>

DUFRESNE, C., & FARNWORTH, E. (2000). Tea, Kombucha, and health: a review. *Food research international*, 33(6), 409-421. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00067-3](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00067-3)

DWILOKA, B., BUDI PRAMONO, Y., ZALIANI, A., ETZA SETIANI, B., & DWI PUSPITOASIH, A. (2020). pH Value, Total Microbes, Alcohol Content and Overall Hedonic Characteristic of Ginger Ale. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 518, 012065. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/518/1/012065>

EBNER, F. G. (1919). James Vernor. The Journal of the American Pharmaceutical Association (1912), 8(7), 529.
<https://doi.org/10.1002/jps.3080080701>

ELPO, E. R. S.; NEGRELLE, R. R. B.; GOMES. Avaliação da qualidade microbiológica do gengibre in natura comercializado na região metropolitana de Curitiba, PR. Visão Acadêmica, v. 5, n. 2, ISSN: 1518-5192 2004.
<https://doi.org/10.5380/acd.v5i2.559>

ELPO, E. R. S., NEGRELLE, R. R. B., & DE ALMEIDA RÜCKER, N. G. (2009). Diagnóstico das condições higiênico-sanitárias do sistema de beneficiamento pós-colheita do gengibre "in natura" no litoral paranaense, BRASIL. Revista Engenharia na Agricultura-REVENG, 17(1).
<https://doi.org/10.13083/1414-3984.v17n01a06>

EMPRABA. Alimentos e bebidas fermentados e saúde: uma perspectiva contemporânea / Laura Maria Bruno e Terezinha Feitosa Machado. - Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2022. 20 p.: il.; 21 cm x 29,7 cm. - (Documentos / Embrapa Agroindústria Tropical, ISSN 2179-8184; 197). Publicação disponibilizada on-line no formato PDF. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1143385/1/DOC-197.pdf>. Acesso em 16/09/2022.

EMBRAPA, U. E. V. (2003). Sistemas de produção, 4 ISSN 1678-8761. Versão Eletrônica. Jul. Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Vinagre/SistemaProducaoVinagre/fermentacao.htm>.

EUSSEN, S. J. P. M., VAN DONGEN, M. C. J. M., WIJCKMANS, N., DEN BIGGELAAR, L., OUDE ELFERINK, S. J. W. H., SINGH-POVEL, C. M., DAGNELIE, P. C. (2016). Consumption of dairy foods in relation to impaired glucose metabolism and type 2

diabetes mellitus: the Maastricht Study. *British Journal of Nutrition*, 115(08), 1453-1461.
<https://doi.org/10.1017/S0007114516000313>

FAO. 2019. Ginger value chain study in Nueva Vizcaya, Philippines - GCP/RAS/296/JPN. Bangkok. Disponivel em:
<https://www.fao.org/3/ca5767en/ca5767en.pdf>.

FASOLI, E., D'AMATO, A., CITTERIO, A., & RIGHETTI, P. G. (2012). Ginger Rogers? No, Ginger Ale and its invisible proteome. *Journal of Proteomics*, 75(6), 1960-1965.
<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2011.12.026>

FERNÁNDEZ-CALVIÑO, D., & BÅÅTH, E. (2010). Growth response of the bacterial community to pH in soils differing in pH. *FEMS microbiology ecology*, 73(1), 149-156.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00873.x>

FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M., & BRIONES PÉREZ, A. I. (2021). Wild yeasts involved in the natural fermentation of "Almagro" eggplants fruits. *LWT*, 150, 112070.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112070>

FLEET, G., 2003. Yeast interactions and wine flavour. *Int. J. Food Microbiol.* 86, 11-22.
[https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00245-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00245-9)

FRANZ, C. M. A. P., HUCH, M., MATHARA, J. M., ABRIOUEL, H., BENOMAR, N., REID, G., ... HOLZAPFEL, W. H. (2014). African fermented foods and probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 190, 84-96.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.08.033>

GAMERO-SANDEMETRIO, E., PAY'A-TORMO, L., GÓMEZ-PASTOR, R., ARANDA, A., & MATAALLANA, E. (2018). Non-canonical regulation of glutathione and trehalose biosynthesis characterizes non-Saccharomyces wine yeasts with poor performance

in active dry yeast production. *Microbial cell*, 5, 184-197.
<https://doi.org/10.15698/mic2018.04.624>

GAUTIER, T., DAVID-LE GALL, S., SWEIDAN, A., TAMANAI-SHACOORI, Z., JOLIVET-GOUGEON, A., LORÉAL, O., & BOUSARGHIN, L. (2021). Next-Generation Probiotics and Their Metabolites in COVID-19. *Microorganisms*, 9(5), 941.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms9050941>

GLAZER, A. N., NIKAIDO, H. *Microbial Biotechnology*. 2ª Edição. New York: Cambridge University Press, 2007, 554p.
<https://doi.org/10.1017/CBO9780511811227>

GOCER, E. M. C., & KOPTAGEL, E. (2023). Production and evaluation of microbiological & rheological characteristics of kefir beverages made from nuts. *Food Bioscience*, 102367.
<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102367>

GOCK, M. A., HOCKING, A. D., PITT, J. I., & POULOS, P. G. (2003). Influence of temperature, water activity and pH on growth of some xerophilic fungi. *International Journal of Food Microbiology*, 81(1), 11-19.
[https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00166-6](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00166-6)

GONZÁLEZ, P. A., DANS, E. P., DE LAS HERAS TRANCHE, I., ACOSTA-DACAL, A. C., HERNÁNDEZ, Á. R., MONTES, A. M., ... & LUZARDO, O. P. (2023). Comparative analysis of mycotoxin, pesticide, and elemental content of Canarian craft and Spanish mainstream beers. *Toxicology Reports*, 10, 389-399.
<https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2023.03.003>

GOVINDARAJAN, V. S.; CONNELL, D. W. (1983). Ginger - chemistry, technology, and quality evaluation: Part 2. *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 17(3), 189-258.
<https://doi.org/10.1080/10408398209527348>

GREENWALT, C. J.; STEINKRAUS, K. H.; LEDFORD, R. A. Kombucha, the fermented tea: microbiology, composition, and claimed health effects. *Journal of food protection*, v. 63, n. 7, p. 976-981, 2000.
<https://doi.org/10.4315/0362-028X-63.7.976>

GÜZEL-SEYDIM, Z. B., SEYDIM, A. C., GREENE, A. K., & BODINE, A. B. (2000). Determination of organic acids and volatile flavor substances in kefir during fermentation. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13, 35-43.
<https://doi.org/10.1006/jfca.1999.0842>

GULLO, M., & GIUDICI, P. (2008). Acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar: Phenotypic traits relevant for starter cultures selection. *Aerobic Submerged Fermentation by Acetic Acid Bacteria for Vinegar Production: Process and Biotechnological*, 125(1), 46-53.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.076>

HAMIDA, R. S., SHAMI, A., ALI, M. A., ALMOHAWES, Z. N., MOHAMMED, A. E., & BIN-MEFERIJ, M. M. (2021). Kefir: A protective dietary supplementation against viral infection. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 133, 110974.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110974>

HELLER, K.J. (2001), "Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms", *The American Society for Clinical Nutrition*, Vol. 73, pp. 3745-92.
<https://doi.org/10.1093/ajcn/73.2.374s>

HE, L., DUAN, H., CHEN, X., CHEN, Y., MO, Q., HUANG, J., ... & YAO, Z. (2023). Quality assessment of commercial dried ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) based on targeted and non-targeted chemical profiles and anti-inflammatory activity. *Food Research International*, 166, 112589.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112589>

HERNÁNDEZ, T., ESTRELLA, I., CARLAVILLA, D., MARTÍN-ALVAREZ, ' P. J., & MORENO-ARRIBAS, M. V. (2006). Phenolic compounds in red wine subjected to industrial malolactic fermentation and ageing on lees. *Analytica Chimica Acta*, 563(1), 116-125.

<https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.10.061>

HOSSAIN, S., KHETRA, Y., DULARIA, C., MEENA, G. S., & ARORA, S. (2023). Symbiotic fermentation study of *Acetobacter orientalis* and lactic acid bacteria for lactobionic acid enriched yoghurt production. *Food Bioscience*, 102612.

<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102612>

HSIEH, H.-H., WANG, S.-Y., CHEN, T.-L., HUANG, Y.-L., & CHEN, M.-J. (2012). Effects of cow's and goat's milk as fermentation media on the microbial ecology of sugary kefir grains. *International Journal of Food Microbiology*, 157(1), 73-81.

<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.04.014>

I. A. L - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 3. ed. São Paulo: IMESP, 1985. p. 25-26.

I. A. L. INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). Métodos físico-químicos para análise de alimentos /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea -- São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008 p. 1020.

IVANE, N. M. A., WANG, W., MA, Q., WANG, J., LIU, Y., & SUN, J. (2024). Antioxidative effects of incorporated ginger peel extracts on beef patties subjected to refrigerated storage. *Food and Humanity*, 100251.

<https://doi.org/10.1016/j.foohum.2024.100251>

JAKUBCZYK K, KAŁDUŃSKA J, KOCHMAN J, JANDA K. Chemical Profile and Antioxidant Activity of the Kombucha Beverage Derived from White, Green, Black and Red

Tea. Antioxidants. 2020;9(5):447.
<https://doi.org/10.3390/antiox9050447>

JAYABALAN, R., MALBAŠA, R. V., LONČAR, E. S., VITAS, J. S., & SATHISHKUMAR, M. (2014). A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 13(4), 538-550.
<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12073>

JAYACHANDRAN, M., & XU, B. (2019). An insight into the health benefits of fermented soy products. *Food Chemistry*, 271, 362-371.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.158>

JI, G., LIU, G., LI, B., TAN, H., ZHENG, R., SUN, X., & HE, F. (2023). Influence on the aroma substances and functional ingredients of apple juice by lactic acid bacteria fermentation. *Food Bioscience*, 51, 102337.
<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102337>

JI, X., YU, X., ZHANG, L., WU, Q., CHEN, F., GUO, F., & XU, Y. (2023). Acidity drives volatile metabolites in the spontaneous fermentation of sesame flavor-type baijiu. *International Journal of Food Microbiology*, 389, 110101.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110101>

JONES PR, GAWEL R, FRANCIS IL, WATERS EJ (2008) The influence of interactions between major white wine components on the aroma, flavour and texture of model white wine. *Food Qual Prefer* 19:596-607.
<https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2008.03.005>

JUNIOR, A. A., VIEIRA, A. G., & FERREIRA, T. P. (2009). Processo de produção de cerveja. *Revista Processos Químicos*, 3(6), 61-71.
<https://doi.org/10.19142/rpq.v03i06.p61-71.2009>

JÖNSSON, L. J., ALRIKSSON, B., & NILVEBRANT, N. O. (2013). Bioconversion of lignocellulose: inhibitors and detoxification. *Biotechnology for biofuels*, 6(1), 1-10. Disponível em: <http://www.biotechnologyforbiofuels.com/content/6/1/16>.
<https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-16>

KADHIM, Rusil Abbas; AL-SAADOON, Abdullah H.; AL-MAHMOUD, Widad A. Morphological and phylogenetic identification of *Pichia* species associated with foods in Basrah, Iraq. *Basrah Journal of Science*, v. 37, n. 2, p. 223-236, 2019.
<https://doi.org/10.29072/basjs.20190206>.

KATZ, S. E. A arte da fermentação: Explore os conceitos e processos essenciais da fermentação praticados ao redor do mundo- Informações práticas para a fermentação de vegetais, frutas, grãos, leite, carnes e mais. Tradução: Cristina Yamagami. 1ed.São Paulo: Tapioca, 2014. 585p.

KIM, B.; HONG, V. M.; YANG, J.; HYUN, H.; IM, J. J.; HWANG, J.; YOON, S.; KIM, J. E. A review of fermented foods with beneficial effects on brain and cognitive function. *Preventive Nutrition and Food Science*, v. 21, n. 4, p. 297-309, 2016.
<https://doi.org/10.3746/pnf.2016.21.4.297>

KIM, J., AHN, J., & AHN, C. (2022). Characterization of novel bacteriocin produced by bacteriocinogenic *Carnobacterium maltaromaticum* isolated from raw milk. *Microbial Pathogenesis*, 173, 105872.
<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105872>

KITTIBUNCHAKUL, S., YUTHAWORAWIT, N., WHANMEK, K., SUTTISANSANEE, U., & SANTIVARANGKNA, C. (2021). Health beneficial properties of a novel plant-based probiotic drink produced by fermentation of brown rice milk with GABA-producing *Lactobacillus pentosus* isolated from Thai pickled weed. *Journal of Functional Foods*, 86, 104710.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104710>

KITWETCHAROEN H, PHUNG LT, KLANRIT P, THANONKEO S, TIPPAYAWAT P, YAMADA M, et al. Kombucha Healthy Drink—Recent Advances in Production, Chemical Composition and Health Benefits. *Ferment.* 2023;9(1):48. <https://doi.org/10.3390/fermentation9010048>

KO, J. K., UM, Y., PARK, Y. C., SEO, J. H., & KIM, K. H. (2015). Compounds inhibiting the bioconversion of hydrothermally pretreated lignocellulose. *Applied microbiology and biotechnology*, 99, 4201-4212. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6595-0>

KYSELOVÁ, L., BRÁNYIK, T., 2015. Quality improvement and fermentation control in beer. *Advances in Fermented Foods and Beverages: Improving Quality, Technologies and Health Benefits.* Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-015-6.00020-7>

LAUREYS, D., & DE VUYST, L. (2014). Microbial Species Diversity, Community Dynamics, and Metabolite Kinetics of Water Kefir Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(8), 2564-2572. <https://doi.org/10.1128/AEM.03978-13>

LAUREYS D, BRITTON SJ, CLIPPELEER J. (2020). Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists.* 78(3),165-174. <https://doi.org/10.1080/03610470.2020.1734150>

LAVEFVE, L.; MARASINI, D.; CARBONERO, F. (2018). Microbial Ecology of Fermented Vegetables and Non-Alcoholic Drinks and Current Knowledge on Their Impact on Human Health. *Advances in Food and Nutrition Research.* <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2018.09.001>

LAZZAROLI, Caterina et al. Recovery and valorization of food industry by-products through the application of *Olea europaea* L. leaves in kombucha tea manufacturing. *Food*

Bioscience, v. 53, p. 102551, 2023.
<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102551>

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. Lehniger Princípios de Bioquímica. 2ª ed., São Paulo, SP: Sarvier, 1995

LEMONS JUNIOR, W. J. F., BINATI, R. L., BERSANI, N., & TORRIANI, S. (2021). Investigating the glutathione accumulation by non-conventional wine yeasts in optimized growth conditions and multi-starter fermentations. LWT, 142, 110990.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110990>

LINO, F.S.O., BAJIC, D., Vila, J.C.C., S´anchez, A., Sommer, M.O.A., 2021. Complex yeast-bacteria interactions affect the yield of industrial ethanol fermentation. Nat. Commun. 12, 1498.
<https://doi.org/10.1038/s41467-021-21844-7>

LI, K., DUAN, Z., ZHANG, J., & CUI, H. (2023). Growth kinetics, metabolomics changes, and antioxidant activity of probiotics in fermented highland barley-based yogurt. LWT, 173, 114239.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114239>

LIU, C.-H.; HSU, W.-H.; LEE, F.-L.; LIAO, C.-C.; The isolation and identification of microbes from a fermented tea beverage Haipao, and their interaction during Haipao fermentation, Food Microbiol., 13, 407-415 (1996).
<https://doi.org/10.1006/fmic.1996.0047>

LIU, Y., ZHENG, Y., YANG, T., MAC REGENSTEIN, J., & ZHOU, P. (2022). Functional properties and sensory characteristics of kombucha analogs prepared with alternative materials. Trends in Food Science & Technology.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.11.001>

LEE, C.H. (2009). Food biotechnology. In Campbell-Plat, G. (Ed.) Food science and technology (pp. 85-114). Singapore: Wiley-Blackwell.

LOBO, V. M. M. O correcto significado do conceito de pH. Boletim SPQ, v.44/45, p. 31-36, 1991. Disponível em: Acesso em 27 jan. 2023.

LUCIO, I. B., DE FREITAS, R. J. S., & WASZCZYNSKYJ, N. (2009). Characterization of the inflorescence of organic ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) aiming its use as food. Brazilian Journal of Food Technology, 12(1/4), 181-189. <https://doi.org/10.4260/bjft2009800900011>

LYNCH, K. M., ZANNINI, E., WILKINSON, S., DAENEN, L., & ARENDT, E. K. (2019). Physiology of Acetic Acid Bacteria and Their Role in Vinegar and Fermented Beverages. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 18(3), 587-625.. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12440>

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. Microbiologia de Brock. 10. ed. São Paulo: Prentice Hall, 2004.

MAGALHÃES, K. T.; PEREIRA, G. V. M.; CAMPOS, C. R.; DRAGONE, G.; SCHWAN, F. Brazilian Kefir: structure, microbial communities and chemical composition. Braz J Microbiol, v. 42, p. 693-702, 2011. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822011000200034. Acessado em 12 de abril de 2023. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822011000200034>

Manual Difco and BBL Microbiology, disponível em: Disponível em: <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=b9e564323726b77dd578f90be1f447da053c25f4>. Acesso em: 5 jul. 2023.

MAKWANA, M.; HATI, S. Fermented beverages and their health benefits. In: MIHAI GRUMEZESCU, A. M.; HOLBAN, A. M. (ed.). *Fermented Beverages*. Oxford: Woodhead Publishing, 2019. E-book p. 1-129.

<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815271-3.00001-4>

MARCO, M. L., HEENEY, D., BINDA, S., CIFELLI, C. J., COTTER, P. D., FOLIGNÉ, B., HUTKINS, R. (2017). Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Current Opinion in Biotechnology*, 44, 94-102.

<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.11.010>

MARCO, M.L., SANDERS, M.E., GÄNZLE, M., ARRIETA, M.C., COTTER, P.D., DE VUYST, L., HILL, C., HOLZAPFEL, W., LEBEER, S., MERENSTEIN, D., REID, G., WOLFE, B.E., HUTKINS, R., 2021. The international scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on fermented foods. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 18, 196-208.

<https://doi.org/10.1038/s41575-020-00390-5>

MARTÍNEZ LEAL, J., VALENZUELA SUAREZ, L., JAYABALAN, R., HUERTA OROS, J., & ESCALANTEABURTO, A. (2018). A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CyTA - Journal of Food*, 16(1), 390-399.

<https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1410499>

MATEI, B., SALZAT, J., DIGUTA, C.F., CORNEA, C.P., LUTA, G., UTOIU, E.R., MATEI, F., 2018. Lactic acid bacteria strains isolated from kombucha with potential probiotic effect. *Rom. Biotechnol. Lett.* 23, 13592-13598.

MAUTONE, Juliana Nunes. Diversidade e potencial biotecnológico de leveduras e fungos semelhantes a leveduras isolados de folhas de figueiras do parque de Itapuã, RS, Brasil. 2008. <http://hdl.handle.net/10183/14247>.

MCDONALD, L. C., FLEMING, H. P., & HASSAN, H. M. (1990). Acid tolerance of *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus plantarum*. *Applied and Environmental*

Microbiology, 56, 2120-2124.
<https://doi.org/10.1128/aem.56.7.2120-2124.1990>

MEILGAARD, Morten C.; CARR, B. Thomas; CIVILLE, Gail Vance. Sensory evaluation techniques. CRC press, 1999.
<https://doi.org/10.1201/9781003040729>

MIGUEL, M. G. C. P.; CARDOSO, P. G.; MAGALHÃES-GUEDES, K. T.; SCHWAN, R. F. Identification and assessment of Kefir yeast potential for sugar/etanol-resistance. Braz J Microbiol, v. 44, n. 1, p. 113-118, 2012. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822013000100016.
 Acessado em 12 de abril de 2023.
<https://doi.org/10.1590/S1517-83822013005000005>

MIGUEL, M. G. D. C. P., SANTOS, M. R. R. M., DUARTE, W. F., DE ALMEIDA, E. G., & SCHWAN, R. F. (2012). Physico-chemical and microbiological characterization of corn and rice 'calugi' produced by Brazilian Amerindian people. Food research international, 49(1), 524-532.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.012>

MOKOENA, M. P., CHELULE, P. K., & GQALENI, N. (2005). Reduction of Fumonisin B1 and Zearalenone by Lactic Acid Bacteria in Fermented Maize Meal. Journal of Food Protection, 68(10), 2095-2099.
<https://doi.org/10.4315/0362-028X-68.10.2095>

MOLIN, G. (2007), "Probiotics: compensating for a systemic error in modern diet", Journal of the Institute of Food Science and Technology, Vol. 21 No. 4, pp. 17-20.

MORETTI, A. F., MOURE, M. C., QUIÑOY, F., ESPOSITO, F., SIMONELLI, N., MEDRANO, M., & LEÓN-PELÁEZ, Á. (2022). Water kefir, a fermented beverage containing probiotic microorganisms: From ancient and artisanal manufacture to industrialized and

regulated commercialization. Future Foods, 5, 100123.
<https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100123>

MOZAFFARIAN, D., HAO, T., RIMM, E. B., WILLETT, W. C., & Hu, F. B. (2011). Changes in Diet and Lifestyle and Long-Term Weight Gain in Women and Men. *New England Journal of Medicine*, 364(25), 2392-2404.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1014296>

MUKADAM, Tehmeena Ashraf et al. Isolation and characterization of bacteria and yeast from Kombucha tea. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, v. 5, n. 6, p. 32-41, 2016.
<https://doi.org/10.20546/ijemas.2016.506.004>

MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; PFALLER, M. A.; TENOVER, F.C.; YOLKEN, R.H. 1999. *Manual of Clinical Microbiology*. 7^a ed. ASM, Washington, EUA. 1773p. Disponível em: <https://iums.ac.ir/files/microb/files/Murray.pdf>. Acessado em: 02 de maio de 2023.

NAZIR, M.; ARIF, S.; KHAN, R. S.; NAZIR, W.; KHALID, N.; MAQSOOD, S. (2019). Opportunities and Challenges for Functional and Medicinal Beverages: Current and Future Trends. *Trends in Food Science & Technology*.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.04.011>

NEFFE-SKOCIŃSKA, K.; SIONEK, B.; ŚCIBISZ, I.; KOŁOŻYN-KRAJEWSKA, D. (2017). Acid contents and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties. *CyTA - Journal of Food*, 15(4), 601-607.
<https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1321588>

NEFFE-SKOCIŃSKA, K., KARBOWIAK, M., KRUK, M., KOŁOŻYN-KRAJEWSKA, D., & ZIELIŃSKA, D. (2023). Polyphenol and antioxidant properties of food obtained by the activity of acetic acid bacteria (AAB)-A systematic review. *Journal of*

Functional Foods, 107, 105691.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2023.105691>

NGUYEN, N. K., NGUYEN, P. B., NGUYEN, H. T., & LE, P. H. (2015). Screening the optimal ratio of symbiosis between isolated yeast and acetic acid bacteria strain from traditional kombucha for high-level production of glucuronic acid. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 1149-1155.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.07.018>

NOUT, M. J. R. (2014). Food Technologies: Fermentation. *Encyclopedia of Food Safety*, 168-177.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378612-8.00270-5>

NOUT, M. J. R., & KIERS, J. L. (2005). Tempe fermentation, innovation and functionality: update into the third millenium. *Journal of Applied Microbiology*, 98(4), 789-805..
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02471.x>

NOUT, M. J. R., & SARKAR, P. K. (1999). Lactic acid fermentation in tropical climates. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 76, 395-401.
<https://doi.org/10.1023/A:1002066306013>

NUMMER B.A. Special Report: Kombucha Brewing Under the Food and Drug Administration Model Food Code: Risk Analysis and Processing Guidance. *Journal of Environmental Health*. (2013); 76(4):8-11. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/26329709>.

NURAIIDA, L. A. Review: Health promoting lactic acid bacteria in traditional Indonesian fermented foods. *Food Science and Human Wellness*, v. 42, n. 2, p. 47-55, 2015.
<https://doi.org/10.1016/j.fshw.2015.06.001>

NUTAKOR, C. ESSIEDU, J. A.; ADADI, P.; KANWUGU, O. N. (2020). Ginger Beer: An Overview of Health Benefits and Recent Developments. *Fermentation*, 6(4), 102. <https://doi.org/10.3390/fermentation6040102>

OBERMAN, H. (1985a). Fermented milks. In *Microbiology of Fermented Foods*, Vol. 1, ed. B. J. B. Wood. Elsevier Applied Science, London, pp. 167-95.

OBERMAN, H., & LIBUDZISZ, Z. (1998b). Fermented milks. *Microbiology of Fermented Foods*, 308-350. https://doi.org/10.1007/978-1-4613-0309-1_11

OGUEKE, C. C., OWUAMANAM, C. I., IHEDIOHANMA, N. C., & IWOUNO, J. O. (2010). Probiotics and prebiotics: Unfolding prospects for better human health. *Pakistan Journal of Nutrition*, 9(9), 833-843. <https://doi.org/10.3923/pjn.2010.833.843>

OMORI T, IWATA T, UMEMOTO Y, SHIMODA M (1995) Improvement of barley shochu flavor by controlling the glycerol concentration in the mash. *J Ferment Bioeng*.

OPENPR. Ginger Beer Market to Witness Huge Growth by 2025. Affinity Beverages, Fever-Tree, Q Mixers, Goslings Rum. 2019. Available online: <https://www.openpr.com/news/1829148/ginger-beer-market-to-witness-huge-growth-by-2025-affinity>.

ORDOÑES, J. A. (coord.). *Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal*. Vol 2. Porto Alegre: Artmed, 2005. 294p.

OUWEHAND, A. C., & VESTERLUND, S. (2004). Antimicrobial components from lactic acid bacteria. *FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER-*, 139, 375-396. <https://doi.org/10.1201/9780824752033.ch11>

PANDEY, S. S., JAIN, R., BHARDWAJ, P., THAKUR, A., KUMARI, M., BHUSHAN, S., & KUMAR, S. (2022). Plant Probiotics-Endophytes pivotal to plant health. *Microbiological Research*, 127148. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127148>

PELEG, H.; GACON, K.; SCHLICH, P.; NOBLE, A.C (1999) Bitterness and astringency of flavan-3-ol monomers, dimers and trimers. *J Sci Food Agric* 79: 1123-1128. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199906\)79:8<1123::AID-JSFA336>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199906)79:8<1123::AID-JSFA336>3.0.CO;2-D)

PEREZ-ORTIN, J. E. (2002). Molecular Characterization of a Chromosomal Rearrangement Involved in the Adaptive Evolution of Yeast Strains. *Genome Research*, 12(10), 1533-1539. <https://doi.org/10.1101/gr.436602>

PIRAINE, R. E. A. et al. Isolation of wild yeasts from Olympic National Park and *Moniliella megachiliensis* ONP131 physiological characterization for beer fermentation. *Food Microbiology*, v. 104, p. 103974, 2022.104, p. 103974, ISSN 0740-0020, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103974>

POREMBA, D. L. Detroit: City of industry. Arcadia Publishing, 2002.

POWER, David A.; JOHNSON, Julie A. Difco™ & BBL™ manual. *Manual of Microbiological Culture Media*, p. 359-60, 2009.

PRETORIUS IS (2000) Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking. *Yeast* 16(8):675-729. [https://doi.org/10.1002/1097-0061\(20000615\)16:8<675::AID-YEA585>3.3.CO;2-2](https://doi.org/10.1002/1097-0061(20000615)16:8<675::AID-YEA585>3.3.CO;2-2)

PSWARAYI, F., & GÄNZLE, M. (2022). African cereal fermentations: A review on fermentation processes and microbial composition of non-alcoholic fermented cereal foods and beverages. *International Journal of Food Microbiology*, 109815. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109815>

PURVES, W.K, SADAVA, D., ORIAN, G.H., & HELLER, H.C. (2003). *Life: The science of biology* (7 th ed.). Gordonsville, Virginia: Sinauer Associates and W. H. Freeman.

RAMOS, C. L., ALMEIDA, E. G., PEREIRA, G. V. M., CARDOSO, P. G., DIAS, E. S., & SCHWAN, R. F. (2010). Determination of dynamic characteristics of microbiota in a fermented beverage produced by Brazilian Amerindians using culture-dependent and culture-independent methods. *International Journal of Food Microbiology*, 140, 225-231.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.03.029>

RASMUSSEN, H., SØRENSEN, H. R., & MEYER, A. S. (2014). Formation of degradation compounds from lignocellulosic biomass in the biorefinery: sugar reaction mechanisms. *Carbohydrate research*, 385, 45-57.
<https://doi.org/10.1016/j.carres.2013.08.029>

RASPOR, P., & GORANOVIĆ, D. (2008). Biotechnological applications of acetic acid bacteria. *Critical reviews in biotechnology*, 28(2), 101-124.
<https://doi.org/10.1080/07388550802046749>

RAVINDRAN, P. N., & BABU, K. N. (Eds.). (2016). *Ginger: the genus Zingiber*. CRC press.
<https://doi.org/10.1201/9781420023367>

REGODÓN JA, PERÉZ F, VALDÉS ME, DE MIGUEL C, RAMÍREZ M (1997) A simple and effective procedure for selection of wine yeast strains. *Food Microbiol* 14(3):247-254.
<https://doi.org/10.1006/fmic.1996.0091>

REZAC, S.; KOK, C. R.; HEERMANN, M.; HUTKINS, R. Fermented foods as a dietary source of live organisms. *Frontiers in Microbiology*, v. 9, 1785, 2018.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01785>

RIBEREAU-GAYON, P., DUBOURDIEU, D., DON'ECHE, B., & LONVAUD, A. (2006). Handbook of oenology. In The microbiology of wine and vinifications (2nd ed., 1. John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/0470010363.fmatter>

RIVAROLI, S., HINGLEY, M., & SPADONI, R. (2021). Motivations Behind Craft Beer Online Buying Habits among Italian Millennials. In Researching Craft Beer: Understanding Production, Community and Culture in An Evolving Sector (pp. 195-223). Emerald Publishing Limited. <https://doi.org/10.1108/978-1-80043-184-320211013>

ROCHA, W. SCHMITT, J. J. SILVEIRA, D. D. et. al. Propriedades tecnológicas de kombucha em função proporção de suco de uva e tempo de fermentação secundária. Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos - SBCTA: 7º Simpósio de Segurança Alimentar - Inovação com Sustentabilidade, Rio Grande do Sul, 27 out. 2020. Disponível em: https://schenautomacao.com.br/ssa7/envio/files/trabalho3_230.pdf. Acesso em: 31 ago. 2023.

RODRIGUES, A.; GASTRO, L. R.; BRUMANO, M. H. N.; NEVES, E. O.; RESENDE, T. R.O. Avaliação de fenólicos totais e capacidade antioxidante da bebida de cafês de uma microrregião da zona da mata de Minas Gerais. Open Science Research IV, [S.L.], p. 398-415, 2022. Editora Científica Digital. <https://doi.org/10.37885/220508812>

ROSA, L. S., SANTOS, M. L., ABREU, J. P., ROCHA, R. S., ESMERINO, E. A., FREITAS, M. Q., ... & TEODORO, A. J. (2023). Probiotic fermented whey-milk beverages: Effect of different probiotic strains on the physicochemical characteristics, biological activity, and bioactive peptides. Food Research International, 164, 112396. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112396>

ROSE, Anthony H.; HARRISON, J. Stewart (Ed.). The yeasts: yeast technology. Elsevier, 2012.

ROUCH, Lawrence L. The Vernor's Story: From Gnomes to Now. University of Michigan Press, 2003.
<https://doi.org/10.3998/mpub.10869>

SÁNCHEZ, B., DELGADO, S., BLANCO-MÍGUEZ, A., LOURENÇO, A., GUEIMONDE, M., & MARGOLLES, A. (2016). Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61(1), 1600240.
<https://doi.org/10.1002/mnfr.201600240>

SANDERS, M. E., GUARNER, F., GUERRANT, R., HOLT, P. R., QUIGLEY, E. M., SARTOR, R. B., ... MAYER, E. A. (2013). An update on the use and investigation of probiotics in health and disease. *Gut*, 62(5), 787-796.
<https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-302504>

SANTOS, R. D. S., BIASOTO, A. C. T., RYBKA, A. C. P., CASTRO, C. D. C., AIDAR, S. D. T., BORGES, G. S. C., & SILVA, F. L. H. (2021). Physicochemical characterization, bioactive compounds, in vitro antioxidant activity, sensory profile and consumer acceptability of fermented alcoholic beverage obtained from Caatinga passion fruit (*Passiflora cincinnata* Mast.). *LWT*, 148, 111714.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111714>

SAUCE, P. A Spur to the Food Trade. *Ann Arbor*, v. 1001, p. 48105-2722. ISSN 1552-8863. Published quarterly by the Culinary Historians of Ann Arbor (CHAA) <http://www.culinaryhistoriansannarbor.org>. An archive is available at <http://cooks.aadl.org/cooks/repast>. Disponível em: https://aadl.org/files/cooks/repast/repast_20130100.pdf.

SCANES K.T, HOHMANN S, PRIOR B.A (1998) Glycerol production by the yeast *Saccharomyces cerevisiae* and its relevance to wine: a review. *S Afr J Enol Vitic* 19:17-24.
<https://doi.org/10.21548/19-1-2239>

SCHMIDELL, W., FACCIOTTI, M. C. R. Biorreatores e Processos Fermentativos. In: Schimidell, Willibaldo et al. (Coord.). Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica. São Paulo: Edgar Blucher, p. 179-192. (Biotecnologia Industrial; v.2), 2001.

SCHMIDELL, W.; DE ALMEIDA LIMA, U.; BORZANI, W.; AQUARONE, E. (2001). Biotecnologia industrial-vol. 2: Engenharia bioquímica (Vol. 2). Editora Blucher.

SELVARAJ, S., & GURUMURTHY, K. (2022). An overview of probiotic health booster-kombucha tea. Chinese Herbal Medicines. <https://doi.org/10.1016/j.chmed.2022.06.010>

SEN, S.; CHAKRABORTY, R. (2017). Revival, modernization and integration of Indian traditional herbal medicine in clinical practice: Importance, challenges and future. Journal of Traditional and Complementary Medicine, 7(2), 234-244. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.05.006>

SHINJOH, M., & TOYAMA, H. (2016). Industrial Application of Acetic Acid Bacteria (Vitamin C and Others). In K. Matsushita, H. Toyama, N. Tonouchi, & A. OkamotoKainuma (Eds.), Acetic Acid Bacteria: Ecology and Physiology (pp. 321-338). Springer Japan. https://doi.org/10.1007/978-4-431-55933-7_15

SICARD, D.; LEGRAS, J. L. (2011). Bread, beer and wine: Yeast domestication in the Saccharomyces sensu stricto complex. Comptes Rendus Biologies, 334(3), 229-236. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2010.12.016>

SILVA, J. A. DA BECCENERI, A. B., MUTTI, H. S., MARTIN, A. C. B. M., SILVA, M. F. DAS G. F., FERNANDES, J. B., COMINETTI, M. R. (2012). Purification and differential biological effects of ginger-derived substances on normal and tumor cell lines. Journal of Chromatography B, 903, 157-162. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2012.07.013>

SILVA, J. H. DO N. E, VERRUMA-BERNARDI, M. R., & OLIVEIRA, A. L. de. (2020). Cachaça Production in Brazil and its Main Contaminant (Ethyl Carbamate). *Scientia Agricola*, 77(2).
<https://doi.org/10.1590/1678-992x-2018-0135>

SILVA, M. T., & SANTOS, C. M. D. (2015). Uma análise histórica sobre a seleção natural: de Darwin-Wallace à Síntese Estendida da Evolução. *Amazônia: Revista de Educação em Ciências e Matemáticas*, 11(22), 46-61.
<https://doi.org/10.18542/amazrecm.v11i22.2122>

SIMOVA, E.D.; BESHKOVA, D.B.; DIMITROV P. Zh, Characterization and antimicrobial spectrum of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from traditional Bulgarian dairy products, *J. Appl. Microbiol.* 106 (2009) 692-701.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.04052.x>

SKREDE, G. (1983). Changes in Sucrose, Fructose and Glucose Content of Frozen Strawberries with Thawing. *Journal of Food Science*, 48(4), 1094-1096.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1983.tb09168.x>

SRINIVASAN, K. (2017). Ginger rhizomes (*Zingiber officinale*): A spice with multiple health beneficial potentials. *Pharma Nutrition*, 5(1), 18-28.
<https://doi.org/10.1016/j.phanu.2017.01.001>

STADIE, J., GULITZ, A., EHRMANN, M. A., & VOGEL, R. F. (2013). Metabolic activity and symbiotic interactions of lactic acid bacteria and yeasts isolated from water kefir. *Food Microbiology*, 35(2), 92-98..
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.03.009>

STEINKRAUS, K. H. (1983). Lactic acid fermentation in the production of foods from vegetables, cereals and legumes. *Antonie van Leeuwenhoek*, 49(3), 337-348..
<https://doi.org/10.1007/BF00399508>

STEINKRAUS, K. H. (2002). Fermentations in World Food Processing. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 1(1), 23-32.
<https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2002.tb00004.x>

STEINKRAUS, K. H. (1997). Classification of fermented foods: worldwide review of household fermentation techniques. Food Control, 8(5-6), 311-317.
[https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(97\)00050-9](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(97)00050-9)

SZÉKELYHIDI, R., LAKATOS, E., SIK, B., NAGY, Á., VARGA, L., MOLNÁR, Z., & KAPCSÁNDI, V. (2022). The beneficial effect of peppermint (*Mentha X Piperita* L.) and lemongrass (*Melissa officinalis* L.) dosage on total antioxidant and polyphenol content during alcoholic fermentation. Food Chemistry: X, 13, 100226..
<https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100226>

SKNEPNEK, A., TOMIĆ, S., MILETIĆ, D., LEVIĆ, S., ĆOLIĆ, M., NEDOVIĆ, V., & NIKŠIĆ, M. (2021). Fermentation characteristics of novel *Coriolus versicolor* and *Lentinus edodes* kombucha beverages and immunomodulatory potential of their polysaccharide extracts. Food Chemistry, 342, Article 128344.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128344>

SULISTYARSI, A., & PRAFITASARI, N. F. (2022). The Quality Test of Fermented Ginger Drink (Ginger Ale) Produced from Various Types of Indonesian Ginger. In 2nd International Conference on Education and Technology (ICETECH 2021) (pp. 152-159). Atlantis Press.
<https://doi.org/10.2991/assehr.k.220103.023>

TABAN, B. M., & SAICHANA, N. (2017). Physiology and Biochemistry of Acetic Acid Bacteria. In Acetic Acid Bacteria (1st Edition, pp. 71-91). CRC Press.
<https://doi.org/10.1201/9781315153490-4>

TAMANG, J. P., WATANABE, K., & HOLZAPFEL, W. H. (2016). Diversity of microorganisms in global fermented foods and beverages. *Frontiers in microbiology*, 7, 377. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00377>

TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M.; BARBETTA, P. A. Métodos sensoriais. In: ANÁLISE sensorial de alimentos. Florianópolis: Editora da UFSC, 1987. p. 66-119.

TIREKI, S. (2021). A review on packed non-alcoholic beverages: Ingredients, production, trends and future opportunities for functional product development. *Trends in Food Science & Technology*, 112, 442-454. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.058>

TORIJA, M. (2003). Effects of fermentation temperature on the strain population of *Saccharomyces cerevisiae*. *International Journal of Food Microbiology*, 80(1), 47-53. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00144-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00144-7)

TORRES, M.R. (2002). Flora intestinal, probióticos y salud. Segunda edición, Formas finas (edit). Guadalajara, Jal.

TORRES S, S., VERÓN, H., CONTRERAS, L., & ISLA, M. I. (2020). An overview of plant-autochthonous microorganisms and fermented vegetable foods. *Food Science and Human Wellness*. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2020.02.006>

USEPA. Manual for the certification of laboratories analyzing drinking water: criteria and procedures quality assurance. 5th ed. Cincinnati, OH, 2005. 209 p. + 2 supplements. (EPA 815-R05-004). Disponível em: Acesso em: set. 2022.

VÁSQUEZ, S. M., SUÁREZ, H., & ZAPATA, S. (2009). Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de la carne. *Revista chilena de nutrición*, 36(1), 64-71. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182009000100007>

VERHAGEN, L.C., 2010. Beer flavor. *Compr. Nat. Prod. II: Chem. Biol.* 3, 967-997.
<https://doi.org/10.1016/B978-008045382-8.00087-3>

VERÓN, H. E., DI RISIO, H. D., ISLA, M. I., & TORRES, S. (2017). Isolation and selection of potential probiotic lactic acid bacteria from *Opuntia ficus-indica* fruits that grow in Northwest Argentina. *LWT*, 84, 231-240.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.058>

VILLARREAL-SOTO, S. A., BEAUFORT, S., BOUAJILA, J., SOUCHARD, J. P., RENARD, T., ROLLAN, S., & TAILLANDIER, P. (2019). Impact of fermentation conditions on the production of bioactive compounds with anticancer, anti-inflammatory and antioxidant properties in kombucha tea extracts. *Process Biochemistry*, 83, 44-54. doi:
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.05.004>

WANG, X., WANG, D., WANG, H., JIAO, S., WU, J., HOU, Y., YUAN, J. (2022). Chemical profile and antioxidant capacity of kombucha tea by the pure cultured kombucha. *LWT-Food Science & Technology*, 168(August), Article 113931.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113931>

WALLACE, A. R. *Darwinism: an exposition of theory of natural selection with some of its applications*. London: Macmillan. 2. ed. 1890. 494 p. ISBN 0231130104.
<https://doi.org/10.5962/bhl.title.2472>

WALDHERR, F. W., DOLL, V. M., MEIßNER, D., & VOGEL, R. F. (2010). Identification and characterization of a glucan-producing enzyme from *Lactobacillus hilgardii* TMW 1.828 involved in granule formation of water kefir. *Food Microbiology*, 27(5), 672-678.
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.03.013>

WANG, Q., YU, W., LI, Z., LIU, B., HU, Y., CHEN, S., ... & LI, Y. (2022). The stability and bioavailability of curcumin loaded α -lactalbumin nanocarriers formulated in

functional dairy drink. Food Hydrocolloids, 131, 107807.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107807>

WARD, O. P. Biotecnología de la fermentación: principios, procesos y productos. Zaragoza: Acribia, S.A, 1991, p.155.

WATAWANA, M. I., JAYAWARDENA, N., GUNAWARDHANA, C. B., & WAISUNDARA, V. Y. (2015). Health, Wellness, and Safety Aspects of the Consumption of Kombucha. Journal of Chemistry, 2015, 1-11.
<https://doi.org/10.1155/2015/591869>

WATAWANA, M. I., JAYAWARDENA, N., GUNAWARDHANA, C. B., & WAISUNDARA, V. Y. (2016). Enhancement of the antioxidant and starch hydrolase inhibitory activities of king coconut water (*Cocos nucifera* var. *aurantiaca*) by fermentation with kombucha "tea fungus." International Journal of Food Science & Technology, 51(2), 490-498.
<https://doi.org/10.1111/ijfs.13006>

WAUTERS, R.; HERRERA-MALAYER, B.; SCHREURS, M.; BIRCHAM, P.; CAUTEREELS, C.; CORTEBEECK, J.; DUFFIN, P. M.; STEENSELS, J.; VERSTREPEN, K. J. Novel *Saccharomyces cerevisiae* variants slow down the accumulation of staling aldehydes and improve beer shelf-life, Food Chemistry, Volume 398, 2023,133863, ISSN 0308-8146.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133863>

WHITE, Chris; ZAINASHEFF, Jamil. Yeast: the practical guide to beer fermentation. Brewers Publications, 2010.

WOLFGANG, K., MATTILA-SANDHOLM, T. AND VON WRIGHT, A. (1999), "Detection and estimation in fermented and non-fermented dairy products: probiotic bacteria", In the Encyclopedia of Food Microbiology, Vol. 3, pp. 1783-9.
<https://doi.org/10.1006/rwfm.1999.4015>

WU, Y., LI, S., TAO, Y., LI, D., HAN, Y., SHOW, P. L., ... ZHOU, J. (2021). Fermentation of blueberry and blackberry juices using *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus* and *Bifidobacterium bifidum*: Growth of probiotics, metabolism of phenolics, antioxidant capacity in vitro and sensory evaluation. *Food Chemistry*, 348, Article 129083.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129083>

XIANG, H., SUN-WATERHOUSE, D., WATERHOUSE, G. I. N., Cui, C., & Ruan, Z. (2019). Fermentation-enabled wellness foods: A fresh perspective. *Food Science and Human Wellness*, 8, 203-243.

<https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.08.003>

XIA, X., DAI, Y., WU, H., LIU, X., WANG, Y., YIN, L., et al. (2019). Kombucha fermentation enhances the health-promoting properties of soymilk beverage. *Journal of Functional Foods*, 62, 103549.

<https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103549>

XIONG, R. G., ZHOU, D. D., CHENG, J., WU, S. X., SAIMAITI, A., HUANG, S. Y., & LI, S. (2024). Preparation and evaluation of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis*) and ginger (*Zingiber officinale*) kombucha beverage based on antioxidant capacities, phenolic compounds and sensory qualities. *International Journal of Gastronomy and Food Science*.

<https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2024.100869>

XU, S., WANG, Y., WANG, J., & GENG, W. (2022). Kombucha reduces hyperglycemia in type 2 diabetes of mice by regulating gut microbiota and its metabolites. *Foods*, 11(5).

<https://doi.org/10.3390/foods11050754>

YANG, Z. W.; JI, B.-P.; ZHOU, F.; LI, B.; LUO, Y.; YANG, L.; LI, T. (2009). Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of kombucha tea in high-cholesterol fed mice.

Journal of the Science of Food and Agriculture, 89(1), 150-156.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.3422>

YILDIZ, S. C.; DEMIR, C.; AYHANCI, A.; Examination of the effects of kefir on healing factors in a mice burn model infected with E.coli, S.aureus and P.aeruginosa using qRT-PCR, Burns, 2022, ISSN 0305-4179.
<https://doi.org/10.1016/j.burns.2022.08.006>

YILMAZ, B.; SHARMA, H.; MELEKOGLU, E.; OZOGUL, F. Recent developments in dairy kefir-derived lactic acid bacteria and their health benefits, Food Bioscience, Volume 46, 2022, 101592, ISSN 2212-4292.
<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101592>

YOUN, H. Y., SEO, K. H., KIM, H. J., KIM, Y. S., & KIM, H. (2022). Effect of postbiotics derived from kefir lactic acid bacteria-mediated bioconversion of citrus pomace extract and whey on high-fat diet-induced obesity and gut dysbiosis. Food Research International, 111930.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111930>

YU, D. X., ZHANG, X., GUO, S., YAN, H., WANG, J. M., ZHOU, J. Q., DUAN, J. A. (2022). Headspace GC/MS and fast GC e-nose combined with chemometric analysis to identify the varieties and geographical origins of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). Food Chemistry, 396, 133672..
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133672>

ZAMORA, F. (2009). Biochemistry of Alcoholic Fermentation. In: Moreno-Arribas, M.V., Polo, M.C. (eds) Wine Chemistry and Biochemistry. Springer, New York, NY.
https://doi.org/10.1007/978-0-387-74118-5_1

ZHAO, X., PROCOPIO, S., & BECKER, T. (2015). Flavor impacts of glycerol in the processing of yeast fermented beverages: a review. Journal of Food Science and Technology,

52(12),

7588-7598.

<https://doi.org/10.1007/s13197-015-1977-y>

ZION MARKET RESEARCH. Ginger Beer Market: Global Industry Perspective, Comprehensive Analysis, and forecast, 2018-2025. 2019. Available online: <https://www.zionmarketresearch.com/report/ginger-beermarket>.

ZIZHONG TANG, QING WANG, ZHIQIAO ZHAO, NAYU SHEN, YIHAN QIN, WENJIE LIN, YIRONG XIAO, MING YUAN, HONG CHEN, HUI CHEN, Tongliang Bu, Qingfeng Li, Lin Huang, Evaluation of fermentation properties, antioxidant capacity in vitro and in vivo, and metabolic profile of a fermented beverage made from apple and cantaloupe, LWT, Volume 179, 2023, 114661, ISSN 0023-6438,. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114661>

ZOU, C., LI, R. Y., CHEN, J. X., WANG, F., GAO, Y., FU, Y. Q., ... & YIN, J. F. (2021). Zijuan tea-based kombucha: Physicochemical, sensorial, and antioxidant profile. Food Chemistry, 363, 130322.. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130322>