



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
CURSO DE GRADUAÇÃO DE QUÍMICA INDUSTRIAL

JOELYNGTON DA SILVA

ELABORAÇÃO DE PICLES FERMENTADO A PARTIR DO MAXIXE (*Cucumis anguria*)

JOÃO PESSOA
2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

JOELYNGTON DA SILVA

ELABORAÇÃO DE PICLES FERMENTADO A PARTIR DO MAXIXE (*Cucumis anguria*)

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Química
Industrial da Universidade Federal da
Paraíba como requisito parcial para
obtenção do título de Bacharel em
Química Industrial, sob orientação do
Prof. Dr. Carlos Alberto Bispo de
Sousa.

JOÃO PESSOA

2023

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S586e Silva, Joelyngton da.
ELABORAÇÃO DE PICLES FERMENTADO A PARTIR DO MAXIXE /
Joelyngton da Silva. - João Pessoa, 2023.
53 f. : il.

Orientação: Carlos Alberto Bispo de Sousa.
TCC (Graduação) - UFPB/CT.

1. hortaliça. 2. pickles. 3. maxixe. 4. fermentação.
I. Sousa, Carlos Alberto Bispo de. II. Título.

UFPB/CT/BSCT

CDU 66.01(043.2)

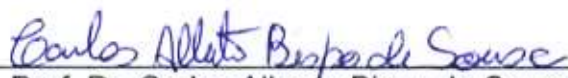
JOELYNGTON DA SILVA

ELABORAÇÃO DE PICLES FERMENTADO A PARTIR DO MAXIXE (*Cucumis anguria*)

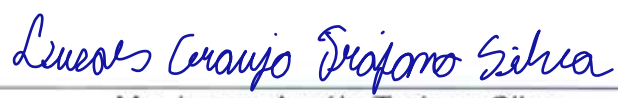
Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Química Industrial
da Universidade Federal da Paraíba como
requisito parcial para obtenção do título de
Bacharel em Química Industrial.

Aprovado em: 06 de Novembro de 2023

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Carlos Alberto Bispo de Sousa
Orientador - DEQ/UFPB


Prof. Dr. Rennio Felix De Sena
Examinador - DEQ/UFPB


Me. Lucas Araújo Trajano Silva
Examinador - PPGEQ/UFPB

RESUMO

O maxixe (*Cucumis anguria*) é uma hortaliça oriunda da região africana, pertencente à família das Cucurbitáceas e vastamente cultivada nas regiões norte e nordeste do Brasil. Em condição ambiente o fruto do maxixe murcha e amarela rapidamente. Dessa forma, este trabalho estudou o comportamento do maxixe submetido ao processo de fermentação láctica sob temperatura de 18°C, para obtenção de pickles. O processo foi acompanhado medindo-se pH, acidez total (% ácido láctico) e sólidos solúveis. Uma vez que o processo de fermentação láctica das hortaliças, previne a contaminação microbiana, promovendo o aumento da vida útil das hortaliças mediante a diminuição do pH, assim como colabora na melhora da qualidade sensorial. A fermentação do maxixe foi investigada por 29 dias, onde o valor final do pH foi de 3,45. Assim como, a acidez expressa em % de ácido láctico foi de 0,75%. Os resultados obtidos através das análises físico-químicas, permitiram averiguar que a fermentação sucedeu normalmente, obtendo-se um produto com características desejáveis de um alimento fermentado. Verificou-se também que a elaboração do pickles fermentado se mostrou como uma alternativa viável para a oferta desta hortaliça, uma vez que o processo de acidificação resulta no aumento de vida útil. Bem como, foi comprovado que a elaboração do pickles implicou em um baixo custo de produção, pois as matérias-primas envolvidas no processo são acessíveis.

Palavras-chave: hortaliça; pickles; maxixe; fermentação.

ABSTRACT

Gherkin (*Cucumis anguria*) is a vegetable originating from the African region, belonging to the Cucurbitaceae family and widely cultivated in the north and northeast regions of Brazil. In ambient conditions, the gherkin fruit shrivels and yellows quickly. Therefore, this work studied the behavior of gherkin subjected to the lactic fermentation process at a temperature of 18°C, to obtain pickles. The process was monitored by measuring pH, total acidity (% lactic acid) and soluble solids. The lactic fermentation process of vegetables prevents microbial contamination, promoting an increase in the shelf life of vegetables by reducing pH, as well as helping to improve sensory quality. Gherkin fermentation was investigated for 29 days, where the final pH value was 3.45. Likewise, the acidity expressed in % lactic acid was 0.75%. The results obtained through physical-chemical analyzes allowed us to verify that fermentation occurred normally, obtaining a product with desirable characteristics of a fermented food. It was also found that the preparation of fermented pickles proved to be a viable alternative for offering this vegetable, since the acidification process results in an increase in shelf life. Furthermore, it was proven that the preparation of the pickle resulted in a low production cost, as the raw materials involved in the process are accessible.

Keywords: vegetables; pickles; gherkin; fermentation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Alimentos fermentados de várias regiões do mundo.....	18
Figura 2 - Pepino fermentado.....	21
Figura 3 - Classificação de alimentos fermentados com relação a presença e ausência de microrganismos vivos.....	22
Figura 4 - Fatores envolvidos na transformação da matéria-prima em alimentos \fermentados.....	23
Figura 5 - Fluxograma da elaboração do pickles de maxixe.....	36
Figura 6 – Maxixe após adição da salmoura.....	38
Figura 7 – Maxixe em fermentação láctica.....	38
Figura 8 – Pickles de maxixe após tratamento térmico.....	38
Figura 9 – Amostras coletadas.....	39
Figura 10 – Maxixe antes da fermentação (a) e durante a fermentação (b).....	41
Figura 11 – pH em função do tempo de fermentação.....	43
Figura 12 - Acidez (% de ácido láctico) em função do tempo de fermentação.....	45
Figura 13 – Teor de sólidos solúveis (°Brix) em função do tempo de fermentação.....	47
Figura 14 – Pickles de maxixe cortados (a,b,c,d,e).....	48

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1 – Composição do maxixe por 100 gramas de parte comestível: Centesimal, minerais, vitaminas.....	16
Tabela 2 – Produtos característicos obtidos através da fermentação láctica.....	34
Tabela 3 – Informações sobre a temperatura, massa do maxixe, local e tempo de fermentação.....	42
Tabela 4 - Resultados das análises de pH durante a fermentação.....	42
Tabela 5 – Resultados das análises de acidez, expressa em ácido láctico durante a fermentação.	45
Tabela 6 – Sólidos solúveis em função do tempo de fermentação.....	46

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

pH - Potencial hidrogeniônico

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BPF - Boas Práticas de Fabricação

LAB – Bactérias ácido lácticas

ISAPP - Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos

LPFD - Laboratório de Produtos Fermentos Destilados

Sumário

1. INTRODUÇÃO	12
2. Justificativa	13
3. OBJETIVO	14
3.1 GERAL	14
3.2 ESPECÍFICOS	14
4. Fundamentação Teórica	15
4.1 Hortaliças	15
4.2 Maxixe (<i>Cucumis anguria</i>)	15
4.3 Conservação de alimentos	16
4.4 Pickles	19
4.5 Fermentação	21
4.5.1 Fermentação homofermentativa	24
4.5.2 Fermentação heterofermentativa	25
4.5.3 Fermentação láctica	26
4.5.4 Fermentação espontânea	28
4.5.5 Fermentação controlada	28
4.6 Fatores que afetam a fermentação láctica	29
4.6.1 pH	29
4.6.2 Temperatura	29
4.6.3 Concentração de sal	30
4.6.4 Atividade de água	30
4.6.5 Anaerobiose	30
4.6.6 Nutrientes	31
4.6.7 Culturas iniciais selecionadas	31
4.7 Microbiologia da Fermentação	31
5. Metodologia	35
5.1 Matérias-primas	35
5.2 Fermentação	35
5.3 Processamento	35
5.4 Análises físico-químicas	39

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
6.1 Fermentação láctica do maxixe	41
6.2 Análises físico-químicas	41
6.2.1 pH.....	42
6.2.2 Acidez titulável	44
6.2.3 Teor de sólidos solúveis	46
6.3. <i>Picles de maxixe</i>.....	47
7. CONCLUSÕES	49
REFERÊNCIAS	50

1. INTRODUÇÃO

O maxixe (*Cucumis anguria*) é uma hortaliça proveniente da região africana, vastamente cultivada nas regiões norte e nordeste do Brasil (SANTOS; CARDOSO, 2001). Essa hortaliça pertence à família das Cucurbitáceas, assim como o pepino, a abóbora e melancia, sendo os frutos fonte de sais minerais e vitaminas. Devido a sua baixa vida útil, seu consumo ocorre posteriormente a sua colheita. Dentre as formas de consumo desta hortaliça, destaca-se o prato típico relacionado à culinária nordestina, chamado de “maxixada”, realizado a partir do fruto maduro cozido com outros ingredientes. Apesar de não ser comum, essa hortaliça também pode ser consumida *in natura* em saladas. Outra forma possível para o consumo do maxixe é o preparo de conservas na forma de pickles (MODOLO; COSTA, 2003).

A fermentação láctica é um processo utilizado na conservação de alimentos, ao qual ocorre devido ao metabolismo das bactérias lácticas, por meio da utilização de substratos fermentáveis (lactose, glicose, frutose, etc.), diminuindo o pH (potencial hidrogeniônico) do meio. Este processo se dá na ausência de oxigênio. Este tipo de fermentação é empregue na produção de diversos produtos, como por exemplo, iogurtes, pickles, azeitonas, manteiga, chucrute, leites fermentados, salames (VASCONCELOS; MELO FILHO, 2010).

Pickles são hortaliças, legumes e frutas conservadas em salmoura ou em vinagre, com ou sem adição de açúcar ou especiarias, podendo ou não ser desenvolvida a fermentação láctica. Os pickles fermentados são aqueles preparados em salmoura de concentração constante, onde se desenvolvem as bactérias lácticas responsáveis pela formação do ácido láctico. Enquanto nos pickles não fermentados, a salmoura apresenta uma concentração mais elevada para prevenir o desenvolvimento de microrganismos (BENEVIDES; FURTUNATO, 1998).

Uma vez que o processo de acidificação de hortaliças, previne a contaminação microbiana, promovendo o aumento da vida útil das hortaliças, assim como colabora na melhora da qualidade sensorial (sabor, textura, aparência e aroma) (LIMA *et al.*, 2006), objetivou-se a elaboração e o acompanhamento do comportamento do maxixe submetido a fermentação espontânea para a obtenção de pickles.

2. JUSTIFICATIVA

As pessoas estão cada vez mais exigentes com aquilo que elas consomem. A conservação promovida por meio da fermentação, assume um valor cada vez maior em um contexto em que a demanda por alimentos de maior saudabilidade, conhecidos como alimentos de rótulo limpo (*clean label*) cresce significante.

O maxixe faz parte da culinária popular das regiões norte e nordeste, sendo consumido cozido, ou até em saladas na forma *in natura*. Contudo, em condições ambiente, o fruto do maxixe murcha e amarela rapidamente. Portanto torna-se necessário utilizar métodos que possibilitem o aumento da vida de prateleira deste.

Sendo assim este trabalho é de suma importância, visto que o maxixe mostra-se viável para a elaboração de pickles, aumentando a vida útil, pois a fermentação se configura como um método de conservação natural, além de proporcionar melhorias na qualidade sensorial do alimento. O pickle torna-se um alimento muito versátil, podendo ser consumido em saladas, em sanduíches, como aperitivos, entre outros.

3. OBJETIVO

3.1 GERAL

Elaborar e acompanhar o comportamento do maxixe submetido a fermentação espontânea para a obtenção de pickles.

3.2 ESPECÍFICOS

- Desenvolver pickles fermentado utilizando uma concentração de salmoura e uma temperatura de fermentação preestabelecida.
- Obter um produto de boa qualidade, do ponto de vista de conservação.
- Acompanhar a variação de pH, acidez e TSS.

4. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A produção de pickles a partir do maxixe (*Cucumis anguria*) apresenta-se como uma possibilidade de mercado para esta hortaliça, agregando valor e promovendo segurança e durabilidade consideráveis, uma vez que o processo de acidificação de hortaliças promove a diminuição do pH, proporcionando o aumento da vida útil, assim como proporciona melhoras nos aspectos sensoriais (LIMA *et al.*, 2006).

4.1 Hortaliças

As hortaliças são alimentos de origem vegetal ricos em vitaminas, fibras, minerais e outros compostos químicos imprescindíveis para o cuidado da saúde. São popularmente conhecidas como legumes e verduras. No qual carecem ser consumidas diariamente, visto que o consumo desses alimentos promove a diminuição do risco de acontecimentos de várias doenças como diabetes, doenças cardiovasculares e obesidade, uma vez que contém baixo teor energético (LANA; TAVARES, 2010).

Sendo assim, as hortaliças abarcam produtos derivados de tubérculos, frutos, raízes, bulbos, folhas, flores e caules de diversas espécies de plantas. Contudo, alguns alimentos classificados como frutas são amiúde tratados como hortaliças (azeitonas, tomates e vagens são exemplos) (ICMSF, 2015).

As hortaliças são alimentos que possuem uma versatilidade enorme, podendo ser preparadas de várias maneiras. Existe uma variedade enorme de hortaliças, sendo assim é fundamental seu consumo na dieta. As condições, tanto do solo e clima do Brasil propiciam o cultivo de uma vasta diversidade de espécies (LANA; TAVARES, 2010).

4.2 Maxixe (*Cucumis anguria*)

O maxixe é uma hortaliça de nome científico *Cucumis anguria*, originária da África. Deveras tradicional no Norte e Nordeste, entretanto pouco conhecida na região Centro-Sul do país. Pertencente à família das Cucurbitáceas, como o pepino, melão, as abóboras e melancia (LANA; TAVARES, 2010). Todavia, os frutos ficam amarelos

e murcham rapidamente em condição ambiente. Tendo o potencial de serem acondicionados sem perda de qualidade em um prazo de até três dias (LANA; TAVARES, 2010).

No que diz respeito ao valor nutritivo, esta hortaliça é fonte de sais minerais, como fósforo, sódio e potássio, além de possuir poucas calorias. A Tabela 1 apresenta a composição média centesimal do maxixe cru, assim como os valores dos minerais.

Tabela 1 - Composição do maxixe por 100 gramas de parte comestível: Centesimal, minerais, vitaminas.

Composição do maxixe cru /100 g	
<i>Umidade (%)</i>	95,1
<i>Energia (kcal)</i>	14
<i>Proteína (g)</i>	1,4
<i>Lipídios (g)</i>	0,1
<i>Carboidrato (g)</i>	2,7
<i>Cinzas (g)</i>	0,7
<i>Fibras alimentar (g)</i>	2,2
<i>Cálcio (mg)</i>	21
<i>Magnésio (mg)</i>	10
<i>Manganês (mg)</i>	0,07
<i>Potássio (mg)</i>	328
<i>Fósforo (mg)</i>	25
<i>Ferro (mg)</i>	0,4
<i>Sódio (mg)</i>	11
<i>Cobre (mg)</i>	0,02
<i>Zinco (mg)</i>	0,2
<i>Vitamina C (mg)</i>	9,6

Fonte: Tabela Brasileira De Composição De Alimentos (2011).

4.3 Conservação de alimentos

Desde tempos atrás o homem procura maneiras de conservar seus alimentos. Entende-se que a conservação pela salga, pelo frio, pela fermentação, pela defumação e pela secagem ao sol, apesar de serem processos muito antigos, ainda são altamente usados para proporcionar a preservação de alimentos (KROLOW, 2006).

A conservação de alimentos deve garantir segurança e qualidade, independentemente se o processamento empregado for artesanal ou industrial. Este processo embasa-se em três fatores fundamentais: a qualidade da matéria-prima utilizada, a manipulação correta e o uso de tecnologia adequada (KROLOW, 2006).

O objetivo dos métodos de conservação dos alimentos é aumentar a vida útil destes, por meio de técnicas que buscam evitar alterações enzimáticas, microbianas, físicas e químicas. Todavia, intentam em manter suas características, como sabor, aroma e textura, assim como seus nutrientes (VASCONCELOS; MELO FILHO, 2010).

Na elaboração de conservas, sejam elas vegetais ou frutas, todos os cuidados devem ser tomados para que o produto não apresente perigo à saúde do consumidor, assim como riscos de deterioração. Portanto, é de crucial importância o emprego de matérias-primas de qualidade, como também a aplicação de boas práticas de fabricação (BPF), visto que essas boas práticas atestam à garantia de qualidade no que diz respeito aos aspectos higiênicos e sanitários (KROLOW, 2006).

De acordo com a Resolução-RDC nº 352, de 23 de Dezembro de 2002, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), na qual define hortaliça em conserva como o produto preparado com tubérculos, brotos, raízes, rizomas, talos, folhas, inflorescências, bulbos, frutos, sementes e cogumelos cultivados, cujas partes comestíveis são envasadas praticamente cruas, reidratadas ou pré-cozidas, imersas ou não em líquido de cobertura apropriado, submetidas a processamento tecnológico antes ou depois de fechadas hermeticamente nos recipientes utilizados a fim de evitar sua alteração. Esta resolução também define hortaliça acidificada por fermentação, como sendo aquela compelida à fermentação láctica de forma a atingir o pH do produto igual ou menor que 4,5, devendo ser sujeitada ao tratamento térmico de pasteurização para sua conservação.

Processos fermentativos diferentes são largamente utilizados na produção de uma enorme diversidade de produtos, como a fermentação alcoólica, diretamente relacionada a produção de diversos tipos de bebidas alcoólicas; a láctica, associada a produção de derivados lácteos e vegetais; a acética, crucial para a produção de vinagre e bebidas não alcoólicas (LINDNER; MARTIN, 2022).

Na figura 1 pode-se observar alguns alimentos fermentados de várias regiões do mundo, com suas prováveis origens. Fazemos parte de um mundo fermentador, ao qual compreende uma riqueza desmedida de produtos fermentados, providos de aromas, sabores e propriedades específicas. A globalização transfigurou nossa

relação com a produção e o consumo de alimentos. O ritmo de vida cada vez mais frenético, associado a mudanças comportamentais, são um reflexo disso. As pessoas estão cada vez mais conscientes em relação aos produtos que consomem. Portanto, fermentados culturalmente aceitáveis, de custo reduzido e alto valor nutricional, estão presentes nas mais diversas regiões do mundo (LINDNER; MARTIN, 2022).

Figura 1 – Alimentos fermentados de várias regiões do mundo.



Fonte: Lindner; Martin (2022).

A enorme diversidade de vegetais fermentados robustece a importância, tanto cultural, quanto econômica desse tipo de produto para diversas culturas em torno do mundo. Os vegetais fermentados constituem produtos obtidos, comumente, por fermentação espontânea com microrganismos residentes (autóctones) das matérias-primas vegetais (MARTIN *et al.*, 2022).

Na última década, os estudos realizados sobre vegetais fermentados têm vindo a aprimorar novas e avançadas técnicas que propiciaram estabelecer uma base de conhecimento mais sólida sobre a microbiota responsável pela fermentação dos alimentos. Em particular, as técnicas metagenômicas e moleculares, assim como a análise bioinformática adicional possibilitaram um estudo aprofundado do papel das LAB (bactérias ácido lácticas) durante a fermentação (BAUTISTA-GALLEGOA, 2020).

4.4 Pickles

Picles são hortaliças, legumes e frutas conservadas em vinagre ou em salmoura, com ou sem desenvolvimento da fermentação láctica, podendo ou não conter especiarias ou açúcar (BENEVIDESS; FURTUNATO, 1998). Embora o picles seja tipicamente associado a pepinos, eles são produtos versáteis, visto que podem ser preparados por um único tipo de vegetal, sendo este denominado picles simples ou elaborado com várias hortaliças (picles mistos). Dessa forma, em resumo, considerando o emprego ou não da fermentação, podem ser classificados como:

- **Picles não fermentados.** Neste caso, os picles não fermentados podem ser obtidos pelo uso de solução de vinagre (ácido acético), sendo classificado com (picles em vinagre). Podendo adicionar também sal e, em alguns casos, ervas ou especiarias (picles aromatizados), como também açúcar (picles doces), aspirando o desenvolvimento de textura e sabor característico (MARTIN *et al.*, 2022). Assim como, os (picles em salmoura concentrada), também se enquadram na classificação dos picles não fermentados, visto que, a salmoura utilizada apresenta uma concentração mais elevada, contendo até 16% de sal. Dessa forma, a fermentação é impedida por meio da presença excessiva de sal ou ácido acético (MARTIN *et al.*, 2022).
- **Picles fermentados.** São aqueles obtidos por meio da imersão dos vegetais em salmoura diluída (picles fermentados ácidos), onde, por meio desta, as bactérias lácticas, responsáveis pela formação do ácido láctico se desenvolvem. Desse modo, o ácido láctico gerado, tem a função impedir o crescimento de microrganismos deteriorantes, além de atribuir gosto ácido ao produto (LINDNER; MARTIN, 2022). Como também temos os (picles fermentados doces), onde a preservação dos vegetais se dá através da combinação de ácido láctico, ácido acético e açúcar (MARTIN *et al.*, 2022).

Sendo assim, no Brasil, para proceder à elaboração e comercialização de picles, os produtores devem seguir as regulamentações da ANVISA, no qual se remete ao controle de qualidade do produto. Onde, diz que as hortaliças em conserva, sejam elas acidificadas por meio da fermentação ou artificialmente, devem apresentar o pH no produto menor ou igual que 4,5, sendo comprovado através de análises laboratoriais (BRASIL, 2002).

A elaboração de conservas acidificadas deve proporcionar ao consumidor segurança com relação ao produto. Dessa forma deve-se utilizar de procedimentos de tratamento térmico em conjunto com a acidificação (RAUPP *et al.*, 2008).

Logo, as operações de processamento de hortaliças em conserva devem ser realizadas em condições que evitem a deterioração, contaminação ou proliferação de microrganismos diversos, como o *Clostridium botulinum* que é um patógeno formador de esporos (BRASIL, 2002).

Devido ao fato da maioria das hortaliças serem classificadas como alimentos de baixa acidez, apresentando o pH acima de 4,5, nesse sentido, essa característica pode instigar o desenvolvimento do *Clostridium botulinum*, que é uma bactéria anaeróbica formadora de esporos, cuja toxina produzida é responsável por causar o botulismo (NOGUEIRA *et al.*, 1993). O botulismo é uma doença neurológica. Embora seja uma causa rara de doença, a bactéria responsável por causar o botulismo gera a toxina, cuja dose letal para o ser humano é em torno de 10^{-8} g (CAMPBELL-PLATT, 2015).

Segundo Dahal *et al.* (2005) pepinos em conserva, também conhecidos como pickles, são elaborados na Ásia, África e América Latina. Os pepinos utilizados na elaboração do pickles passam por uma fermentação láctica resultando em um produto verde mais escuro. Pepinos maduros que não estejam danificados totalmente são lavados em água potável. Após isso, é adicionado a concentração de sal aos pepinos. Logo que a salmoura é engendrada, a fermentação se inicia e ocorrem a formação de bolhas de CO₂. A concentração de sal propicia desempenha um efeito seletivo em relação a flora natural, tendo como desfecho o desenvolvimento das bactérias lácticas (MONTET; RAY; ZAKHIA-ROZIS, 2015).

No estudo realizado por Stoll *et al.*, (2020) foi provado que o uso de sal de mesa (sal iodado) também é apropriado para uma fermentação bem-sucedida de pepinos. A microbiota não é significativamente afetada durante a fermentação, quando comparada com fermentações conduzidas com a mesma quantidade de NaCl não iodado na salmoura.

Finda a fermentação, o pH apresentará valores de 3,5 a 3,6, enquanto a acidez atingirá valores de 0,7% - 1,0%, calculado em ácido láctico (GOLDONI, 2001).

O pickles de pepino (Figura 2) em geral é acondicionado em recipientes limpos e tampados. Em razão do nível de acidez elevado, o produto se mantém convenientemente conservado em um local fresco (TAMANG *et al.*, 2005). Uma vez

que a fermentação láctica promove a diminuição do pH, assim como eleva o nível de acidez do produto, assegurando a sua conservação.

Figura 2 - Pepino fermentado.



Fonte: Montet; Ray; Zakhia-Rozis (2015).

4.5 Fermentação

A fermentação consiste em um processo natural anaeróbico (ausência de oxigênio) de obtenção de energia, induzido por microrganismos (FAO, 1998). Bioquimicamente, corresponde ao processo anaeróbico gerador de ATP, onde compostos orgânicos operam como aceptores e doadores de elétrons. Dessa forma, essa definição compreende principalmente as fermentações láctica e alcoólica, empregadas na produção de vegetais fermentados, queijos, assim como um grande sortimento de bebidas (LINDNER; MARTIN, 2022).

Todavia, esta definição não se aplica acertadamente a outros produtos, onde a fermentação assume um sentido mais amplo e abarca reações não relacionadas propriamente à definição bioquímica (LINDNER; MARTIN, 2022).

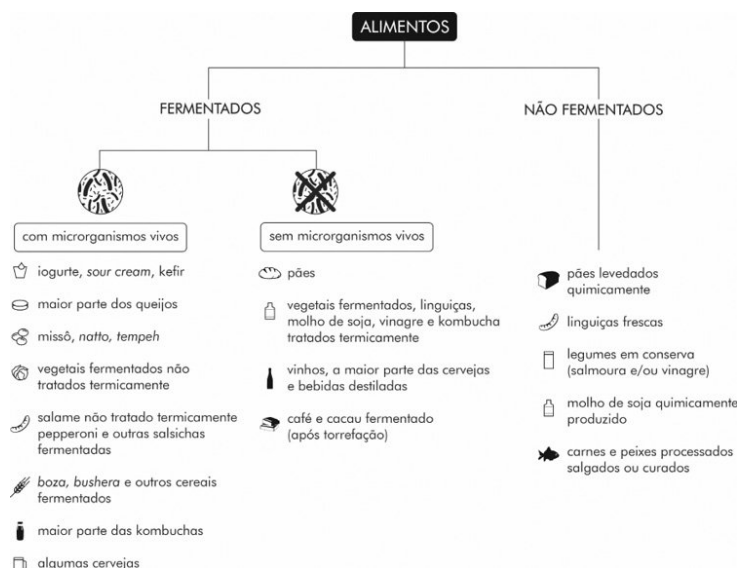
De acordo com a Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (ISAPP), ao qual organizou um encontro de especialistas de diversas áreas científicas no ano de 2019, cujo objetivo principal foi desenvolver um relatório de consenso com a finalidade de fornecer aos pesquisadores uma definição mais clara e abrangente sobre alimentos fermentados. Sendo, alimentos fermentados

definidos como: “alimentos produzidos através do crescimento microbiano desejado por meio de conversões enzimáticas dos componentes alimentares” (MARCO *et al.*, 2021).

Dessa forma, a fim de se obter produtos estáveis e de sabor agradável, os microrganismos atuam de forma controlada nos nutrientes presentes nos alimentos, convertendo os açúcares em ácidos orgânicos, álcool, etc. Com isso é promovido modificações com relação às características sensoriais e nutricionais (CARELLE; CÂNDIDO, 2015).

Os produtos fermentados são conservados devido a redução do pH. A fermentação é utilizada na indústria em diversos processos. Na produção de bebidas alcoólicas, queijos, iogurtes, vegetais fermentados, entre outros. As fermentações podem ser classificadas em homofermentativa e heterofermentativa, conforme a quantidade de produtos formados (VASCONCELOS; MELO FILHO, 2010). Na Figura 3, pode ser observado uma classificação para alimentos fermentados, respaldada na presença ou ausência de microrganismos vivos.

Figura 3 – Classificação de alimentos fermentados com relação a presença e ausência de microrganismos vivos.



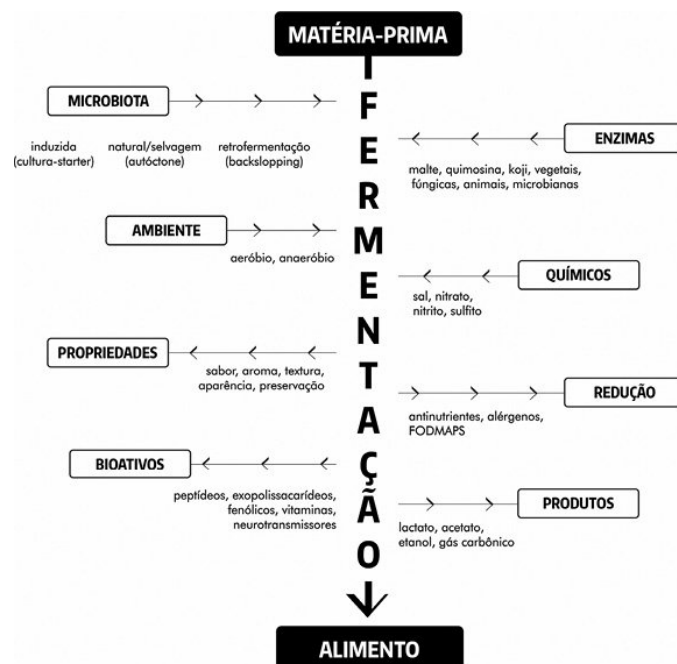
Fonte: Lindner; Martin (2022).

Por meio da ocorrência de condições favoráveis, como concentração de sal, anaerobiose, temperatura e atividade de água, as bactérias lácticas presentes nas

frutas e vegetais podem desenvolverem-se e promoverem à fermentação láctica espontânea. A fermentação alcoólica pode ocorrer juntamente com a fermentação láctica em alguns casos. Geralmente, na etapa inicial da fermentação láctica, ocorre a inibição das bactérias Gram-negativas (DI CAGNO *et al.*, 2013).

Na Figura 4, pode-se observar os diversos fatores envolvidos na transformação da matéria-prima em alimentos fermentados. Sendo eles: microbiota, enzimas, ambiente, fatores químicos. No que diz respeito a microbiota incumbida da fermentação, de início, pode-se diferenciar a atividade dos microrganismos induzidos intencionalmente à matéria-prima (culturas starter), como exemplo: os fermentos naturais e industrializados, bastantes utilizados na produção de queijos, pães, entre outros, da atividade desempenhada por aqueles microrganismos naturalmente presentes na matéria-prima (autóctones) (LINDNER; MARTIN, 2022).

Figura 4 – Fatores envolvidos na transformação da matéria-prima em alimentos fermentados.



Fonte: Lindner; Martin (2022).

Um artifício mais fácil de compelir e monitorar a fermentação espontânea é empregar o método *backslopping*, no qual consiste basicamente em instigar a fermentação acelerada por meio da utilização de uma quantidade pequena de uma

matéria-prima antecipadamente fermentada com êxito como inóculo (DI CAGNO *et al.*, 2013).

O *backslopping* é corriqueiramente empregue na fermentação do chucrute com o objetivo de beneficiar o controle das cepas que se apresentam mais satisfatoriamente adaptadas, de forma a reduzir o tempo da fermentação (LEROY; DE VUYST, 2004).

Geralmente, a fermentação espontânea de frutas e vegetais abarca o sucedimento de bactérias lácticas heterofermentativa e homofermentativa, na utilização ou não de leveduras juntamente com essas bactérias. (PLENGVIDHYA *et al.*, 2004). Portanto, é crucial estabelecer condições favoráveis ao desenvolvimento das bactérias lácticas. Sendo a concentração adequada de sal e ausência de ar, fatores imprescindíveis para o desenvolvimento do processo. Essas condições são importantes, visto que, no caso do sal, além de exercer a função de condimentação, é fundamental para a seleção de microrganismos de interesse, assim como promove a inibição de bactérias patogênicas e deteriorantes. Dessa forma, concentrações relativamente altas de sal são necessárias para induzir a fermentação de vegetais, como chucrute e pickles. Além do mais, o ambiente também exerce um papel de suma importância na seleção dos microrganismos, particularmente quanto à disponibilidade de oxigênio. Visto que a maior parte das leveduras e bactérias são anaeróbias facultativas, enquanto as bactérias acéticas e os fungos filamentosos carecem de oxigênio para se multiplicarem (LINDNER; MARTIN, 2022).

4.5.1 Fermentação homofermentativa

Na fermentação homofermentativa os microrganismos utilizados produzem um único produto principal (VASCONCELOS; MELO FILHO, 2010). No caso das bactérias lácticas, o único produto da fermentação produzido é o ácido láctico através da via glicólica (Embden-Meyerhof) (MONTET; RAY; ZAKHIA-ROZIS, 2015). A fermentação de um mol de glicose produz dois mols de ácido láctico, como mostrado na Equação 1. Onde, algumas bactérias envolvidas nesse processo pertencem aos gêneros *Pediococcus*, *Streptococcus* e *Lactococcus*.

4.5.3 Fermentação láctica

A fermentação láctica é um processo anaeróbio que ocorre devido ao metabolismo das bactérias lácticas, por meio da utilização de substratos fermentáveis (lactose, glicose, frutose, etc.), convertendo esses substratos em ácido láctico. O ácido láctico (ácido 2-hidroxipropanóico) produzido é um ácido carboxílico com a seguinte fórmula química $C_3H_6O_3$. (AQUARONE *et al.*, 2001). Este tipo de fermentação é empregue na produção de diversos produtos, como por exemplo, iogurtes, pickles, leites, azeitonas, manteiga, chucrute, leites fermentados, salames (VASCONCELOS; MELO FILHO, 2010). Este processo é utilizado para inibir o desenvolvimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos de alimentos de origem animal e de origem vegetal, por meio da redução do pH e acidificação do meio (CARELLE; CÂNDIDO, 2015). Logo, a fermentação láctica pode ocorrer de forma espontânea ou controlada.

O emprego da fermentação láctica como método de preservação de hortaliças se dá através de dois processos: método da salga seca e de salmoura. O primeiro é aplicado para o repolho, tendo o chucrute como produto. Enquanto o método de salmoura é utilizado para a maioria das hortaliças, como pepino, cenoura, etc. Para o método da salga seca, emprega-se 2,5% de sal em relação ao peso da hortaliça (GOLDONI, 2001). Quanto ao método da salmoura, a concentração de cloreto de sódio (NaCl) pode variar de 20 a 80 g/L (2% - 8%) (RAO *et al.*, 2004). A fermentação, geralmente leva de 4 a 6 semanas para concluir-se, tendo como temperatura ideal de fermentação compreendida entre 18°C e 20°C. Sendo que, temperaturas entre 20°C e 25°C também apresentam bons resultados (GOLDONI, 2001).

A averiguação do final do processo fermentativo, pode ser realizada através do controle visual e por meio do controle físico-químico. O controle visual é realizado através de observações visuais do aspecto das hortaliças. Onde a mudança de coloração é acompanhada, resultando em uma tonalidade mais clara (GOLDONI, 2001). Assim como a ausência da produção de bolhas no processo também é um fator observado (MARTIN *et al.*, 2022). Através de análises físico-químicas, como: pH e acidez total expressa em porcentagem de ácido láctico, é possível estudar o procedimento de fermentação láctica. Esse acompanhamento possibilita verificar se o processo fermentativo está sucedendo normalmente, com o propósito de obter

produtos que se apresentem seguros no que diz respeito a conservação e aspectos de saúde pública (GOLDONI, 2004).

Como parâmetro avaliativo, apenas a aferição do pH não é suficiente, visto que o pH, em um determinado momento tende a não sofrer modificações significativas em virtude do efeito tampão da hortalixa. Este efeito ocorre quando o pH atinge, na salmoura o valor do pKa do ácido láctico, que corresponde a 3,86. Sendo assim, devido à redução na liberação de prótons H^+ , o pH tende a não sofrer modificações. Dessa maneira, faz-se necessário avaliar concomitantemente os valores de acidez titulável expressa em % de ácido láctico. Visto que, este parâmetro possibilita um diagnóstico mais veraz sobre o curso da fermentação (MARTIN *et al.*, 2022).

Findo o processamento, é ansiado que o picles, seja ele fermentado ou não fermentado, apresente atributos como sabor ácido, textura firme e ausência de sedimentação (MARTIN *et al.*, 2022).

Todavia, no decorrer do processo fermentativo pode ocorrer alterações no produto, como: amolecimento, picles com “cavidades” e escurecimento da salmoura. Segundo Goldoni (2001), foi constatado que o amolecimento, de um modo geral, ocorre em virtude da decomposição das substâncias pécticas da hortalixa, tendo como causadoras desta decomposição, as próprias enzimas das hortalixas ou enzimas secretadas por bactérias, leveduras ou fungos. Com relação ao picles com “cavidades”, ou picles “oco”, são citados como agentes causadores as bactérias heterofermentativas, as leveduras fermentativas e as enterobactérias, isso com relação aos microrganismos. Fatores relacionados a estrutura física da hortalixa, diferença nos estádios de maturação, assim como formação de gás por microrganismos também são responsáveis. O escurecimento da salmoura pode ocorrer mediante a formação de sulfato de ferro.

Com o objetivo de reduzir a deterioração, práticas utilizadas em outras indústrias de fermentação, bem como a de manteiga, a de queijo, entre outras, podem servir como um guia para a indústria de fermentação de hortalixas (GOLDONI, 2001). As condições responsáveis pelo amolecimento, formação de “cavidades” e outras alterações são conhecidas, dessa forma podem ser corrigidas.

Durante a fermentação, determinadas práticas têm sido estabelecidas a fim de propiciar o crescimento das espécies desejáveis. Sendo assim, é necessário proporcionar o crescimento de *Leuconostoc mesenteroides*, com o intuito de predispor condições adequadas às demais bactérias lácticas. Este crescimento das espécies

desejáveis, se dá em função do efeito sal – ácido, relacionado a condições de anaerobiose (GOLDONI, 2001).

4.5.4 Fermentação espontânea

As frutas frescas, assim como as hortaliças podem apresentar elevadas cargas microbianas após a colheita (por volta de 10^5 a 10^7 microrganismos/g), desde bactérias Gram-negativas, bolores, leveduras e bacilos Gram-positivos (MONTET; RAY; ZAKHIA-ROZIS, 2015). Todavia as bactérias lácticas estão presentes em uma quantidade pequena, menos de 0,1% de toda população microbiana, devido à necessidade de as bactérias demandarem de fartos nutrientes para seu metabolismo e crescimento, como vitaminas, ácidos graxos, aminoácidos e certos minerais. Consequentemente, o ambiente vegetal não é oportuno para o desenvolvimento destas bactérias (MONTET; RAY; ZAKHIA-ROZIS, 2015).

Porém há a possibilidade do meio ser enriquecido através do adicionamento de certos ingredientes proteicos ou da salga, na qual favoreçam seu crescimento (RAO *et al.*, 2004). Durante o processo de fermentação láctica, o ácido láctico é formado e consequentemente ocorre a diminuição do pH, promovendo a inibição das bactérias esporulantes. Dessa maneira, apenas bactérias lácticas estão aptas ao crescimento (MONTET; RAY; ZAKHIA-ROZIS, 2015).

4.5.5 Fermentação controlada

Para fermentação láctica controlada ocorrer, certas condições necessitam serem criadas visando favorecer o crescimento de bactérias inoculadas no meio (GARDNER *et al.*, 2001). Sendo assim, para a fermentação láctica controlada de frutas e vegetais, podem ser empregadas duas opções principais: o uso de fermentos autóctones, que são os microrganismos naturalmente presentes na matéria-prima, aos quais podem ser isolados e reutilizados na mesma matriz bruta. E os alóctones também chamados de starters comerciais que são isolados de certas matrizes, podendo serem utilizados na fermentação de diversos produtos (DI CAGNO *et al.*, 2013; LINDNER; MARTIN, 2022).

Goldoni (2001), afirma que o maior objetivo da fermentação controlada é a elaboração de fermentações uniformes e previsíveis, visando a obtenção de produtos de alta acidez.

4.6 Fatores que afetam a fermentação láctica

Os fatores que influenciam a atividade e o crescimento das bactérias lácticas na fermentação de hortaliças e frutas são: pH, temperatura, concentração de sal, atividade de água, anaerobiose, nutrientes, cultura inicial selecionada (RAO *et al.*, 2004; DI CAGNO *et al.*, 2013).

4.6.1 pH

O pH é um fator de suma importância no desenvolvimento e na preservação tanto do sabor quanto do aroma de diversos vegetais fermentados como picles, azeitonas, repolho, entre outros (DI CAGNO *et al.*, 2008). Os microrganismos, neste caso as bactérias, apresentam pH ótimo próximo do ponto neutro (pH 7,0) (BATTCOCK; AZAM-ALI, 2001). Algumas bactérias demonstram tolerância a ácidos (*Streptococcus* e *Lactobacillus*), sendo capazes de sobreviver em pH reduzidos (em torno de 3,0 a 4,0) (MONTET; RAY; ZAKHIA-ROZIS, 2015).

4.6.2 Temperatura

Para que a fermentação vegetal ocorra de forma eficiente, a temperatura deve ser estudada aplicadamente. A maioria das bactérias apresentam temperatura ótima para o seu desenvolvimento, entre 20°C e 30°C, há algumas bactérias (termófilas) que optam por temperaturas mais altas, entre 50°C e 55°C, além disso, também tem as bactérias que preferem temperaturas mais frias (15 - 20°C) (ROSS *et al.*, 2002). Sendo que, em síntese a maioria das bactérias lácticas apresenta um melhor funcionamento em temperaturas entre 18°C e 22°C (MONTET; RAY; ZAKHIA-ROZIS, 2015). Espécies de *Leuconostoc* apresentam temperatura ótima de 18 a 22°C. Já

espécies de *Lactobacillus* são favorecidas em temperatura acima de 22°C (BATTCOCK; AZAM-ALI, 2001).

4.6.3 Concentração de sal

A salinidade, assim como os fatores citados acima, é um ponto importante para proceder a fermentação vegetal. Dessa maneira, durante a fermentação a concentração de cloreto de sódio (NaCl) pode variar de 20 a 80 g/L (RAO *et al.*, 2004). Bactérias láticas podem suportar elevadas concentrações de sal. Por isso, está tolerância a altas concentrações de sal concebe uma vantagem em relação a bactérias menos tolerantes e viabiliza a fermentação lática que impossibilita o crescimento de microrganismos inoportunos. *Leuconostoc* é uma espécie de bactéria conhecida por apresentar alta tolerância ao sal, sendo assim, inicia a grande parte das fermentações láticas (BATTCOCK; AZAM-ALI, 2001). O sal instiga a plasmólise nas células vegetais, de forma a liberar os nutrientes presentes no vacúolo, criando condições favoráveis para o crescimento das bactérias láticas (MONTET; RAY; ZAKHIA-ROZIS, 2015). Segundo Goldoni (2001), o sal serve para lixiviar o conteúdo celular, de forma a facilitar o desenvolvimento das bactérias láticas, responsáveis pela fermentação.

4.6.4 Atividade de água

Geralmente, as bactérias necessitam de uma atividade de água deveras alta (0,9 ou superior) para poderem sobreviver (BATTCOCK; AZAM-ALI, 2001). Todavia algumas espécies que possuem a capacidade de suportar atividades de água menores, sendo em geral os fungos e as leveduras são os microrganismos que predominam em alimentos com atividade mais baixa (MONTET; RAY; ZAKHIA-ROZIS, 2015).

4.6.5 Anaerobiose

A presença de oxigênio determina tanto a quantidade, quanto o tipo de produto biológico gerado, assim como a quantidade de substrato consumido e a energia que

é liberada da reação de fermentação. O processo fermentativo ocorre na ausência de oxigênio, sendo denominado anaeróbio. Entretanto, algumas bactérias, particularmente os *Lactobacillus*, se desenvolvem na presença de quantidades diminutas de oxigênio atmosférico, sendo denominados de microaerofílicos (BATTCOCK; AZAM-ALI, 2001).

4.6.6 Nutrientes

Para proceder ao seu metabolismo, as bactérias, sejam elas formadoras do ácido láctico ou ácido acético, necessitam de uma fonte de nutrientes. No caso das bactérias fermentativas, estas demandam carboidratos, sejam eles açúcares simples, como frutose e glicose, ou carboidratos complexos, como celulose ou amido (MONTET; RAY; ZAKHIA-ROZIS, 2015).

4.6.7 Culturas iniciais selecionadas

A escolha de culturas starter é respaldada principalmente na disputa entre a flora natural e a starter, assim como melhora nas características organolépticas dos produtos provenientes da fermentação (MCFEETERS, 2004). Dessa forma, o critério adotado para seleção de bactérias ácido lácticas (LAB) no uso como culturas iniciadoras tem sido tradicionalmente relacionado ao metabolismo homofermentativo, visto que implica em uma taxa rápida de consumo de açúcar e produção de ácido láctico. Assim como a boa adaptação às condições intrínsecas de temperatura, pH e sal (BAUTISTA-GALLEGOA, 2020).

4.7 Microbiologia da Fermentação

No que se refere a microbiologia, são poucas as espécies de bactérias incumbidas pela fermentação da maior parte das hortaliças. Onde, estas bactérias se desenvolvem em uma sequência natural. No desenrolar do processo, são encontrados três grupos de microrganismos, sendo: as leveduras, as bactérias lácticas e as enterobactérias. Dentre os três grupos encontrados, o grupo láctico é o mais

importante. Os outros grupos são indesejáveis, visto que seu crescimento ocorre em desfavor das bactérias lácticas. As leveduras sempre estarão presentes, por isso seu crescimento deve ser evitado ao máximo, pois elas metabolizam o ácido láctico, promovendo a elevação do pH. O aumento do pH possibilitará que microrganismos deteriorantes cresçam e comprometam a fermentação. Enquanto as enterobactérias terão seu desenvolvimento inibido quando o pH do meio alcançar valores em torno de 4,5 (GOLDONI, 2001).

As bactérias produtoras do ácido láctico (LAB) são um grupo de microrganismos responsáveis por transformar o material fermentável, principalmente glicose e frutose, em ácidos orgânicos através da fermentação (BAUTISTA-GALLEGO, 2020).

As espécies de bactérias incumbidas pela fermentação estão presentes em pequenas quantidades na superfície das hortaliças. A quantidade destas espécies responsáveis pela fermentação, comparadas com as espécies aeróbias é demasiadamente desproporcional. Sendo assim, ao acondicionar as hortaliças para fermentação, é de suma importância estabelecer condições ambientais que sejam favoráveis as bactérias lácticas e desfavoráveis a flora aeróbia (GOLDONI, 2001).

As etapas iniciais das fermentações vegetais são geralmente realizadas por microrganismos heterofermentativos com a produção de ácidos láctico e acético que contribuem de forma importante para o sabor e aroma do produto. Com relação a sua morfologia, são cocos e bastonetes gram-positivos, não esporulantes (MONTET; RAY; ZAKHIA-ROZIS, 2015; BEHERA, 2020).

Em um estudo realizado por Zheng *et al.*, (2020), foi proposta uma reorganização do gênero *Lactobacillus*. Esta proposta se deu considerando-se aspectos ecológicos, genotípicos e fenotípicos. Dessa forma esse gênero foi reclassificado em 23 novos gêneros (*Holzapfelia*, *Amylolactobacillus*, *Bombilactobacillus*, *Companilactobacillus*, *Lapidilactobacillus*, *Agrilactobacillus*, *Schleiferilactobacillus*, *Loigolactobacillus*, *Lacticaseibacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Latilactobacillus*, *Dellaglioia*, *Liquorilactobacillus*, *Ligilactobacillus*, *Lentilactobacillus*, *Furfurilactobacillus*, *Paucilactobacillus*, *Limosilactobacillus*, *Fructilactobacillus*, *Acetilactobacillus*, *Apilactobacillus*, *Levilactobacillus*, *Secundilactobacillus*), além de *Paralactobacillus* e *Lactobacillus delbrueckii* (LINDNER; MARTIN, 2022).

As espécies de bactérias responsáveis pela fermentação da azeitona são compostas por: *Leuconostoc mesenteroides*, *Levilactobacillus brevis* (*Lactobacillus brevis*) e *Lactiplantibacillus plantarum* (*Lactobacillus plantarum*), sendo o mesmo que

fermentam o pickles e o chucrute (repolho fermentado) (VASCONCELOS e MELO FILHO, 2010).

Durante a fermentação das hortaliças, ocorrem mudanças complexas que são causadas pela sequência das bactérias lácticas. O crescimento de cada espécie depende da sua presença nas hortaliças, da concentração de sal, do teor de açúcar e da temperatura. A fermentação é iniciada por *Leuconostoc mesenteroides*, seguida por *L. brevis*, *Pediococcus acidilactici* e *L. plantarum* (espécie que produz grande quantidade de ácido) (GOLDONI, 2001). Na Tabela 2 pode-se observar alguns produtos característicos obtidos através da fermentação láctica.

Tabela 2 – Produtos característicos obtidos através da fermentação láctica.

Alimentos fermentados	Principais ingredientes	Microflora dominante	Região
Kefir	Leite	<i>Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc, Oenococcus, Pediococcus, Streptococcus</i>	Internacional
Iogurte	Leite	<i>Streptococcus thermophilus, Lactobacillus bulgaricus</i>	Internacional
Queijo	Leite	<i>Lactobacillus lactis, Streptococcus thermophilus, Lactobacillus shermanii, Lactobacillus bulgaricus, Propionibacterium shermanii</i>	Internacional
Kimche	Repolho, rabanete, sal	<i>Lactobacillus, Leuconostoc, Pediococcus, Weissella</i>	Coreia
Sourdough	Farinha, água	<i>Enterococcus, Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc, Pediococcus, Streptococcus, Weissella</i>	Internacional
Picles	Pepinos, sal	<i>Enterobacter, Leuconostoc mesenteroides, Levilactobacillus brevis (Lactobacillus brevis), Lactiplantibacillus plantarum (Lactobasillus plantarum)</i>	Internacional
Villi	Leite	<i>Lactococcus lactis subsp.cremoris, Lactococcus lactis subsp. Lactis,</i>	Países Nórdicos
Chucrute	Repolho, sal	<i>Leuconostoc mesenteroides, Lactococcus lactis, Levilactobacillus brevis (Lactobacillus brevis), Lactiplantibacillus (Lactobacillus plantarum), Lactobacillus pentoaceticus</i>	Internacional

Fonte: Adaptado de Zapasnik; Sokolowska; Bryla (2022).

5. METODOLOGIA

Os experimentos de fermentação do maxixe foram realizados no LPFD– Laboratório de Produtos Fermentos Destilados. O pickles acidificado por fermentação seguiu a Resolução-RDC nº 352, de 23 de dezembro de 2002 da ANVISA, no qual estabelece que o pH do produto seja igual ou menor que 4,5.

5.1 Matérias-primas

Para a realização da fermentação foi utilizado maxixe comum (*Cucumis anguria*), adquirido no CECAF - Centro de Comercialização de Agricultura Familiar de João Pessoa. Assim como sal refinado “iodado” adquirido em um mercado local. Foi utilizado 2 kg da hortalíça para a elaboração do pickles. Para a fermentação da hortalíça, foi utilizado um pote de vidro com 3L de capacidade e 2 potes menores de 500ml para realizar o tratamento térmico.

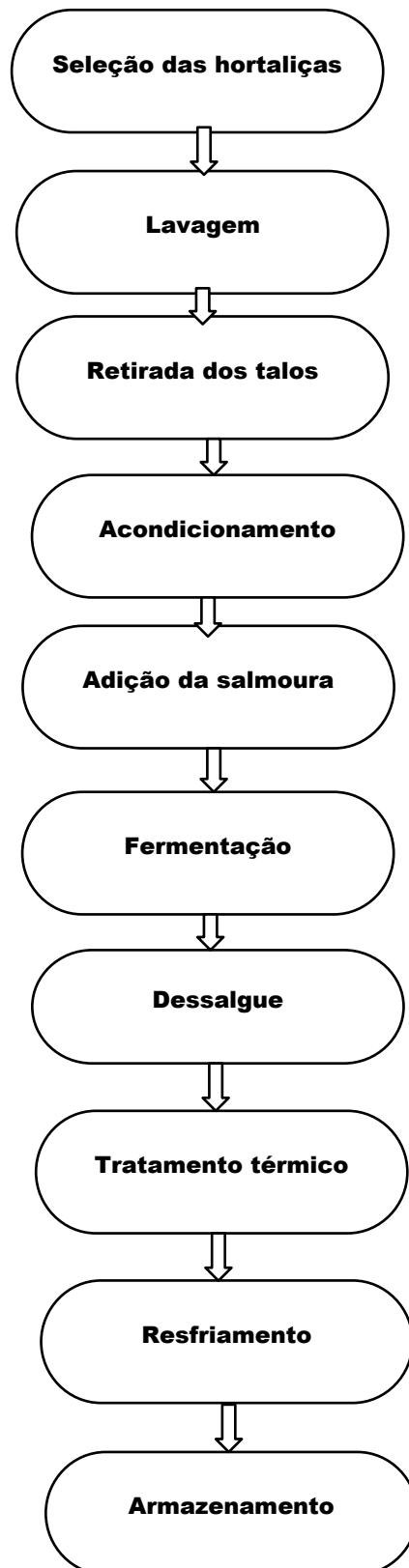
5.2 Fermentação

O pickles foi elaborado pelo método da salmoura, baseando-se na metodologia descrita por LIMA *et al.*, (2006), utilizando-se cerca de 2 kg de matéria-prima.

5.3 Processamento

A elaboração do pickles seguirá o fluxograma descrito na Figura 5.

Figura 5 - Fluxograma da elaboração do pickles de maxixe.



Inicialmente foi realizada a etapa de seleção da hortaliça, no qual devem ser seguidos alguns critérios como: grau de maturação, cor, tamanho, integridade e tamanho dos espículos (KROLOW, 2006) (NASCIMENTO; NUNES; NUNES, 2011). Sendo assim os maxixes selecionados devem encontrar-se no grau de maturação ideal (semi-maduro), sem danos físicos e incidência visual de contaminação microbiana. O maxixe foi lavado em água potável objetivando a remoção de sujeiras como terra, folhas, entre outros, provenientes do local de cultivo. Em seguida foram retirados os talos. Na etapa posterior foi efetuado a arrumação das hortaliças no pote de vidro de 3L, no qual os maxixes foram acondicionados de forma inteira. Os potes a serem utilizados deveram estar bem limpos mediante uma boa lavagem e enxágue, podendo também ser empregue a esterilização através da fervura dos potes de vidro (KROLOW, 2006).

Como pode ser visto na Figura 6, os maxixes foram arrumados no pote de vidro, sendo adicionado o líquido de cobertura (salmoura) preparado em temperatura ambiente, com a concentração de sal (5% p/v). A fermentação foi realizada na temperatura de 18°C em um freezer. Utilizando um termômetro digital para registro da temperatura. O processo de fermentação foi monitorado por meio do desenvolvimento da acidez e diminuição do pH. Entretanto, no 17º dia foi necessário adicionar uma tampa falsa de plástico e um peso previamente esterilizado para que as hortaliças ficassem submersas na salmoura (Figura 7).

Posteriormente, após o processo fermentativo de 29 dias, o pickles foi dessalgado por imersão em água. Após serem dessalgados, os maxixes fermentados foram acondicionados em potes de vidro de 500 ml, com uma solução de 1L (água-vinagre) na proporção de 75% água e 25% de vinagre, com pH 2,66.

Na etapa seguinte, foi adotado o tratamento térmico (pasteurização) em banho maria na temperatura de 60 °C por 30 minutos. Logo após o tratamento térmico, foi realizado o resfriamento em um tacho aberto. Por último, os potes foram rotulados (Figura 8) e armazenados na geladeira.

Figura 6 – Maxixe após adição da salmoura.



Fonte: O Autor (2023).

Figura 7 – Maxixe em fermentação láctica.



Fonte: O Autor (2023).

Figura 8 – Pickles de maxixe após tratamento térmico (a) (b).



(a)



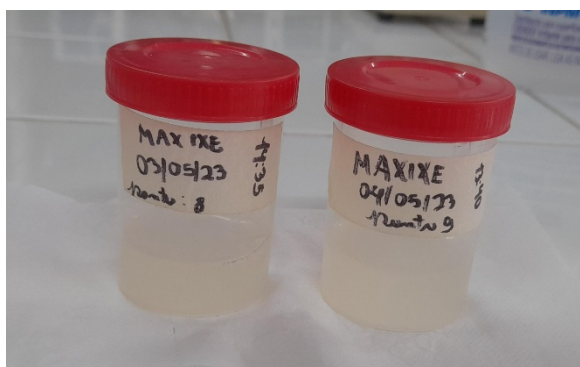
(b)

Fonte: O Autor (2023).

5.4 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas a serem realizadas seguiram as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008). Durante o período de fermentação foram coletadas amostras de 20 ml de salmoura (Figura 9) a intervalos de tempo pré-determinados. As coletas foram realizadas através de uma torneira acoplada ao pote. As amostras retiradas foram utilizadas para as análises de pH, acidez total expressa em porcentagem de ácido láctico e teor de sólidos solúveis, sendo as análises realizadas em triplicatas.

Figura 9 – Amostras coletadas.



Fonte: O Autor (2023).

pH

Para medição do pH dos líquidos de cobertura foi empregado o método potenciométrico, utilizando um pHmetro.

Acidez titulável

A acidez foi determinada através da titulação de uma amostra de 1mL de salmoura diluída em 50 ml de água destilada, com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,01 mol L⁻¹, utilizando-se fenolftaleína como indicador. Os resultados foram expressos em porcentagem de ácido láctico conforme o método 312/IV (Determinação da acidez titulável em ácido orgânico) do Instituto Adolfo Lutz (2008), utilizando-se a Equação 3.

Equação 3 – Acidez expressa em % ácido láctico.

$$\frac{V * F * M * PM}{10 * P * n} = \text{g de ácido orgânico por cento m/m ou m/v. (3)}$$

V = volume da solução de hidróxido de sódio gasto na titulação em mL

M = molaridade da solução de hidróxido de sódio

P = massa da amostra em g ou volume pipetado em mL

PM = peso molecular do ácido correspondente em g

n = número de hidrogênios ionizáveis, no caso do ácido láctico (n = 1)

F = fator de correção da solução de hidróxido de sódio

Teor de sólidos solúveis

Para determinação do teor de sólidos solúveis, 2 gotas da amostra foram colocadas no equipamento (refratômetro de bancada) onde através do mesmo, foi fornecido os valores do teor de sólidos solúveis em °Brix.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Fermentação láctica do maxixe

As informações sobre as condições de operação da fermentação do maxixe estão apresentadas na Tabela 3.

A fermentação do maxixe foi acompanhada por 29 dias, estabelecendo inicialmente o critério de coleta com intervalo de 24h. Entretanto, com o decorrer do processo, o intervalo adotado foi de 48h, visto que os resultados apresentados não estavam sofrendo modificação de maneira significativa.

Com relação ao controle do ponto final da fermentação, este foi estabelecido quando os seguintes critérios foram atendidos:

- Controle visual: alteração da cor do maxixe, a princípio verde. Posteriormente assumindo uma coloração amarelo-esverdeado, conforme pode ser visto na Figura 10. Como também foi observado a ausência na produção de bolhas de CO₂.
- Controle físico-químico: as análises realizadas apresentaram valores correspondentes ao da literatura, sendo o pH final 3,45 e a acidez expressa em % ácido láctico de 0,75%.

Figura 10 – Maxixe antes da fermentação (a) e durante a fermentação (b).



(a)



(b)

Fonte: O Autor (2023).

Tabela 3 – Informações sobre a temperatura, massa do maxixe, local e tempo de fermentação.

T (°C)	Massa (g)	Local	Tempo (dias)
18	2000	Freezer	29

Fonte: O Autor (2023).

6.2 Análises físico-químicas

6.2.1 pH

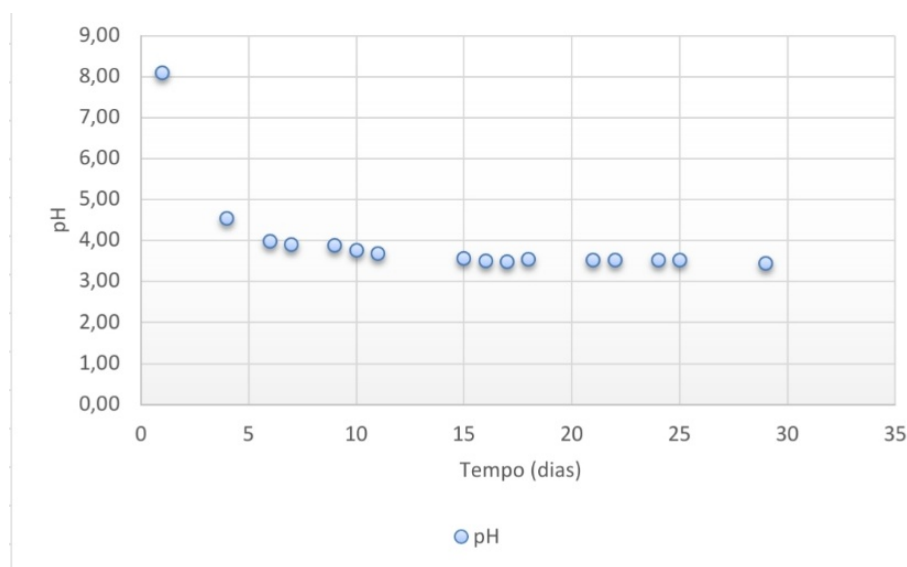
Os resultados das análises de pH durante a fermentação do maxixe estão apresentados na Tabela 4. Dessa forma, a partir desses resultados foi gerado o gráfico do pH em função do tempo de fermentação (Figura 11).

Tabela 4 – Resultados das análises de pH durante a fermentação.

Pontos	Tempo (dias)	pH
0	1	8,10
1	4	4,54
2	6	3,98
3	7	3,91
4	9	3,88
5	10	3,77
6	11	3,69
7	15	3,56
8	16	3,50
9	17	3,49
10	18	3,54
11	21	3,52
12	22	3,52
13	24	3,53
14	25	3,52
15	29	3,45

Fonte: O Autor (2023).

Figura 11 – pH em função do tempo de fermentação.



Fonte: O Autor (2023).

Observa-se que, o valor inicial do pH da salmoura foi 8,10. Este valor elevado no ponto zero pode ser explicado devido ao fato da água utilizada no experimento ser da torneira. Onde esta água apresenta uma dureza considerável, sendo a dureza um fator que interfere na variação do pH. Isto ocorre mediante do cálcio associado ao bicarbonato (HCO_3^-), ao qual se transforma em carbonato de cálcio, pouco solúvel (PÁDUA, 2001).

O comportamento do pH ao longo do tempo pode ser descrito por um rápido abaixamento nos primeiros dias da fermentação, seguido de uma estabilização, onde o pH a partir do 18º dia esteve praticamente constante, apresentando variação no último dia. Dessa forma, o valor final do pH foi de 3,45.

Os resultados alcançados em relação aos valores de pH e tempo de fermentação para a temperatura de 18 °C, que é a temperatura ideal de fermentação de vegetais, aproximam-se dos resultados obtidos por Goldoni (2001). Já no estudo realizado por Alan *et. al.*, (2019), foi monitorada a fermentação de pepinos submetida a 5% de sal. Onde nos primeiros 15 dias

de fermentação, foi observado uma rápida diminuição do valor do pH, de 6,0 para 3,3, mantendo-se estável até o final do processo, que durou 60 dias.

No estudo de Stoll *et. al.*, (2020), os pepinos foram submetidos a fermentações com concentrações de 5% e 10% de sal (p/v), utilizando tipos de sal diferente (sal iodado e não iodado), foi verificado valores médios de pH entre 3,3 e 3,4 após oito semanas de fermentação.

6.2.2 Acidez titulável

Conforme pode ser observado na Tabela 5, os valores da porcentagem de ácido láctico nos primeiros 9 dias aumentam consideravelmente. Sendo que, durante o restante do processo fermentativo é possível verificar que ocorrem oscilações nos valores da acidez. Estas variações nos valores são citadas por Goldoni (2001), realizando-se em virtude de se estabelecer o equilíbrio entre a acidez da salmoura e da hortaliça. O valor final da acidez expressa em % de ácido láctico foi de 0,75%.

Na produção de pickles a partir do pepino segundo Goldoni (2001), finda a fermentação, é produzido cerca de 0,7 a 1,0% de ácido láctico. Já no monitoramento da fermentação láctica do maxixe realizada por Lima *et al.* (2006), perante a influência de cloreto de sódio (5%, p/v), os maiores valores de acidez expressa em % ácido láctico alcançados para maxixe cortado em rodela e inteiro foram 0,49% e 0,40%, respectivamente.

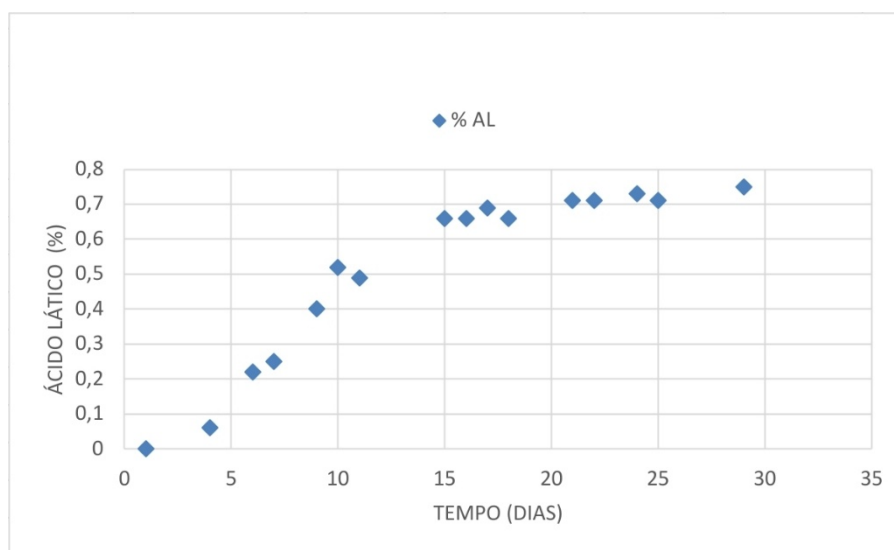
No estudo de Stoll *et. al.*, (2020), a concentração de ácido láctico aumentou continuamente ao longo do todo o período de fermentação, obtendo-se valores entre 0,64% e 0,83% de ácido láctico no final da fermentação.

Tabela 5 – Resultados das análises de acidez, expressa em ácido láctico durante a fermentação.

Pontos	Tempo (dias)	% AL
0	1	0,00
1	4	0,06
2	6	0,22
3	7	0,25
4	9	0,40
5	10	0,52
6	11	0,49
7	15	0,66
8	16	0,66
9	17	0,69
10	18	0,66
11	21	0,71
12	22	0,71
13	24	0,73
14	25	0,71
15	29	0,75

Fonte: O Autor (2023).

Figura 12 – Acidez (% de ácido láctico) em função do tempo de fermentação.



Fonte: O Autor (2023).

Na figura 12 pode-se observar o desenvolvimento da acidez em função do tempo de fermentação. Como mencionado anteriormente, durante o

processo fermentativo ocorrem variações nos valores da acidez. Segundo Goldoni (2001), se for permitido que a fermentação prossiga, a acidez diminuirá e, dessa forma, o pH aumentará.

6.2.3 Teor de sólidos solúveis

Os sólidos solúveis correspondem o total de todos os sólidos dissolvidos na água, incluindo o açúcar, proteínas, sais, ácidos, etc. Onde a leitura do valor medido é a soma total desses (LEITE, 2006).

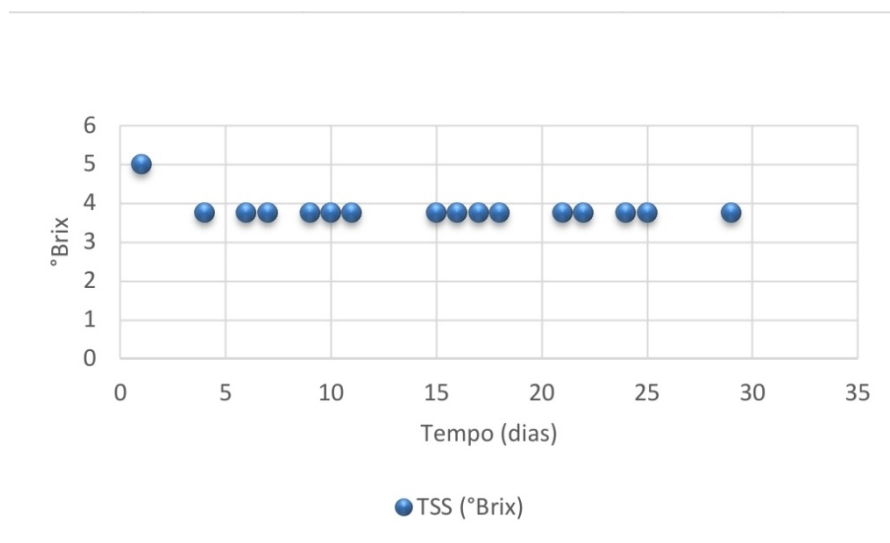
Os resultados do teor de sólidos solúveis expressos em °Brix são mostrados na tabela 6. Pode-se observar que os valores permaneceram constantes a partir do 4º dia (Figura 13), visto que não houve solubilização dos compostos. No decorrer do período de fermentação, não foram encontrados dados na literatura para comparação dos resultados obtidos.

Tabela 6 – Sólidos solúveis em função do tempo de fermentação.

TSS (°Brix)	Tempo (dias)
5	1
3,75	4
3,75	6
3,75	7
3,75	9
3,75	10
3,75	11
3,75	15
3,75	16
3,75	17
3,75	18
3,75	21
3,75	22
3,75	24
3,75	25
3,75	29

Fonte: O Autor (2023).

Figura 13 – Teor de sólidos solúveis (°Brix) em função do tempo de fermentação.



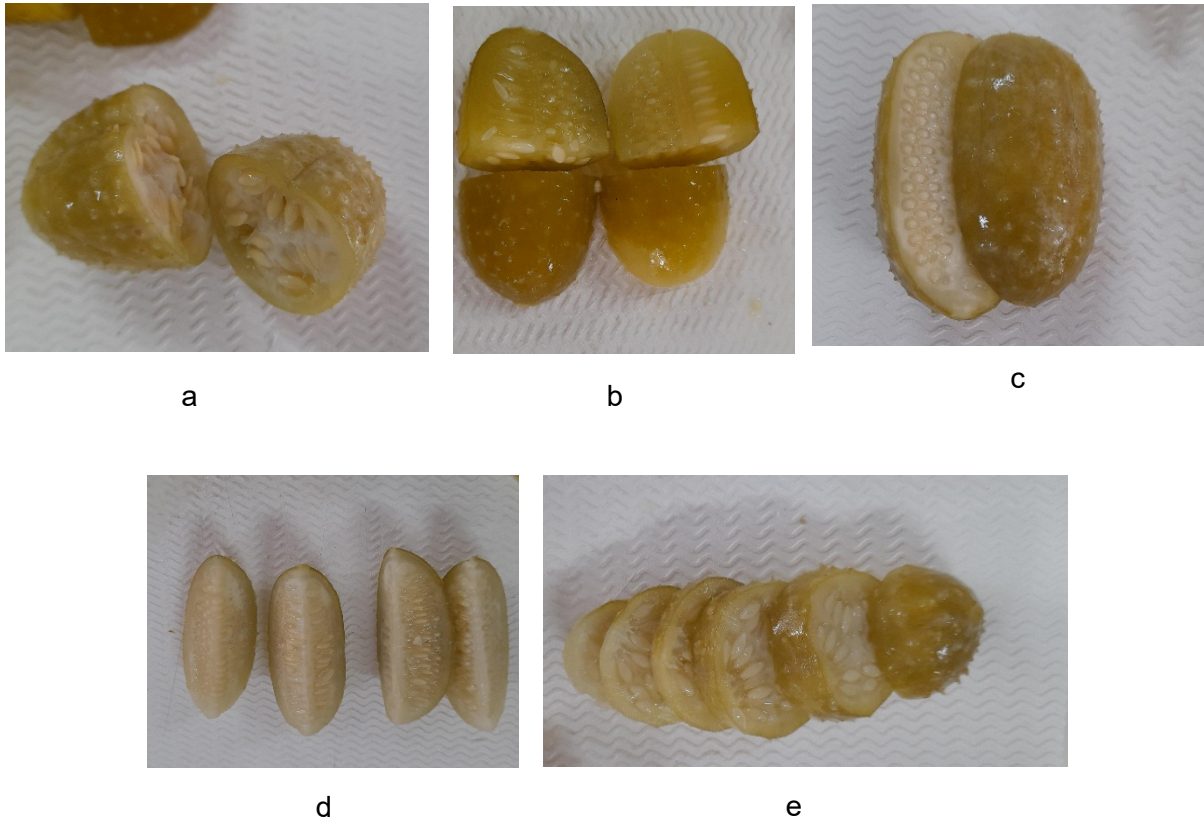
Fonte: O Autor (2023).

6.3 Picles de maxixe

Por fim, após passar pelo tratamento térmico, o picles foi cortado e provado, a fim de averiguar a aparência, aroma, sabor e textura. Como pode ser visto na Figura 14. Dessa forma, foi observado que o picles apresentou características desejáveis de um alimento fermentado, como textura firme (neste caso crocante por fora e macio por dentro), sabor ácido, aroma e aparência agradáveis.

Portanto, a elaboração do picles mostra-se como uma alternativa viável para diversas hortaliças, uma vez que a fermentação promovida pelas bactérias lácticas possibilita a conservação destas.

Figura 14 – Picles de maxixe cortados (a,b,c,d,e).



Fonte: O Autor (2023).

7. CONCLUSÕES

O maxixe se mostrou uma alternativa viável para a produção de pickles. Tanto no quesito da conservação, quanto com relação ao custo, pois seu baixo pH, aliado com a sua acidez permitem o aumento da vida útil do maxixe. Assim como, o custo despendido para elaboração do pickles é baixo, visto que a tecnologia empregada é de baixa complexidade e as matérias-primas envolvidas no processo são acessíveis.

O comportamento da fermentação do maxixe apresentou-se condizente com a literatura, obtendo-se um produto com características desejáveis de um alimento fermentado. Dessa forma, enquadrando o produto dentro dos padrões estabelecidos pela ANVISA.

Em vista disso, se produzido dentro das normas higiênico-sanitárias, o pickles de maxixe poderá ser produzido em uma escala maior, considerando o baixo custo de produção e o aumento da vida de prateleira.

REFERÊNCIAS

- ALAN, Y. **Culture fermentation of Lactobacillus in traditional pickled gherkins: microbial development, chemical, biogenic amine and metabolite analysis.** J. Food Sci. Technol. 56, 3930–3939. 2019.
- AQUARONE, E; BORZANI, W.; SCHMIDEL, W.; LIMA, U. A. **Biotecnologia industrial: Biotecnologia na produção de alimentos.** São Paulo: Edgard Blucher, p. 269-287, Volume 4. 2001.
- BATTCKOCK, M.; AZAM-ALI, S. 2001. **Fermented Foods and Vegetables.** FAO Agric. Services Bull. 134: 96.
- BAUTISTA-GALLEGO, J. et al. **Role of lactic acid bacteria in fermented vegetables.** Grasas y Aceites, v. 71, n. 2, p. 9, 2020.
- BEHERA, S. S. et al. **Traditionally fermented pickles: how the microbial diversity associated with their nutritional and health benefits?** Journal of Functional Foods, v. 70, p. 21, 2020.
- BENEVIDESS, C.M.J.; FURTUNATO, D.M.N. **Hortaliças acidificadas.** Ciênc.Tecnol.Alim.,Campinas, v. 18, n. 3, p. 271-274, 1998.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC nº 352, de 23 de dezembro de 2002. Regulamento Técnico de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Frutas e ou Hortaliças em Conserva e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/ Industrializadores de Frutas e ou Hortaliças em Conserva. **Diário Oficial da União.** Brasília, DF, 23 dez. 2002.
- CAMPBELL-PLATT, G. **Ciência e Tecnologia de Alimentos.** Barueri – SP: Editora Manole, 2015. 9788520448458. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520448458/>. Acesso em: 07 mai. 2022.
- CARELLE, A.C.; CÂNDIDO, C.C. **Tecnologia dos Alimentos - Principais Etapas da Cadeia Produtiva.** São Paulo: Editora Saraiva, 2015. 9788536521466. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788536521466/>. Acesso em: 07 mai. 2022.
- DAHAL, N.R. et al. 2005. **Traditional foods and beverages of Nepal—a review.** Food Reviews International 21: 1–25.
- DI CAGNO, R. et al. 2008. **Selection and use of autochthonous mixed starter for lactic acid fermentation of carrots, French beans or marrows.** International Journal of Food Microbiology 127: 220–228.
- DI CAGNO, R. et al. 2013. **Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation.** Food Microbiology 33: 1–10.

EMBRAPA. **A história da cenoura.** 2020. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/49845405/a-historia-da-cenoura>. Acesso em: 15 maio 2022.

FAO – FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION. **Basic principles of fermentation.** Fermented and vegetables a global perspective. Cap. 2, p. 1 – 10, 1998. Disponível em: <https://www.fao.org/3/x0560e/x0560e07.htm>. Acesso em: 29 jun. 2023.

FOODS, International Commission On Microbiological Specifications F. **Microrganismos em alimentos.** São Paulo: Editora Blucher, 2015. 9788521208587. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788521208587/>. Acesso em: 08 mai. 2022.

GARDNER, N.J. *et al.* 2001. **Selection and characterization of mixed starter cultures for lactic acid fermentation of carrot, cabbage, beet and onion vegetable mixtures.** International Journal of Food Microbiology 64: 261–275.

GOLDONI, C.L. **APERFEIÇOAMENTO DO PROCESSO DE FERMENTAÇÃO LÁTICA EM DIFERENTES HORTALIÇAS E AVALIAÇÃO DE ASPECTOS ECONÔMICOS E ENERGÉTICOS.** 2004. 113 f. Tese (MESTRADO) – Curso de Agronomia, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agrônômicas Câmpus de Botucatu, Botucatu-SP, 2004. Disponível em: repositorio.unesp.br <https://repositorio.unesp.br> > ...PDF universidade estadual paulista “julio de mesquita filho”. Acesso em: 15 jun. 2023.

GOLDONI, J. S. **Fermentação láctica de hortaliças e azeitonas.** In: AQUARONE, E., BORZANI, W., SHMIDELL, W., LIMA, U. A. Biotecnologia na produção de alimentos. Biotecnologia industrial, vol 4, Ed. Edgar Blucher, 269-303, 2001.

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

KRINSKY, N.I. 1993. **Actions of carotenoids in biological systems.** Annu Rev Nutr 13:561–587.

KROLOW, A. C. R. **Hortaliças em Conserva.** Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. 40 p.

LANA, M. M.; TAVARES, S. A. (Ed.). **50 Hortaliças: como comprar, conservar e consumir.** 2. Ed. Ver. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2010. 209 p. il. Color.

LEITE, Cavalcanti. *et al.* **Determinação dos Sólidos Solúveis Totais (OBrix) e pH em Bebidas Lácteas e Sucos de Frutas Industrializados.** Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada, vol. 6, núm. 1, janeiro-abril, 2006, pp. 57-64 Universidade Federal da Paraíba Paraíba, Brasil. Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63760110>. Acesso em: 13 jun. 2023.

LEROY, F., DE VUYST, L., 2004. **Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry.** Trends in Food Science & Technology 15, 67e78.

LIMA, A. S. *et al.* Caracterização centesimal de maxixe e sua aplicação na produção de picles. **Alim. Nutr.**, Araraquara v.17, n.4, p.407-412, out./dez, 2006.

LINDNER, J.D.D. MARTIN, J. G.P. **Microbiologia de alimentos fermentados**. [São Paulo]: Editora Blucher, 2022. E-book. ISBN 9786555061338. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9786555061338/>. Acesso em: 6 jul. 2023.

MARTIN, J. G.P. *et al.* **Microbiologia da fermentação de vegetais**. In: LINDNER, J.D.D. MARTIN, J. G.P. Microbiologia de alimentos fermentados. [São Paulo]: Editora Blucher, 2022. E-book. ISBN 9786555061338. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9786555061338/>. Acesso em: 19 jun. 2023.

MCFEETERS, R.F. 2004. **Fermentation microorganisms and flavor changes in fermented food**. Journal of Food Science 69(1): 35–37.

MODOLO, V.A.; COSTA, C.P. **Avaliação das linhagens de maxixe paulista cultivadas em canteiros com coberturas de polietileno**. Horticultura Brasileira, Brasília, v. 21, n. 3, p. 534-538, julho-setembro 2003.

MONTET, D; RAY, R. C; ZAKHIA-ROZIS, N. Lactic Acid Fermentation of Vegetables and Fruits. In: RAY, Ramesh C.; MONTET, Didier (ed.). **Microorganisms and fermentation of traditional foods**. New York: CRC Press, 2015. Cap. 4. P. 108-140. (Food Biology Series). Disponível em: https://books.google.com.br/books/about/Microorganisms_and_Fermentation_of_Tra.html?id=qJIBBAAQBAJ&redir_esc=y. Acesso em: 08 mai. 2022.

MONTGOMERY, Douglas C.. **Design and Analysis of Experiments**. 8. Ed. Nova Jersey: John Wiley & Sons, Inc, 2012.

NASCIMENTO, A. M. C. B.; NUNES, R. G. F. L.; NUNES, L. A. P. L. ELABORAÇÃO E AVALIAÇÃO QUÍMICA, BIOLÓGICA E SENSORIAL DE CONSERVA DE MAXIXE (*Cucumis anguria* L.). **Revista Acta Tecnológica**, Piauí, v. 6, n. 1, p. 124-136, jan. 2011.

NOGUEIRA, J.N. *et al.* **Efeito da acidificação, fermentação e adição de cálcio na qualidade de couve-flor (*Brassica oleraceae* L.) processada pelo calor**. Scientia Agric., Piracicaba, v.50, n.1, p.127-139, 1993.

PÁDUA, H. B. Águas com dureza e alcalinidade elevadas conceitos e comportamentos ambientais - observações iniciais na Região de Bonito/MS. Br registro de dados – 2001. Disponível em: www.aprappesq.com.br/apostila_helcias.doc. Acesso em: mai. 2023.

PLENGVIDHYA, V., BREIDT, F., FLEMING, H.P., 2004. **Use of RAPD-PCR as a method to Follow the progress of starter cultures in sauerkraut fermentation. International**. Journal of Food Microbiology 93, 287 e 296.

RAO, M.S *et al.* 2004. **Kinetic growth parameters of different amylolytic and non-amylolytic Lactobacillus strains under various salt and pH conditions**. Bioresource Technology 94(3): 331–337.

RAUPP, D.S. *et al.* **Minimilho em conserva: avaliação de híbridos** – Acta Amazonica, vol. 38(3) 2008: 509 – 516.

ROSS, R.P. *et al.* 2002. **Preservation and fermentation: past, present and future.** International Journal of Food Microbiology 79(1-2): 3–16.

SANTOS, D.L.; CARDOSO, V.J.M. **Thermal-biological aspects on the seed germination of *Cucumis anguria* L.: influence of the seed coat.** Ver.Bras.Botânica, São Paulo, v. 24, n. 4, p. 435-440, 2001.

SILVA, Neusely; JUNQUEIRA, Valéria C A.; SILVEIRA, Neliane F. de A.; *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água.** São Paulo: Editora Blucher, 2017. 9788521212263. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788521212263/>. Acesso em: 27 mai. 2022.

STEINKRAUS, K.H. 2002. **Fermentations in world food processing.** Comprehensive Review in Food Science and Food Safety 1: 23–32.

STOLL, D. A. *et al.* **Influence of salt concentration and iodized table salt on the microbiota of fermented cucumbers.** Food Microbiology, v. 92, 2020.

TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS / **NEPA – UNICAMP**.- 4. Ed. Rev. e ampl.. – Campinas: NEPA- UNICAMP, 2011. 161 p.

VASCONCELOS, M. A. S.; MELO FILHO, A. S. **Conservação de alimentos.** Recife: EDUFRPE, 2010.

VASCONCELOS, N. M.; PINTO, G. A. S.; ARAGÃO, F. A. S. de. Determinação de Açúcares Redutores pelo Ácido 3,5-Dinitrosalicílico: Histórico do Desenvolvimento Do Método e Estabelecimento de um Protocolo para o Laboratório de Bioprocessos. **Embrapa Agroindústria de Alimentos**, Fortaleza, 2013. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/103342/1/BPD13017.pdf>. Acesso em 14 jun. 2022.

VIEIRA, J. V. *et al.* **A cultura da cenoura.** Brasília: EMBRAPA-SCT, 1999. 80 p.

ZAPASNIK, A.; SOKOLOWSKA, B.; BRYLA, M. **Role of Lactic Acid Bacteria in Food Preservation and Safety.** Foods 2022, 11, 1283. <https://doi.org/10.3390/foods11091283>.

ZHENG, J. *et al.* **A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*.** International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v. 70, p. 2782-2858, 2020.