

Pagal priemonės Nr. 01.2.1-MITA-T-852 „Inostartas“
finansavimo sąlygų aprašą Nr. 01.2.1-MITA-T-852-03 finansuoto projekto

Nr. 01.2.1-MITA-T-852-01-0167 MB Kvasas investicijos į MTEP

**Probiotinėmis pieno rūgšties bakterijomis (PRB) fermentuoto imbierinio gėrimo
gamybos technologijos kūrimas**

ATASKAITA

Projekto vadovė Ieva Sabaliauskienė

Vilnius 2022

TURINYS

1. DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI.....	3
2. TYRIMŲ METODAI.....	4
3. PROBIOTINIO IMBIERINIO GĖRIMO KONCEPCIJOS KŪRIMAS: MOKSLINĖS LITERATŪROS ANALIZĖ.....	5
4. TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS.....	8
4.1. Pagrindinių parametų probiotinio imbierinio gėrimo gamybai nustatymas.....	8
4.2. Pirmino probiotinio imbierinio gėrimo maketo kūrimas.....	15
4.3. Probiotinio imbierinio gėrimo maketo įvertinimas, imituojant realias gamybos ir laikymo sąlygas.....	17
4.4. Probiotinio imbierinio gėrimo prototipo kūrimas.....	21
5. IŠVADOS.....	25
LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	26

1. DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI

Projekto tikslas buvo sukurti probiotinėmis pieno rūgšties bakterijos (PRB) fermentuoto imbierinio gėrimo bandomąjį prototipą. Projekto idėja grindžiama originaliomis idėjomis ir projektas planuojamas sistemingai po ilgų diskusijų su mokslininkais. Sukurtas produktas turi aiškų komercializavimo aspektą ir bus komercializuojamas tiek Lietuvoje, tiek už jos ribų.

Darbe spręsti uždaviniai:

1. Probiotinio imbierinio gėrimo koncepcijos kūrimas:

- atlikus mokslinės literatūros analizę, parinkti fermentuoto imbierinio gėrimo gamybai tinkamas probiotines bakterijas ir prebiotines medžiagas, skatinančias jų dauginimąsi;
- nustatyti bakterijų skaičiaus priklausomybę nuo imbiero terpės su įvairiais prebiotiniais priedais.

2. Pagrindinių parametų probiotinio imbierinio gėrimo gamybai nustatymas:

- parinkti pagrindinius technologinius parametrus (fermentacijos terpės pH, temperatūrą, trukmę);

3. Pirmino probiotinio imbierinio gėrimo maketo kūrimas:

- parinkti technologinius gamybos parametrus, įvertinant jų įtaką probiotinių bakterijų gyvybingumui, jusliniams ir fizikiniams cheminiams gėrimo rodikliams;
- parinkti gėrimo sudedamųjų dalių kiekybinę sudėtį, įvertinant jų įtaką probiotinių bakterijų gyvybingumui, jusliniams ir fizikiniams cheminiams gėrimo rodikliams.

4. Probiotinio imbierinio gėrimo maketo įvertinimas, imituojuant realias gamybos ir laikymo sąlygas:

- atlikti 1 L bandomosios versijos prototipinio imbierinio gėrimo gamybą, nustatant laikymo sąlygas ir tinkamumo vartoti trukmę.

5. Probiotinio imbierinio gėrimo prototipo kūrimas:

- atlikti 10 L bandomosios versijos prototipinio imbierinio gėrimo gamybą;
- pateikti detalų probiotinio imbierinio gėrimo ir jo gamybos technologijos bei laikymo sąlygų ir trukmės aprašymą.

2. TYRIMŲ METODAI

Imbieriniai gėrimai buvo vertinami pagal technologines savybes: pH, titruojamąjį rūgštingumą, etilo alkoholio ir tikrojo ekstrakto kiekius, mikroorganizmų kiekio pokyčius fermentacijos ir laikymo metu bei juslinius rodiklius.

Aktyviojo rūgštingumo rodiklis įvertintas pagal pH-metro parodymus iš pradžių kas parą, vėliau kas keletą dienų.

Titruojamasis rūgštingumas nustatytas titruojant 0,1 N NaOH tirpalu ir naudojant raudonojo fenolftaleino indikatorius, kuris buvo ruošiamas į 20 ml distiliuoto vandens pridedant 10 lašų 1 % alkoholio fenolftaleino ir 3-4 lašus 0,1 N NaOH. 20 ml imbierinės giros buvo titruojama 0,1 N NaOH tirpalu, kol sumaišius 2 gėrimo lašus ant baltos keramikinės lentelės su 2 lašais raudonojo fenolftaleino indikatoriaus, rausva spalva nebepranyko. Rūgštingumas išreikštas 1 N NaOH ml skaičiumi, reikalingu neutralizuoti 100 ml gėrime esančioms rūgštims (Yüksel, 2020). Tyrimas atliktas kas keletą parų fermentacijos ir laikymo metu.

Etilo alkoholio ir tikrojo ekstrakto kiekiai nustatyti distiliacijos būdu. Distiliuota 200 ml gėrimo, į priėmimo kolbą įpylus 20 ml distiliuoto vandens. Nudistiliavus 2/3-3/4 gėrimo, kaitinimas išjungiamas – distiliatas perpilamas į 200 ml matavimo kolbą, praskiedžiamas iki žymės distiliuotu vandeniu ir piknometru kambario temperatūroje nustatomas jo santykinis tankis pagal vandenį. Po distiliacijos likęs kolboje likutis ataušinamas, pernešamas į 200 ml matavimo kolbą ir praskiedžiamas iki žymės. Piknometru nustatomas likučio santykinis tankis. Pagal distiliato santykinį tankį t_1 randamas etilo alkoholio kiekis gėrime masės %, o pagal gėrimo likučio tankį t_2 – tikrojo ekstrakto kiekis masės %. Analizė atlikta 2 kartus: po fermentacijos (5 eksperimento parą) ir laikymo metu – išlaikius gėrimus 5 °C temperatūroje 17 parų (22 eksperimento parą) (Abdoul-Latif, 2013).

Santykinis tankis apskaičiuotas pagal formulę:

$$t_1 \text{ arba } t_2 = \frac{p_1 - p}{p_2 - p}$$

čia: p_1 – piknometro masė su tiriamuoju mėginiu (distiliatu arba gėrimo likučiu), g; p_2 – piknometro masė su distiliuotu 20 °C temperatūros vandeniu, g; p – tuščio piknometro masė, g.

Mikroorganizmų skaičius nustatytas fermentacijos ir laikymo metu, sėjant mėginius į atitinkamas agarų terpes. Mielių ir pieno rūgšties bakterijų skaičius nustatytas suskaičiavus kolonijas sudarančių vienetų (KSV) skaičių. Mielių skaičiui nustatyti naudota DRBC agarų terpė (Liofilchem s.r.l., Italija, REF 610237), o pieno rūgšties bakterijų skaičiui – MRS agarų terpė (Biolife, Italija, REF 4017282). Tyrimams naudotos terpės buvo ruošiamos laikantis gamintojo nurodymų. Tiek mielės, tiek pieno rūgšties bakterijos buvo auginamos 30 °C temperatūros termostate 48 val. (ISO, 1998). Bendram mikroorganizmų skaičiui nustatyti naudota PCA (angl. *Plate Count*) agarų terpė (Liofilchem s.r.l., Italija, REF 610040), mėginiai laikyti 37 °C temperatūros termostate 48 val., po to suskaičiuotas mikroorganizmų KSV skaičius. Sėjimai atlikti iš viso 6 kartus fermentavimo bei laikymo laikotarpiu.

Juslinės analizės metu vertintas gėrimų kvapo, bendro skonio, aštrumo, rūgštumo priimtumas ir bendras priimtumas vartotojams. Priimtumo vertinimui naudota 7 kategorijų mėgstamumo skalė (nuo 1 – labai nepatinka iki 7 – labai patinka). Gėrimų juslinėje analizėje dalyvavo 18-20 vertintojų. Jusliniam vertinimui gėrimai buvo supilstyti į triženkliais skaičiais koduotas stiklinėles po 30 ml, gėrimų temperatūra – 20 °C.

3. PROBIOTINIO IMBIERINIO GĖRIMO KONCEPCIJOS KŪRIMAS: MOKSLINĖS LITERATŪROS ANALIZĖ

Daugelyje pasaulio šalių tradiciniai fermentuoti gaminiai yra populiarūs tarp vartotojų kaip produktai turintys aukštesnę maistinę vertę. Fermentacija – nuo seno žinomas efektyvus ir pigus maisto žaliavų apdorojimo būdas, kurio metu maisto produktai ne tik tampa mikrobiologiškai saugūs, bet ir yra praturtinami įvairiais biologiškai aktyviais bei gaminių kvapą ir skonį formuojančiais junginiais. Pastaruoju metu tarptautinėje praktikoje atliekama vis daugiau tokių maisto produktų tyrimų, tobulinant jų technologijas, gerinant funkcines savybes (antimikrobines, probiotines, prebiotines ir kt.) ir didinant mitybinę vertę. Atkreiptas dėmesys į maisto gaminius ir gėrimus iš skaidulinėmis medžiagomis turtingų žaliavų, kurie dažnai vadinami prebiotiniais dėl savo savybės stimuliuoti gerųjų žmogaus žarnyno bakterijų augimą, taip gerinant žmogaus sveikatą.

Fermentacija gali būti vykdoma naudojant mišrias mikroorganizmų kultūras, kurios auga vienu metu arba paeiliui, todėl gaunami produktai, pasižymintys skirtinga skonių, aromatų ir tekstūrų įvairove, priklausomai nuo naudotų žaliavų. Fermentuoti maisto produktai skirstomi pagal fermentacijai naudotus mikroorganizmus, maisto produktų grupę, žaliavas naudotas fermentacijai, gamybos būdą, geografinę vietą ir bendruomenes, kurios gamina ir vartoja šiuos maisto produktus (Shankar ir Usha, 2021). Pastaraisiais metais susidomėjimas fermentuotais produktais išaugo dėl daugelio įrodymų apie fermentacijos teigiamą įtaką produktų juslinėms, maistinėms ir, ypač, sveikatą stiprinančioms savybėms (Leech, 2020). Fermentuoti maisto produktai ypač populiarūs Vakarų šalių vartotojų tarpe dėl jų teigiamo poveikio mikrobiotai (Nutakor ir kt., 2020). Fermentuotų alkoholinių ir mažai alkoholio turinčių gėrimų rinka pastaraisiais metais smarkiai augo ir prognozuojama, kad ateityje ji taip pat augs (Bellut, 2019).

Išskiriamos kelios fermentacijos rūšys – mielėmis, bakterijomis ar savaiminiu būdu fermentuoti produktai. Savaiminio rūgimo metu panaudojama natūrali žaliavos mikrobiota, tačiau toks fermentacijos procesas yra sunkiai kontroliuojamas dėl pačių mikroorganizmų įvairovės ir itin nepastovaus jų kiekio žaliavoje. Fermentuojant mielėmis, produkte susidaro etilo alkoholis, kuris ne visada yra pageidaujamas, ypač kai siekiama pagaminti nealkoholinį ar mažai alkoholio turintį gėrimą. Probiotinių kultūrų parinkimas nealkoholinių gėrimų fermentacijai yra ypač svarbus, siekiant sukurti stabilų ir pageidaujamomis savybėmis pasižymintį produktą (Altay ir kt., 2013). Probiotikai – tai gyvybiniai mikroorganizmai, kurių pakankamas kiekis pagerina žmogaus sveikatą, žarnyno mikrobiologinę pusiausvyrą (Rahayu, 2018) bei organizmo imunines funkcijas (Peres, 2012). Svarbiausia probiotikų nauda sveikatai yra cholesterolio kiekio mažinimas, maistinės vertės, kalcio absorbcijos, baltymų ir vitaminų sintezės, laktozės virškinimo gerinimas, įvairių rūšių vėžio, pavyzdžiui, storosios žarnos, prevencija, patogeninių mikrobu augimo ir aktyvumo prevencija (Rusmarilin, 2018). Fermentacijai panaudojant probiotines bakterijas yra padidinama maisto produktų vertė, todėl tokius produktus galima priskirti prie funkcionalių. Paprastai gėrimai fermentuojami pieno rūgšties bakterijomis, ypač su *Streptococcus* spp. ir *Lactobacillus* spp. Šios bakterijos yra ganėtinai atsparios ir gali prisitaikyti nepalankioje aplinkoje (Nissen ir kt., 2020). Be to, jos plačiai paplitusios gamtoje ir fermentuojant išskiria įvairūs metabolizmo produktai, tokie kaip organinės rūgštys, aromatiniai junginiai ir naudingos sveikatai medžiagos (Thakur ir kt., 2017). Vis didesnę populiarumą įgauna fermentuotos arbatos gėrimas *Kombucha*, kuris pasižymi

hipocholesteroleminiu poveikiu (Alaei ir kt., 2020), antidiabetinėmis savybėmis (Gamboa-Gómez ir kt., 2017) bei priešūždegiminiu poveikiu, mažinančiu autoimuninio encefalomielite dažnį bei pačios ligos sunkumą, atitolinančiu ligos pradžią ir žymiai sumažinančiu demielinizacijos greitį (Marzban ir kt., 2015). *Kombucha* fermentacijoje naudojama plūduriuojanti celiuliozės bioplėvelė (SCOBY) kurią sudaro pieno rūgšties bakterijos (*Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., *Oenococcus oeni* ir kt.), acto rūgšties bakterijos (*Komagataeibacter* spp., *Acetobacter* spp., *Gluconobacter* spp., *Gluconobacter* ir kt.) ir mielės (*Zygosaccharomyces* spp., *Saccharomyces* spp., *Schizosaccharomyces* spp., *Brettanomyces* spp., *Candida* spp., *Pichia* spp., *Torulasporea* spp., etc) ir kt.) (Diez-Ozaeta ir Astiazaran, 2022).

Įprastas pavadinimas „imbieras“ reiškia kulinarinį ir vaistinį augalą *Zingiber officinale* Roscoe (*Zingiberaceae*), kuris yra gerai žinomas ir plačiai naudojamas visame pasaulyje (Habtemariam, 2019). Nuo senų laikų imbieras buvo naudojamas kaip vaistinis preparatas, maisto produktų sudedamoji dalis – prieskonis, papildas ir kvapioji medžiaga. Imbieras pasižymi ne tik aštriu ir aitriu skoniu, išskirtiniu aromatu, bet ir bioaktyviomis medžiagomis, kurioms būdingos antimikrobinės bei antioksidacinės savybės (Kiyama, 2020). Nuo seno imbieras naudojamas gydyti širdies ligas, virškinimo sutrikimus, peršalimą, įvairias gerklės infekcijas (Banerjee, 2011), pykinimo simptomus, kaip priešūždegiminis ar skausmą malšinantis vaistas, be to, jis turi šildomąjį poveikį ir gali sumažinti cholesterolio kiekį (Moghaddasi ir Kashani, 2012), skatina tulžies išsiskyrimą iš tulžies pūslės (Kato, 1994). Yra nustatyta, kad imbiero šakniastiebyje (dar vadinamame šaknimi) yra eterinių aliejų, fenolinių junginių, flavonoidų, angliavandenių, baltymų, saponinų, steroidų, terpenoidų (Bakr, 2020). Imbiero šakniastiebyje esantys fenoliniai junginiai gingeroliai bei šagaoliai pasižymi biologiniu aktyvumu: jie turi antioksidacinių, priešvėžinių ir priešūždegiminių savybių (Bakr, 2020; Alam, 2018; Ghafoor, 2020). Taip pat gingeroliai padidina virškinamojo trakto judrumą ir pasižymi nuskausminamosiomis, raminaisomis ir antibakterinėmis savybėmis. Be to, jame yra daug riebalų, vaškų, angliavandenių, vitaminų ir mineralų. Imbiero šakniastiebyje taip pat yra randama aktyvių proteolitinių fermentų (Shukla ir Singh, 2007). Šiuolaikinėje maisto pramonėje imbieras plačiai taikomas tiek konditerijos gaminių, tiek gėrimų gamyboje.

Ciberžolė (*Curcuma longa* L.) naudojama maisto pramonėje, norint suteikti skonio ir spalvos, o tradicinėje Indijos ir Kinijos medicinoje – žaizdų, odos bei akių pažeidimų gydymui. Kliniškai įrodyta, jog ciberžolė pasižymi antiūždegiminiu, priešvėžiniu ir antimikrobinu poveikiu. Ciberžolėje yra apie 50 skirtingų diarilpentanoidų ir diarilheptanoidų, kitaip žinomų kaip kurkuminoidai, iš kurių labiausiai išnagrinėtas yra kurkuminas. Ar-turmeronas pasižymi priešgrybeliniu poveikiu *Candida albicans* mieliniam grybeliui. Ciberžolė antimikrobinės savybės labiausiai efektyvios prieš įvairias chronines ligas – diabetą, vėžį, neurologines ar autoimunines ligas (Ren ir kt., 2021).

Pelynas (*Artemisia absinthium* L. (*Asteraceae*)) yra gerai žinomas medicininis, aromatinis, valgomasis ir insekticidinis augalas. Medicinoje pelynas nuo seno naudojamas atkurti susilpnėjusią psichinę funkciją. Maisto pramonėje jis naudojamas alkoholinių gėrimų gamyboje, taip pat kaip skonio pagrindas daugeliui spirituotų gėrimų ir vynų, maisto produktams jis suteikia kartumo skonį, tačiau gali būti naudojamas ir kaip konservantas. Pelyno lapai ir stiebai pasižymi vabzdžius atbaidančiu ir insekticidiniu poveikiu nuo uodų, musių ir erkių. Pelyno ekstraktas pasižymi nematocidiniu poveikiu prieš *M. javanica*, o priešgrybeliniu poveikiu prieš įvairias agrikultūrinių grybų rūšis, pvz. *Plasmopara viticola* (Preedy, 2016). Pelynai pasižymi antibakteriniu, priešgrybeliniu bei narkotiniu poveikiu. Pelynuose randamas artemisininas yra seskviterpeno

endoperoksido laktonas kuris gali būti naudojamas kaip vaistas tradicinėje medicinoje karščiavimo mažinimui, hemorojaus ir furunkulų gydymui ar utėlių naikinimui. Artemisinino dariniai plačiai naudojami gydant maliarinę ligą, kurią sukelia maliarinis parazitas *Plasmodium falciparum*. Dariniai, tokie kaip dihidroartemizininas, artesunatas, artemeteris ir arteeteris, be antimaliarinių savybių dar pasižymi priešvėžinėmis, antiparazitinėmis ir antivirusinėmis savybėmis (Pradhan ir kt., 2022). Šiuolaikiniai farmakologiniai tyrimai parodė, kad *A. scoparia* pasižymi priešnavikinėmis, antibakterinėmis, antivirusinėmis, priešuždegiminėmis, antioksidacinėmis, analgezinėmis ir kepenis apsaugančiomis savybėmis. Fitocheminiai tyrimai atskleidė, kad *A. scoparia* sudėtyje esantys flavonoidai ir kumarinai yra biologiškai aktyvūs (Ding ir kt., 2021).

4. TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

4.1. Pagrindinių parametrų probiotinio imbierinio gėrimo gamybai nustatymas

Tradiciškai fermentuotas imbierinis gėrimas yra gaminamas trimis etapais:

1. Pirminio rūgimo gėrimas (pirminis raugas)
2. Antrinė fermentacija
3. Tretinė fermentacija, pridodant papildomų ingredientų, kurie suteikia gėrimui pageidaujamą skonį (Mueller, 2014).

Gaminant imbierinį gėrimą laboratorinėmis sąlygomis, remiantis atlikta literatūros analize buvo sudaryta gėrimo receptūra (1 lentelė):

- 50 g smulkinto imbiero šakniastiebio (termiškai neapdoroto arba pasterizuoto);
- 5 g citrinų sulčių;
- 33 g cukraus („Nordic Sugar“ Kėdainiai);
- 3 g šviežių mielių *Saccharomyces cerevisiae* („Lallemand Baltic“) arba
- 0,4 g sauso probiotinių bakterijų mišinio: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium longum*, *Streptococcus thermophilus*, kad probiotinių bakterijų būtų apie 1-2 milijardus kolonijų sudarančių vienetų (KSV);
- 1 l vandens.

1 lentelė. Imbierinių gėrimų receptūros

Žaliava	Žaliavos kiekis, g					
	1 (P+S)	2 (P+M)	3 (P+PB)	4 (N+S)	5 (N+M)	6 (N+PB)
Nepasterizuotas imbieras				50	50	50
Pasterizuotas imbieras	50	50	50			
Citrinos sultys	5	5	5	5	5	5
Cukrus	33	33	33	33	33	33
Mielės		3			3	
Probiotinės bakterijos			0,4			0,4
Vanduo	1000	1000	1000	1000	1000	1000

Gėrimo gamybai imbiero šakniastiebiai pirmiausiai buvo nuskusti ir susmulkinti (sutarkuoti smulkia tarka). Dalis imbiero buvo pasverta atskirai kiekvienam mėginiui ir tada pasterizuotas autoklave 70 °C temperatūroje 20 min. Į paruoštą tarą aseptinėmis sąlygomis pilamas sterilizuotas vanduo, dedamas smulkintas imbieras (neapdorotas (N) arba pasterizuotas (P)), cukrus, citrinos sultys ir mielės (M) arba probiotinės bakterijos (PB). Gaminant savaiminio rūgimo (S) imbierinį gėrimą buvo naudotas neapdorotas imbieras ir nenaudota nei mielių, nei probiotinių bakterijų. Buteliai užsukami

ir supurtomi, kol cukrus ištirpsta. Pagaminti gėrimai buvo fermentuoti 30 °C temperatūros termostate 5 paras, laikas nuo laiko supurtant. Po 5 parų fermentacijos gėrimai laikyti šaldytuve 5 °C temperatūroje 37 paras iki eksperimento pabaigos.

Mikroorganizmų skaičiaus pokyčių imbierinių gėrimų fermentacijos ir laikymo metu tyrimo rezultatai pateikti 2 lentelėje.

2 lentelė. Mikroorganizmų skaičius, išreikštas KSV lg/ml, gėrimuose fermentacijos ir laikymo metu

Mėginys	Terpė	Laikas nuo gėrimo paruošimo, paras					
		0	2	5	12	22	42
P+S (Nr. 1)	DRBC	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	MRS	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	PCA	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
P+M (Nr. 2)	DRBC	7,2	7,1	6,4	6,3	6,6	6,8
	PCA	7,4	7,1	6,4	6,1	6,7	6,9
P+PB (Nr. 3)	MRS	0,0	1,9	5,7	6,7	6,2	5,8
	PCA	-	nesusk.*	6,7	6,7	6,6	5,9
N+S (Nr. 4)	DRBC	-	3,2	4,0	5,0	5,6	6,4
	MRS	-	4,1	4,6	4,9	5,6	6,3
	PCA	2,6	4,3	4,3	5,0	5,6	6,3
N+M (Nr. 5)	DRBC	6,9	7,1	6,3	nesusk.^	6,5	6,6
	MRS	-	4,1	5,0	5,9	6,1	6,6
	PCA	6,4	7,0	6,2	nesusk.^	6,6	6,7
N+PB (Nr. 6)	DRBC	-	0,0	5,4	5,9	6,5	6,6
	MRS	0,0	3,5	5,5	6,8	6,1	6,5
	PCA	-	4,4	-	6,8	6,0	6,5

* – daugiau nei 10³; ^ – daugiau nei 10⁵

Savaiminės fermentacijos pasterizuoto imbiero gėrime (P+S) neaptikta jokios mikroorganizmų veiklos nei fermentacijos, nei laikymo metu visose tirtose terpėse – DRBC, MRS, PCA. Priešingai, savaiminės fermentacijos termiškai neapdoroto imbiero gėrime (N+S) jau pagaminimo parą nustatyta, kad produkte yra mikroorganizmų: nustatytas bendras bakterijų skaičius 4.0x10² KSV/ml, tačiau pieno rūgšties bakterijų ir mielių buvo žemiau aptikimo ribos. Galima teigti, kad natūralus imbieras turi savitą mikroflorą, tačiau šių mikroorganizmų nėra daug, o apdorojus imbierą 70 °C temperatūroje, ši mikroflora yra sunaikinama. Siekiant išsiaiškinti šios mikrofloros sudėtį, po kelių parų buvo sėjama ne tik į bendro mikroorganizmų nustatymo terpę, bet ir mielių bei PRB nustatymo

terpes. Po 2 parų fermentacijos mielių išaugo iki 3,2 KSV lg/ml, PRB – 4,1 KSV lg/ml, o bendras mikroorganizmų kiekis PCA terpėje – 4,3 KSV lg/ml. Įvairių mikroorganizmų buvimą imbieriniame gėrime patvirtina Osuntogun tyrimo metu imbieriniame gėrime nustatytos kelios PRB rūšys (*Lactobacillus* ir *Leuconostoc*) kartu su *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Candida* ir *Saccharomyces* (Osuntogun ir Aboaba, 2004). Kad imbieriniame gėrime randama PRB patvirtino ir Janes su bendraautorais atliktas tyrimas (Janes ir kt., 1999). Rohini (2018) iš imbiero šakniastiebių išskyrė 96 endofitines bakterijas, kurios gali prasiskverbti į vidines augalo dalis, įsitvirtinti ir išgyventi kaip antrasis augalo genomai. Lyginant bendro mikroorganizmų kiekio pokyčius nuo gėrimo paruošimo iki kelių parų fermentavimo, jų padaugėjo 1,7 karto. Fermentacijos pabaigoje (5 parą) mielių kiekis siekė 4 KSV lg/ml, bakterijų – 4,6 KSV lg/ml. Išlaikius 7 paras 5 °C temperatūroje, bendras mikroorganizmų skaičius išaugo iki 5 KSV lg/ml, mielių ir PRB skaičius taip pat nežymiai padidėjo. Toliau laikant gėrimą 5 °C temperatūroje, mielių, pieno rūgšties bakterijų ir bendro mikroorganizmų skaičiaus reikšmės vis didėjo. Apibendrinant šio tyrimo rezultatus, galima sakyti, kad savaiminės fermentacijos termiškai neapdoroto imbiero gėrime pastebimas tendencingas mikroorganizmų kiekio didėjimas viso eksperimento metu. Tai galėjo lemti nedidelis pradinis mikrobiotos kiekis, kuriam gėrime esančio cukraus užteko vystytis fermentacijos ir laikymo metu.

Analizuojant mikroorganizmų kiekio kitimą mielėmis fermentuotame pasterizuoto imbiero gėrime (P+M), galima teigti, kad šio gėrimo mikroflorą sudarė tik pridėtinės mielės. Tik paruošus gėrimą mielių jame nustatyta 7,2 KSV lg/ml, po 2 parų laikymo 30 °C jų kiekis išliko stabilus, tačiau 5 fermentacijos parą matomas jų kiekio sumažėjimas (6,4 KSV lg/ml). Toks mielių kiekis išliko ir visą laikymo 5 °C temperatūroje periodą. Tokius pokyčius galima paaiškinti cukraus kiekio sumažėjimu, kurį mielės suvartojo kaip maisto medžiagas savo metabolizmo procesuose. Kadangi tyrimo metu jo kiekis nebuvo papildomas, todėl mažėjant maistinėms medžiagoms, mažėjo ir pačių mikroorganizmų kiekis. Vis dėlto galima matyti, kad po 22 bei 42 eksperimento parų jų kiekis nežymiai, bet tendencingai padaugėjo lyginant su fermentacijos pabaigos rodikliais. Tai galėjo lemti mielių prisitaikymas laikui bėgant prie sumažėjusios aplinkos temperatūros ir pakitusios terpės sudėties laikymo laikotarpiu.

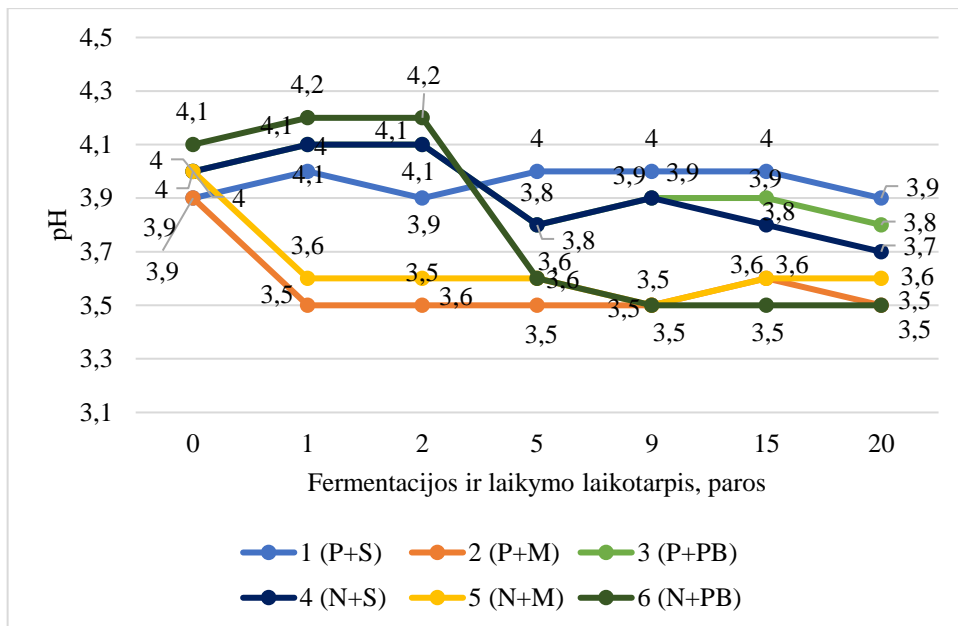
Paruoštame fermentacijai mielėmis termiškai neapdoroto imbiero gėrime (N+M) nustatytas mielių kiekis yra 6,9 KSV lg/ml ir jis panašus į nustatytą mielėmis fermentuoto pasterizuoto imbiero gėrime, tačiau bendras mikroorganizmų kiekis buvo mažesnis: N+M gėrime suskaičiuota 6,4 KSV lg/ml, o P+M – 7,4 KSV lg/ml. Tokiam skirtumui įtakos galėjo turėti natūralaus imbiero mikroflora, kurios sudėtyje yra PRB, tai parodė ir N+S gėrimo tyrimo rezultatai. Po dviejų parų PRB skaičius buvo toks pat kaip N+S gėrime, o mielių skaičius (7,1 KSV lg/ml) atitiko N+M gėrime, taip pat fermentuotame mielėmis, nustatytą jų kiekį. Tolesnės fermentacijos metu (5 tyrimo parą) tiek pasterizuoto, tiek ir natūralaus imbiero gėrimuose, fermentuotuose mielėmis, mielių skaičius sumažėjo. N+M gėrime bendras mikroorganizmų skaičius sumažėjo iki 6,2 KSV lg/ml, tačiau MRS terpėje PRB kiekis išaugo iki 5 KSV lg/ml. PRB skaičius N+M gėrimo laikymo metu nuolat didėjo, tačiau šios receptūros gėrime jų nustatyta daugiau nei N+S gėrime. Mielių ir bendro mikroorganizmų kiekiai viso laikymo metu išliko panašūs kaip fermentavimo proceso pabaigoje. Galima teigti, kad sumažėjusi temperatūra slopino mikroorganizmų augimą ir jų metabolizmą.

Prieš fermentaciją natūralaus imbiero su probiotinėmis bakterijomis gėrime (N+PB) PRB nebuvo nustatyta, tačiau jau po dviejų parų fermentacijos jų kiekis siekė 3,5 KSV lg/ml, o bendras mikroorganizmų skaičius – 4,4 KSV lg/ml. Šiame gėrime mielės nustatytos tik išlaikius gėrimą 5

paras ir jų buvo 5,4 KSV lg/ml, panašiai kaip ir PRB – 5,5 KSV lg/ml. N+PB gėrimo laikymo metu (12 parą) mielių skaičiaus padidėjimas buvo nežymus, o PRB kiekis išaugo iki 6,8 KSV lg/ml, toks pat mikroorganizmų kiekis nustatytas ir PCA terpėje. Išlaikius dar 10 parų žemoje temperatūroje, mielių skaičius padidėjo iki 6,5 KSV lg/ml. Laikymo pabaigoje tiek PRB, tiek mielių kiekis tiriamajame gėrime buvo panašūs. Lyginant visų nepasterizuoto imbiero gėrimų tyrimo rezultatus, akivaizdu, kad PRB tyrimo pradžioje daugiau aptikta N+S gėrime, tačiau nuo 5 paros matomas ryškus jų kiekio padidėjimas N+PB gėrime. Tai reiškia, kad padidėjo pridėtinųjų probiotinių bakterijų metabolinė veikla. Tuo tarpu mielės N+PB gėrime tyrimo pradžioje neaptiktos, o 5 parą matomas ryškus jų kiekio padidėjimas priešingai nei N+S gėrime, kur mielių kiekis pastoviai tendencingai didėja viso eksperimento metu. N+PB gėrime pakitus mielių skaičiui, jų kiekis buvo didesnis nei N+S gėrime.

Pasterizuoto imbiero su PB gėrime (P+PB), paruoštame fermentacijai, nenustatyta PRB. Vis dėlto jau po 2 parų fermentacijos jų kiekis padidėjo iki 1,9 KSV lg/ml, tačiau lyginant su N+PB gėrimu, PRB nustatyta mažiau. Didesnis PRB kiekis N+PB gėrime yra dėl natūralioje imbiero mikrofloroje esančių PRB. P+PB gėrimo fermentacijos pabaigoje (5 parą) MRS terpėje bakterijų išaugo 5,7 KSV lg/ml, o PCA mikroorganizmų net 6,7 KSV lg/ml. Toks skirtumas leidžia spręsti, kad šiame gėrime gali būti bifidobakterijų, tačiau laikymo metu MRS ir PCA terpių rezultatai tampa labiau identiški. Lyginant N+PB ir P+PB gėrimus, akivaizdu, kad laikymo metu šių gėrimų PRB pokyčiai buvo labai panašūs, tačiau 42 parą P+PB gėrime, kitaip nei N+PB gėrime, PRB kiekis (6,2 KSV lg/ml) sumažėjo lyginant su 22 paros rezultatais (5,8 KSV lg/ml). Abu imbieriniai gėrimai su pridėtinėmis PB 12 tyrimo parą dėl atitinkamo šių bakterijų kiekio jau gali būti priskiriami probiotiniams gėrimams (probiotiniai maisto produktai tokie produktai, kurių sudėtyje vartojimo metu probiotinių organizmų yra daugiau nei 10⁶-10⁷ KSV/g [41]), N+PB gėrimas tokiu išlieka viso laikymo metu, o P+PB gėrimas, sumažėjus 42 parą šių bakterijų skaičiui, jau nebeatitinka probiotinio gėrimo apibūdinimo.

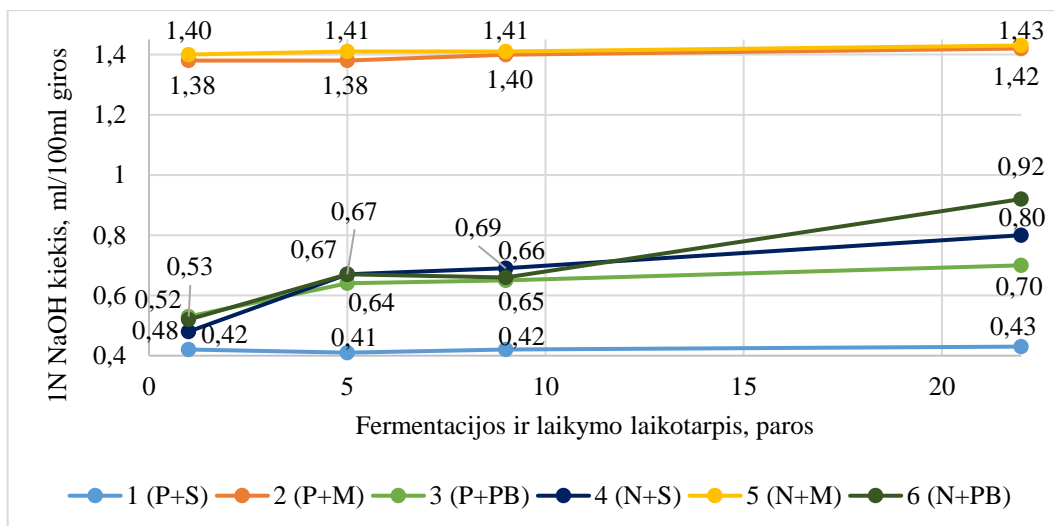
Imbierinių gėrimų rūgštingumo tyrimo rezultatai pateikti 1 ir 2 pav. Tik paruoštų, nefermentuotų skirtingų receptūrų imbierinių gėrimų aktyvusis rūgštingumas (pH) buvo panašus ir svyravo apie 4 (1 pav.). Viso tyrimo metu (fermentacijos ir laikymo laikotarpiais) pastebimai nekintanti pH reikšmė išliko pasterizuoto imbiero savaiminės fermentacijos gėrime. Staigus pH pokytis po 1 paros fermentavimo nustatytas abiejuose (pasterizuoto ir natūralaus) imbiero gėrimuose su mielėmis (P+S ir N+S). Šių gėrimų pH sumažėjo 0,4, tai rodo, jog mielės aktyvios, vyksta fermentacijos procesas, susidarant mielių metabolizmo produktams – organinėms rūgštims. Visuose kituose gėrimuose pH reikšmė po paros fermentacijos nepakito. Po 2 parų fermentacijos 30 °C temperatūroje akivaizdžių pasikeitimų nenustatyta lyginant su 1 paros fermentacijos rezultatais. Po 5 parų fermentacijos nežymus pH sumažėjimas nustatytas natūralaus imbiero savaiminės fermentacijos gėrime (N+S) ir pasterizuoto imbiero su PB gėrime (P+PB), kai pH nuo 4,1 pasikeitė į 3,8. Ryškus 14 % pH pokytis (nuo 4,2 iki 3,6) matomas nepasterizuoto imbiero su PB gėrime (N+PB). Po 4 parų laikymo šaldytuve (9 parą) pH rodikliai imbierinėse girose beveik nepakito palyginus su rezultatais fermentacijos pabaigoje. Tolesnio gėrimų laikymo metu (15 ir 20 parą) pH rezultatai išliko panašūs.



1 pav. pH reikšmių pokytis fermentacijos ir laikymo metu

Titruojamojo rūgštingumo tyrimo rezultatai (2 pav.) parodė, kad po 1 paros fermentacijos didžiausios šio rodiklio vertės buvo būdingos gėrimams su mielėmis: pasterizuoto imbiero gėrimo (P+M) – 1,38 ml/100 ml, o natūralaus (N+M) – 1,4 ml/100 ml. Šios reikšmės nuo kitų gėrimų tyrimų rezultatų skyrėsi daugiau nei du kartus. Mažiausias titruojamasis rūgštingumas (0,42 ml/100 ml) nustatytas pasterizuoto imbiero savaiminės fermentacijos gėrime (P+S). Kitų imbierinių gėrimų (N+S; N+PB; P+PB) Savaiminio rūgimo (Nr. 4), nepasterizuoto imbiero su PB (Nr. 6) bei pasterizuoto imbiero su PB (Nr. 3) imbierinių gėrimų mėginių analizės titruojamojo rūgštingumo vertės buvo tarpusavyje panašios ir kiek didesnės nei P+S gėrimo. 5 fermentacijos parą pastebimas reikšmingas rūgštingumo padidėjimas šiuose gėrimuose: N+S iki 0,67 ml/100 ml giros, N+PB – 0,67 ml/100 ml, o P+PB – 0,64 ml/100 ml. Po 4 parų laikymo 5 °C temperatūroje (9 parą) titruojamojo rūgštingumo pokyčiai buvo neįreikšmingi, tačiau 22 eksperimento parą pastebimas rūgštingumo padidėjimas: P+PB gėrimo – 8 %, N+S – 14 %, N+PB gėrimo – 28. Nors šių gėrimų titruojamojo rūgštingumo padidėjimas akivaizdus, jie yra reikšmingai mažesni nei mažesni nei mielėmis fermentuotų gėrimų. Pažymėtina, kad pasterizuoto imbiero savaiminės fermentacijos gėrimo (P+S) titruojamasis rūgštingumas fermentacijos ir laikymo metu praktiškai nekito.

Tiek pH, tiek titruojamojo rūgštingumo tyrimai parodė, kad imbieriniuose gėrimuose su mielėmis didžiausias šių rodiklių pokytis įvyko per pirmas 24 val. fermentacijos. Tai leidžia daryti išvadą, kad mielių metaboliniai procesai sparčiausiai vyko 1 parą, o po to šių mikroorganizmų išskirtų produktų kiekis pastebimai nebedidėjo ir mielių aktyvumas daugiau nekito. Gėrimuose su papildomai įdėtomis probiotinėmis bakterijomis ryškus rodiklių pokytis pastebėtas tik po 5 parų fermentacijos, gėrimų rūgštingumo padidėjimo priežastis gali būti šių bakterijų išskirta pieno rūgštis ir atsiradęs jų aktyvumas. Nepaisant to, jog pH analizė nerodė jokių šių gėrimų terpės pasikeitimų laikymo metu, nustatyti titruojamojo rūgštingumo pokyčiai šiuo laikotarpiu. Skirtingi pasterizuoto ir natūralaus imbiero savaiminio rūgimo gėrimų tyrimų rezultatai susiję su natūraliai imbiero šaknyje esančių mikroorganizmų veikla.

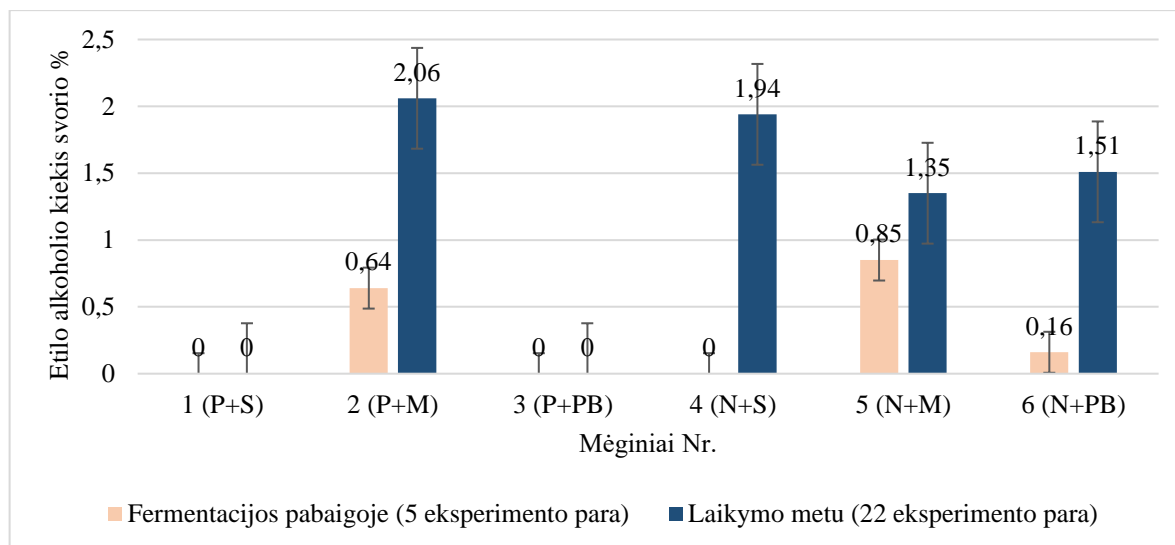


2 pav. Titruojamojo rūgštingumo rezultatų pokytis fermentacijos ir laikymo metu

Po 5 parų fermentacijos etanolis nenustatytas pasterizuoto ir natūralaus imbiero savaiminio rūgimo (P+S ir N+S) bei pasterizuoto imbiero su PB (P+PB) gėrimuose (3 pav.). Galima spręsti, kad šiuose pasterizuoto imbiero gėrimuose nėra alkoholi išskiriančių mikroorganizmų. Daugiausia alkoholio (0,85 % svorio) fermentacijos pabaigoje susidarė natūralaus imbiero su mielėmis gėrime (N+M). Panašus rezultatas gautas ir analizuojant pasterizuoto imbiero su mielėmis gėrimą (P+M) – jame nustatytas etilo alkoholio kiekis sudarė 0,64 % svorio. Nedidelis etanolio kiekis (0,16 %) taip pat rastas natūralaus imbiero su PB gėrime (N+PB). Tyrimo rezultatai rodo, jog natūralaus imbiero mikrofloros sudėtyje yra mikroorganizmų, kurie metabolizmo metu išskiria etanolį, pavyzdžiui, mielių, tačiau šių mikroorganizmų kiekis yra nedidelis. Tai patvirtino ir mikrobiologinio tyrimo rezultatai (po 2 fermentacijos parų N+S gėrime mielių išaugo 3,2 KSV lg/ml). Dėl šios priežasties tarp mielėmis fermentuotų gėrimų susidarė nežymus alkoholio kiekio skirtumas. Lyginant N+S ir N+PB gėrimų tyrimo rezultatus, galima teigti, kad PB veikla galimai suaktyvina gėrime esančių mielių procesus, kadangi N+S mėginyje alkoholio nebuvo nustatyta.

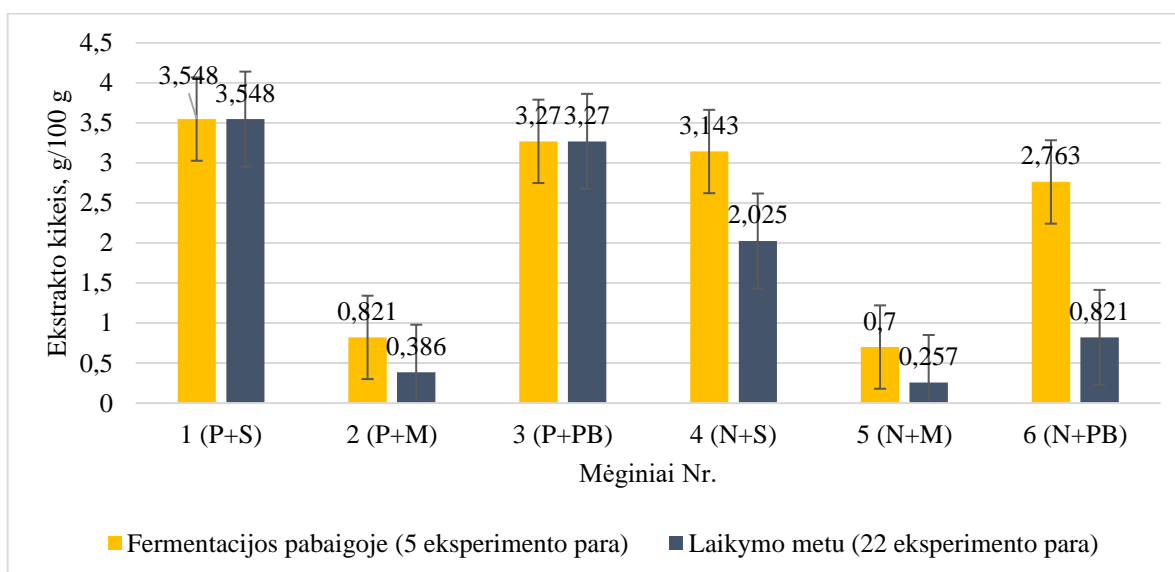
Laikymo metu nustatytas etanolio kiekio padidėjimas gėrimuose. P+M gėrime laikymo metu alkoholio kiekis padidėjo 3,2 karto. Tuo tarpu N+M gėrime etanolio pokytis buvo mažesnis: padidėjo tik 1,6 karto (iki 1,35 %). Tyrimų rezultatai rodo, kad daugiausiai etanolio laikymo pabaigoje buvo P+M gėrime (2,06 %), tačiau N+M gėrime etanolio kiekis pakito mažiausiai iš visų tirtų mėginių, nors jo sudėtyje buvo ne tik pridėtinių, bet ir natūraliai imbiero šaknyje esančių mielių. Tai leidžia daryti išvadą, jog produkte esančios skirtingų mikroorganizmų rūšių kultūros, esant mažesniems mikroorganizmų kiekiams toje pačioje terpėje veikia sinergiškai, tačiau padidėjus mikroorganizmų skaičiui pradeda slopinti viena kitos procesus: dėl to laikymo metu N+M gėrime susidarė mažesnis jų metabolizmo produkto – etilo alkoholio – kiekis. Janes su bendraautoriais atlikti tyrimai parodė, kad nuo imbiero paviršiaus išskirtos *Lactococcus* rūšių padermės gamina bakteriocinus, kurie šiame tyrime ir galėjo paveikti mielių gyvybinius procesus. Pokytis matomas ir N+S gėrime: nors jį fermentuojant etanolio nesusidarė, tačiau laikymo metu produkto sudėtyje jo kiekis pasiekė net 1,94 %. Tai įrodo, kad natūraliai imbiero šaknyje esančių mielių buvo per mažai susidaryti pastebimam etanolio kiekiui fermentacijos metu. Be to, reikalingas ilgesnis laiko tarpas, kad būtų galima nustatyti jų mikrobiologinį aktyvumą. N+PR gėrime laikymo metu etanolio kiekis padidėjo 9,4 karto, lyginant

su nustatytu fermentacijos pabaigoje. Vadinasi, PB fermentacijos metu skatina mielių augimą, tačiau ilgai bakterijų veiklos produktai antagonistiškai veikia sudėtyje esančias mieles, kadangi N+S gėrime laikymo metu etanolio buvo daugiau nei N+PB.



3 pav. Etilo alkoholio kiekis gėrimuose fermentacijos ir laikymo metu

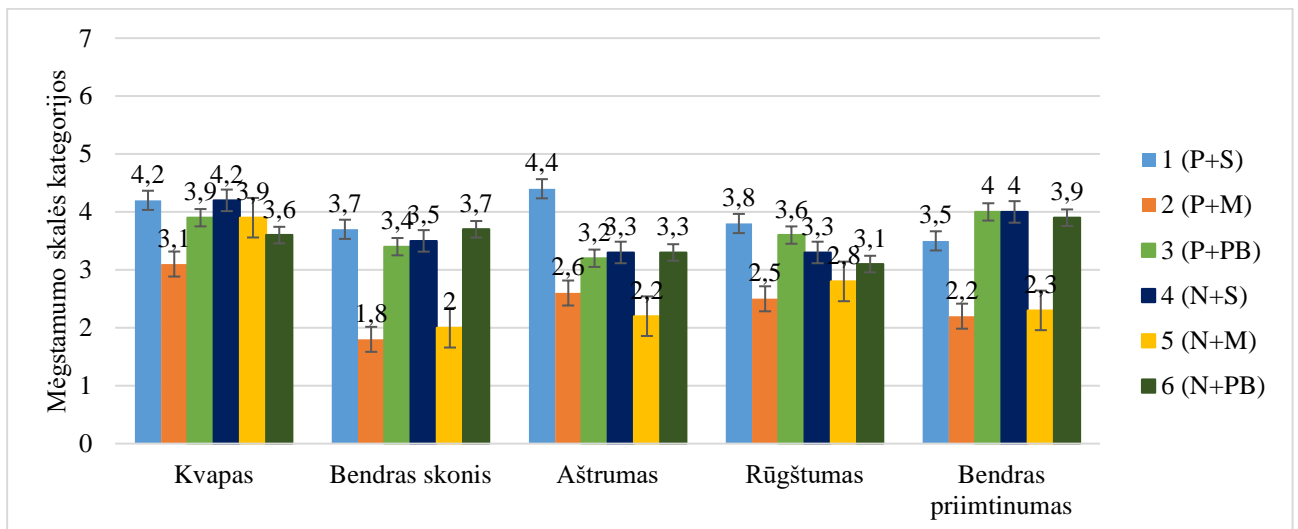
Didžiausias tikrojo ekstrakto kiekis fermentacijos pabaigoje nustatytas P+S ir P+PB gėrimuose, atitinkamai, 3,55 g ir 3,27 g/100 g (4 pav.). Pažymėtina, jog etilo alkoholio šiuose mėginiuose nebuvo nustatyta. Mažiausiai ekstrakto buvo N+M ir P+M gėrimuose, atitinkamai, 0,77 g ir 0,82 g/100 g, kuriuose nustatytas didžiausias etilo alkoholio kiekis. Galima daryti išvadą, kad kuo daugiau bandinyje yra etanolio, tuo mažiau jo sudėtyje likę ekstrakto. Mielėms suskaidžius sacharozę ir išsiskyrus etanolui, gėrime cukraus kiekis, tuo pačiu ekstrakto kiekis sumažėjo. Analizuojant ekstrakto kiekio pokyčius laikymo metu, matyti, kad jo kiekis tirtuose gėrimuose mažėjo. Didžiausias pokytis pastebėtas N+PB ir N+S mėginiuose: ekstrakto kiekis sumažėjo, atitinkamai, 3,4 ir 1,6 karto. mėginyje ekstrakto sumažėjo karto. Mielėmis fermentuotuose gėrimuose ekstrakto kiekiai taip pat sumažėjo daugiau kaip 2 kartus, ir išliko mažiausi tiek po fermentacijos tiek laikymo metu.



4 pav. Imbierinių gėrimų ekstrakto kiekio pokytis fermentacijos ir laikymo metu

Juslinės analizės metu buvo vertinami gėrimų kvapo, bendro skonio, aštrumo, rūgštumo priimtumas bei bendras priimtumas (5 pav.). Tyrimo rezultatai parodė, kad fermentuotų imbierinių gėrimų kvapas įvertintas kaip vidutiniškai patinkantis – didžiausios rodiklio vertės 7 kategorijų mėgstamumo skalėje buvo artimos 4, kas atitinka „nei patinka, nei nepatinka“ vartotojų pasirinkimą. Vertinant kvapą, labiausiai išsiskyrė pasterizuoto imbiero su mielėmis gėrimas, kurio kvapo įvertinimas siekė tik 3,1 ir buvo mažiausias lyginant su kitų receptūrų gėrimais. Labiausiai patinkantis kvapas buvo pasterizuoto ir natūralaus imbiero savaiminės fermentacijos gėrimų (4,2). Mažiausiai vertintojams patiko mielėmis fermentuotų gėrimų bendras skonis (1,8-2), o taip pat atskiros skonio savybės, tokios kaip aštrumas (2,2-2,6), rūgštumas (2,5-2,8). Tam įtakos galėjo turėti ilga šių gėrimų fermentavimo trukmė, kadangi įprastai gėrimai mielėmis fermentuojami 24-48 val. Kitų imbierinių gėrimų skonio priimtumas įvertintas labai panašiai, 3-4 kategorijų intervale. Priimtinausias aštrumas ir rūgštumas buvo pasterizuoto imbiero savaiminės fermentacijos gėrimo (atitinkamai, 4,4 ir 3,8). Vertintojai taip pat palankiai įvertino pasterizuoto imbiero su PB gėrimo rūgštumą (3,6±1,2).

Tokie atskirų juslinių savybių vertinimo rezultatai turėjo įtakos ir gėrimų bendro priimtumo vertinimui. Tiek pasterizuoto, tiek natūralaus imbiero gėrimai, fermentuoti mielėmis, buvo mažiausiai patrauklūs vartotojams (bendras priimtumas – 2,2-2,3). Labiausiai vertintojams patiko pasterizuoto imbiero su PB (4) bei natūralaus imbiero savaiminio rūgimo (4) ir su PB (3,9) gėrimai. Vertinant 7 kategorijų priimtumo skalėje, nei vienas tirtas imbierinis gėrimas nebuvo įvertintas kaip labai patinkantis, todėl tolesniuose tyrimuose tikslinga tobulinti pasirinktą receptūrą, optimizuojant parinktus žaliavų kiekius ar ieškant papildomų, skonį gerinančių ingredientų.



5 pav. Imbierinių gėrimų juslinės analizės rezultatai

4.2. Pirmino probiotinio imbierinio gėrimo maketo kūrimas

Kaip matyti, imbiero apdorojimas (pasterizacija) ir taikytas fermentacijos būdas turėjo įtakos mikroorganizmų kiekiui gėrimuose ir jų pokyčiams laikymo metu. Naudojant pasterizuotą imbierą savaiminės fermentacijos imbiero gėrime neaptikta jokios mikroorganizmų veiklos, tuo tarpu savaiminės fermentacijos natūralaus imbiero gėrime tiek bendras mikroorganizmų, tiek mielių ir PRB kiekis laipsniškai didėjo fermentacijos ir laikymo metu. Daugiausia alkoholio (0,85 % svorio)

fermentacijos pabaigoje susidarė natūralaus imbiero su mielėmis gėrime (N+M). Probiotinėmis bakterijomis (PB) fermentuotuose imbiero gėrimuose bakterijų metabolinė veikla ir žymus PRB kiekio padidėjimas pastebėtas nuo 5 fermentacijos paros. Natūralaus imbiero gėrimas buvo gera terpė ir mielių veiklai. Šie imbieriniai gėrimai po 17 parų laikymo gali būti priskiriami probiotiniams gėrimams, nes jų sudėtyje PB buvo daugiau nei 10^6 KSV/g. Kita vertus, vertinant 7 kategorijų priimtumo skalėje, nei vienas tirtas imbierinis gėrimas nebuvo įvertintas kaip labai patinkantis, todėl nuspręsta tobulinti receptūrą.

Naujai imbierinio gėrimo receptūrai buvo parinkti ingredientai:

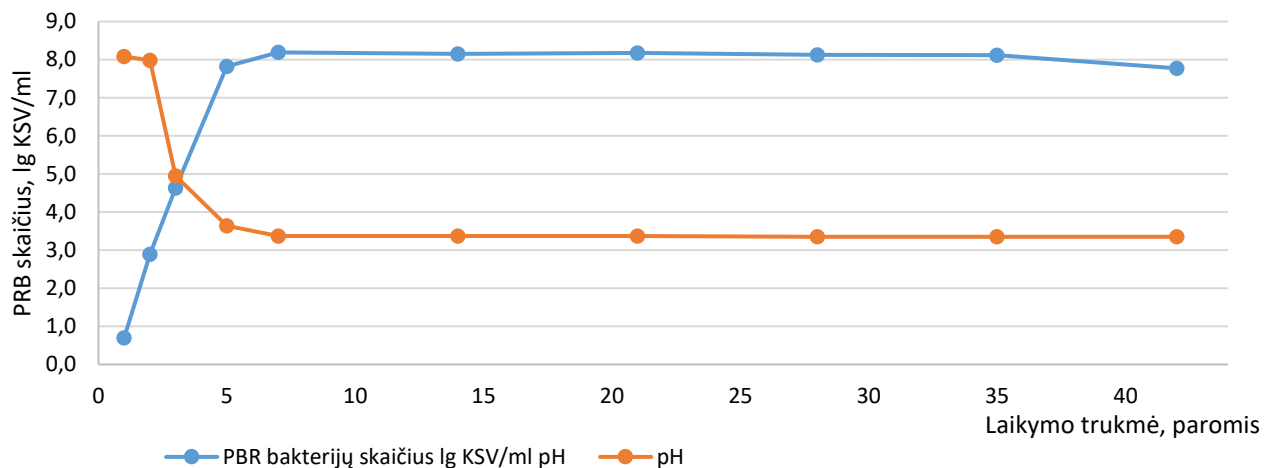
- 20 g imbiero šaknies;
- 25,4 g cukraus;
- 2 g razinų;
- 2x0,4 g sauso probiotinių bakterijų mišinio: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium longum*, *Streptococcus thermophilus*, kad probiotinių bakterijų būtų apie 1-2 milijardus kolonijas sudarančių vienetų (KSV);
- 2,6 g ciberžolės;
- 1,4 g malto imbiero;
- įpilama 10 g pelynų arbatos;
- 1 l vandens.

Taip pat buvo pabandyta vietoj sauso probiotinių bakterijų mišinio pritaikyti probiotines tabletes „B-Kurunga“, kurių sudedamosios dalys: pieno rūgšties bakterijos (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrückii subsp. bulgaricus*), cinko oksidas. Informaciniame lapelyje teigiama, jog pieno rūgšties bakterijų yra ne mažiau kaip 10 mln. KSV/g. Tyrimui atlikti paimtos 2 tabletės, jos susmulkintos ir ištirpintos fiziologiniame skystyje bei pasėtos ant MRS, selektyvios pieno rūgšties bakterijoms, ir DRBC, selektyvios mielėms, terpių. Išaugusių pieno rūgšties bakterijų išvaizda skirtinga nuo pieno rūgšties bakterijoms įprastų (pavienių, sferinių), jos augo didelėmis kolonomis. Jų skaičius – $3,22 \times 10^3$ KSV/1,2g. Ant DRBC terpės bakterijų neišaugo. Apibendrinant tyrimą, galima teigti, jog B-Kurungos tabletės yra nerekomenduojamos naudoti, jei gėrime norimas didesnis pieno rūgšties bakterijų skaičius.

Imbierinio gėrimo paruošimas fermentacijai susideda iš kelių etapų:

- 20 g imbiero šaknies susmulkinama smulkia tarka. Į 2 l butelį sudedamas sutarkuotas imbieras, 10 g cukraus ir mišinys užpilamas 0,4 l karšto virinto vandens, gerai išmaišoma. Mišinio temperatūra – 66°C, pH vertė – 8,08. Laikoma 30 °C temperatūroje 24 val.
- Įdedamas probiotinių bakterijų mišinys, įpilama 0,33 l šilto (40 °C temp.) virinto vandens, mišinio temperatūra – 33°C, pH vertė – 7,98. Laikoma 30 °C temperatūroje 24 val.
- Įdedama antra probiotinių bakterijų dalis, įpilama 0,27 l karšto vandens, sudedamas likęs kiekis (15,4 g) cukraus.
- Į atskirą indą sudedama 2,6 g ciberžolės, 1,4 g malto imbiero ir įpilama 10 g pelynų arbatos, kad jaustųsi lengvas kartumas. Abu mišiniai gerai sumaišomi. Gėrimas fermentuojamas 30 °C temperatūroje iki penktos paros (120 val.) skaičiuojant nuo gamybos pradžios. Po fermentacijos indas perkeliamas į šaldytuvą (4 °C) ir tinkamumo vartoti terminui nustatyti.

Kaip matyti iš pateiktų duomenų fermentacijos procesas intensyviai vyko pirmas 5 paras, tai yra PRB 5-ą fermentacijos parą buvo $6,7 \times 10^7$ KSV/ml (6 pav.). Laikant fermentuotą geros gėrimą šaldytuve bendras PRB skaičius išliko vienodas iki 35-os laikymo paros ir pradėjo mažėti. Tai, kad probiotinių bakterijų buvo įdėta du kartus lėmė ir didesnę PRB skaičių pačiame gėrime. Šiame fermentuotame gėrime dėl aktyvios PRB veiklos nesidaugino mielės tiek pačios fermentacijos metu, tiek fermentuoto gėrimo laikymo metu.



6 pav. PRB bakterijų skaičiaus logaritmo ir pH kitimas imbierinio gėrimo fermentacijos ir laikymo metu

Nors šis fermentuotas imbierinis gėrimas gali būti, kaip probiotinis gėrimas, tačiau jo bendro priimtumo vidutinė vertė 5 kategorijų vertinimo skalėje buvo 2,8 (5 lentelė). Kita vertus, buvo siekta sukurti fermentuotą imbiero gėrimą be pridėtinio cukraus. Taip pat įvertinta, kad daugiapakopis fermentuoto gėrimo ruošimo procesas tampa sudėtingu ir atsiranda papildomų veiksnių, kuriuos reikia įvertinti siekiant užtikrinti gėrimo saugą bei kokybės pastovumą, buvo nutarta atsisakyti tokio gėrimo ruošimo technologijos.

4.3. Probiotinio imbierinio gėrimo maketo įvertinimas, imituojant realias gamybos ir laikymo sąlygas

Šiame etape buvo pakoreguotos fermentuoto imbierinio gėrimo receptūros, pakeičiant cukrų skirtingais saldikliais, bei suplanuotas vienos fermentavimo pakopos technologinis procesas:

- 20 g imbiero šaknies;
- 25 g ksilitolio / 35 g agavų sirupo / 28 g kokoso palmių cukraus (teigiama, kad veikia kaip saldiklis);
- 0,8 g sauso probiotinių bakterijų mišinio: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium longum*, *Streptococcus thermophilus* (kad probiotinių bakterijų būtų apie 1-2 milijardus KSV) arba 0,5 g BB 12 (*Bifidobacterium*, Chr. Hansen); 0,5 g nu-trish-LA 5 (freeze-dried *Lactobacillus acidophilus*, Chr. Hansen); 0,5 g *Lactobacillus casei* 431 (Chr. Hansen);
- 2,6 g ciberžolės;

- 1,4 g malto imbiero;
- 10 g pelynų arbatos (kuriai paruošti sunaudotas 1 a.š. pelynų arbatžolių ir 250 ml vandens);
- 5 ml/l citrinų sulčių
- 1 l vandens.

Kadangi paruošto fermentacijai gėrimo pH 7,08, tai lygiagrečiai buvo ruošiami gėrimai su citrinų sultimis (iki 5 ml/l), kad pradinis gėrimo pH būtų 6,5, tokiu būdu siekiant sudaryti palankesnes PRB bakterijų augimo sąlygas. Kad pelynas neslopintų PRB augimo gėrimo fermentacijos metu, pelyno arbata buvo pilama po 5 parų, kuomet gėrimo pH nukrito maždaug iki 3,5.

Fermentacijos metu mažiausias pieno rūgšties bakterijų skaičiaus (3 lentelė) ir pH (4 lentelė) augimas pastebėtas gėrime su ksilitoliu ir gėrime su ksilitoliu + citrinos sultys, todėl galima spręsti, kad fermentacija vyko mažiausiai. Be to, šiuose gėrimuose pieno rūgšties bakterijų skaičius laikymo metu sparčiai mažėjo ir po 14 parų buvo tik $6,90 \times 10^5$ KSV/ml. Todėl buvo atsisakyta fermentuoto imbierinio gėrimo su ksilitoliu.

Fermentuose imberiniuose gėrimuose su agavų sirupu pastebėtas panašus pieno rūgšties bakterijų skaičiaus augimas kaip ir su palmių cukrumi. Citrinų sultys nežymiai padidino bakterijų skaičiaus augimą, o pelynai nežymiai sumažino pieno rūgšties bakterijų skaičių laikymo pabaigoje. Todėl tikslinga pelynų arbatą pilti prieš pat išpilstymą į pardavimo tarą arba trumpinti gėrimų laikymo trukmę.

Atlikus fermentuotų gėrimų juslinį vertinimą (5 lentelė), geriausiai vertintojai įvertino fermentuotą imbierinį gėrimą su palmių cukrumi ir citrinų sultimis bei gėrimą su palmių cukrumi ir citrinų sultimis bei pelynu, atitinkamai, 4,7 ir 4,5 balo iš galimų 5 balų.

3 lentelė. Pieno rūgšties bakterijų skaičiaus pokyčiai imbierinių gėrimų fermentacijos ir laikymo metu

Naudotas saldiklis	Bakterijų skaičius, KSV/ml			
	0 parų	4 para	14 para	21 para
Ksilitolis + citrinų sultys.	$1,40 \times 10^4$	$2,58 \times 10^7$	$9,73 \times 10^5$	-
Ksilitolis	$1,00 \times 10^4$	$1,06 \times 10^7$	$6,90 \times 10^5$	-
Palmių cukrus	$3,82 \times 10^4$	$3,18 \times 10^8$	$1,41 \times 10^8$	$8,73 \times 10^7$
Palmių cukrus + pelynai	$3,82 \times 10^4$	$3,18 \times 10^8$	$1,18 \times 10^8$	$5,18 \times 10^7$
Palmių cukrus + citrinų s.	$2,98 \times 10^4$	$3,68 \times 10^8$	$1,08 \times 10^8$	$4,95 \times 10^7$
Palmių cukrus+ citrinų s. + pelynai	$2,98 \times 10^4$	$3,68 \times 10^8$	$7,25 \times 10^7$	$3,80 \times 10^7$
Agavų sirupas	$3,50 \times 10^4$	$3,04 \times 10^8$	$1,63 \times 10^7$	$1,44 \times 10^7$
Agavų sirupas + pelynai	$3,50 \times 10^4$	$3,04 \times 10^8$	$1,10 \times 10^7$	$3,67 \times 10^6$
Agavų sirupas + citrinų s.	$3,60 \times 10^4$	$3,95 \times 10^7$	$5,65 \times 10^7$	$2,53 \times 10^7$
Agavų sirupas + citrinų s. + pelynai	$3,60 \times 10^4$	$3,95 \times 10^7$	$1,20 \times 10^7$	$3,58 \times 10^7$

4 lentelė. pH pokytis imbierinių gėrimų fermentacijos ir laikymo metu

Naudotas saldiklis	0	1 para	4 para	5 para	7 para	8 para	15 para	21 para	29 para
Agavų sirupas	7,35	7,09	4,05	3,81	3,81	3,81	3,56	3,58	3,59
Agavų sirupas + pelynai	7,35	7,09	4,05	3,81	3,81	3,81	3,7	3,72	3,71
Agavų sirupas + citrinų s.	6,4	6,35	4,37	3,83	3,83	3,83	3,71	3,78	3,67
Agavų sirupas + citrinų s. + pelynai	6,4	6,35	4,37	3,83	3,83	3,83	3,45	3,43	3,43
Palmių cukrus	7,43	7,08	3,67	3,81	3,81	3,81	3,75	3,75	3,75
Palmių cukrus + pelynai	7,43	7,08	3,67	3,81	3,81	3,81	3,77	3,8	3,77
Palmių cukrus + citrinų s.	6,58	6,62	3,64	3,83	3,83	3,83	3,72	3,73	3,71
Palmių cukrus + citrinų s. + pelynai	6,58	6,62	3,64	3,83	3,84	3,84	3,75	3,75	3,73
Ksilitolis	7,33	7,27	5,3	5,53	5,41	5,08	4,76	4,76	4,76
Ksilitolis + citrinų s.	6,46	6,39	5,16	5,41	5,56	5,35	5,11	5,11	5,11

5 lentelė. Fermentuotų imbierinių gėrimų juslinės analizės rezultatai

Jusliniai rodikliai	Mėginys*						
	1	2	3	4	5	6	7
Spalva	3,6	3,8	3,7	3,4	4,6	5,0	5,0
Bendras kvapas	3,3	3,8	3,1	2,8	4,2	4,7	4,7
Bendras skonis	2,4	3,0	3,2	3,1	4,1	4,5	4,3
Saldumas	2,1	3,4	2,9	2,6	3,5	4,1	3,6
Rūgštumas	3,0	2,9	2,1	2,6	3,8	3,7	4,0

Bendras priimtinumas	2,8	3,0	3,4	3,2	4,2	4,7	4,5
* 1 – gėrimas su cukrumi ir pelynu + citrinų sultys; 2 – su agavų sirupu ir pelynu; 3 – su agavų sirupu + citrinų sultys; 4 – su agavų sirupu ir pelynu + citrinų sultys; 5 – su ksilitoliu ir pelynu; 6 – su palmių cukrumi + citrinų sultys; 7 – su palmių cukrumi ir pelynu + citrinų sultys							

Lygiagrečiai buvo atliekami ir fermentuotų imbierinių gėrimų tyrimai, kurie buvo gaminami didesniais kiekiais, bandant išvengti savaiminės fermentacijos. Eksperimentinių fermentuotų imbierinių gėrimų, pagamintų realiomis sąlygomis, mikrobiologinių tyrimų rezultatai pateikti 6 lentelėje.

6 lentelė. Skirtingų fermentuotų imbierinių gėrimų mikrobiologinių tyrimų rezultatai

Bakterijų skaičius, KSV/ml			
Gėrimas	Terpė	Data	
		10-15	10-21
1 partija	DRBC	$5,40 \times 10^3$	-
	MRS	-	-
2 partija	DRBC	$1,68 \times 10^5$	
	MRS	$1,45 \times 10^5$	
3 partija	DRBC		$2,19 \times 10^5$
	MRS		$1,36 \times 10^7$

Eksperimentinių fermentuotų imbierinių gėrimų, pagamintų realiomis gamybos sąlygomis, palyginimui ir savybių įvertinimui gėrimų mėginiai sėti ant selektyvios mielėms terpės DRBC ir selektyvios pieno rūgšties bakterijoms terpės MRS. Skirtingai nei laboratorinėmis sąlygomis gamintuose gėrimuose, šiuose buvo pastebėtas mielių augimas – trijuose skirtinguose mėginiuose rasta jų. Daugiausia – 3 partijos mėginyje, kuriame rasta ir pieno rūgšties bakterijų. 1 partijos mėginyje neaptikta pieno rūgšties bakterijų. 2 partijos mėginyje ir mielių, ir pieno rūgšties bakterijų skaičius buvo panašus. Mielių buvimas gėrimuose rodo, jog vyko mielių fermentaciją, kurios pagrindinis produktas acetatas.

4 partijos gėrimas buvo gaminamas naudojant skystų bakterijų (ištiptintų B-Kurungos tablečių tirpalas), raugą. Tirti mėginiai: skystų bakterijų; raugo, kurį sudarė bakterijos, gliukozė ir sėlenos; fermentuoto gėrimo be razinų; fermentuoto gėrimo prieš pridėdant razinų. Visi mėginiai sėti ant selektyvios mielėms terpės DRBC ir selektyvios pieno rūgšties bakterijoms terpės MRS. Nustatytas skystų bakterijų skaičius ant MRS terpės $N = 2,91 \cdot 10^5$ KSV/ml, ant DRBC terpės bakterijų neišaugo. Raugo mėginyje ant mielėms selektyvios terpės parinktas netinkamas praskiedimo laipsnis, todėl nustatyti skaičiaus nebuvo galima, o ant pieno rūgšties bakterijoms selektyvios terpės bakterijų

skaičius $N = 1,25 \cdot 10^8$ KSV/ml. Fermentuoto gėrimo be razinų mėginyje bakterijų skaičiaus ant DRBC terpės negalima nustatyti dėl netinkamo praskiedimo laipsnio, o ant MRS terpės $N = 2,98 \cdot 10^7$ KSV/ml. Fermentuoto gėrimo prieš pridėdant razinų mėginyje ant mielėms selektyvios terpės parinktas netinkamas praskiedimo laipsnis, todėl nustatyti skaičiaus negalima, o ant pieno rūgšties bakterijoms selektyvios terpės bakterijų skaičius $N = 2,89 \cdot 10^7$ KSV/ml.

4.4. Probiotinio imbierinio gėrimo prototipo kūrimas

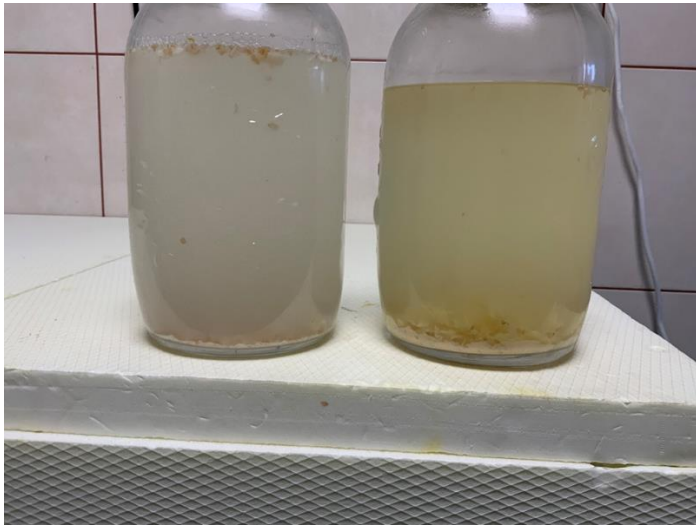
Remiantis atliktų fermentuotų imbierinių gėrimų receptūrų modeliavimu, gėrimų pH pokyčių bei mikrobiologiniais tyrimų rezultatais buvo atlikta dviejų receptūrų 10 l bandomosios versijos prototipinio imbierinio gėrimo gamybą;

I prototipas (7 ir 8 pav.):

- 1) 50 g tarkuotos imbiero šaknies;
- 2) 5 g ciberžolės miltelių;
- 3) 270 g cukraus;
- 4) Chr. Hansen probiotinės bakterijos: 0,5 g BB 12 (*Bifidobacterium*, Chr. Hansen); 0,5 g nu-trish-LA 5 (freeze-dried Lactic culture (*Lactobacillus acidophilus*), Chr. Hansen); 0,5 g *Lactobacillus casei* 431 (Chr. Hansen);
- 5) 75 g Stevija saldiklio;
- 6) 200 g pelynų arbatos;
- 7) 10 l vandens.

II prototipas (9 pav.):

- 1) 200 g tarkuotos imbiero šaknies;
- 2) 280 g kokoso palmių cukraus (saldiklis);
- 3) 8 g sauso probiotinių bakterijų mišinio: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium longum*, *Streptococcus thermophilus*, kad probiotinių bakterijų būtų apie 1-2 milijardus kolonijas sudarančių vienetų (KSV)
- 4) 26 g ciberžolės miltelių;
- 5) 14 g malto imbiero miltelių;
- 6) 100 g pelynų arbatos (kuriai paruošti sunaudotas 1 a.š. pelynų arbatžolių ir 250 ml vandens);
- 7) 10 l vandens.



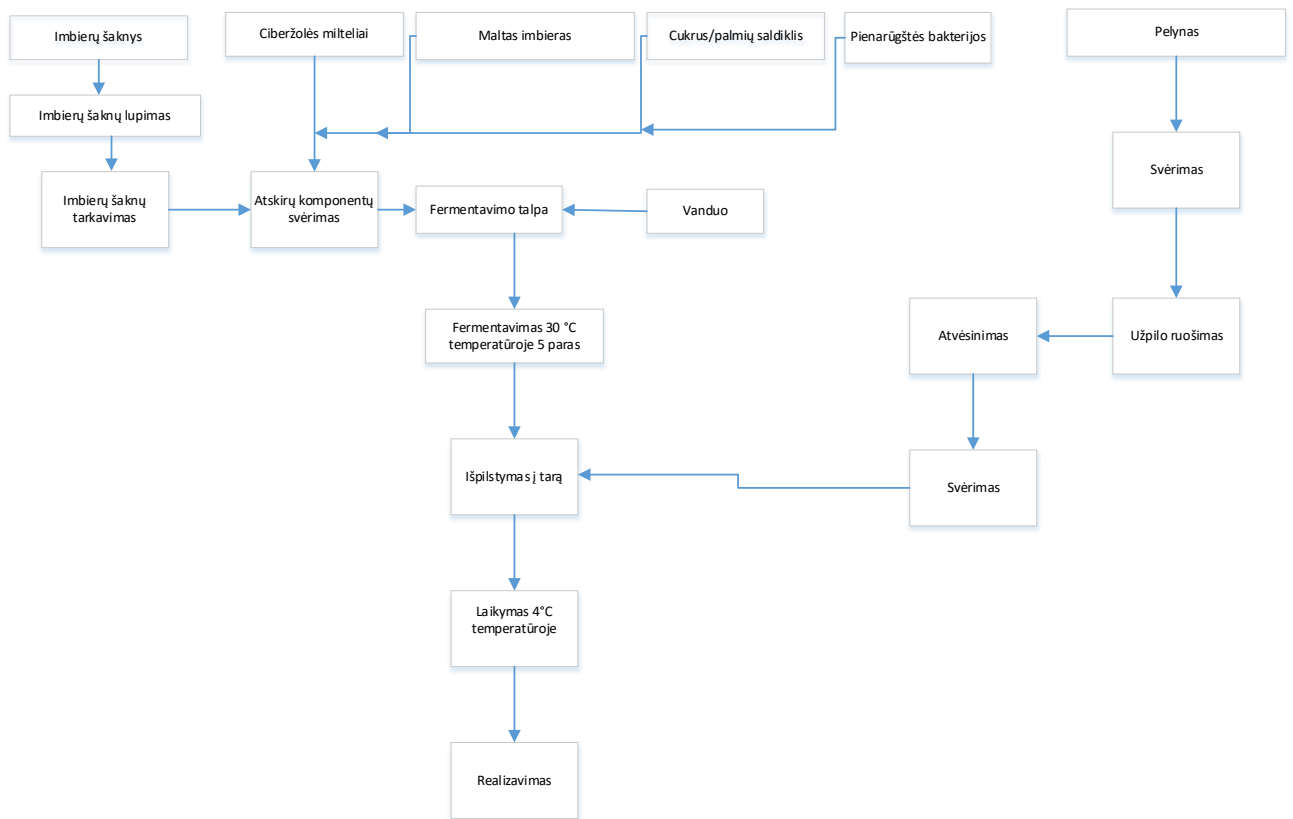
7 pav. 10 L fermentuoto imbierinio gėrimo I prototipas



8 pav. Išpilstytas fermentuotas imbierinis gerimas (I prototipas)



9 pav. 10 L fermentuoto imbierinio gėrimo II prototipas



11 pav. Fermentuoto imbierinio gėrimo II prototipo gamybos technologinė schema

5. IŠVADOS

1. Šviežioje imbiero šaknyne nustatyti natūraliai esantys nedideli kiekiai pieno rūgšties bakterijų ir mielių, kurias galima sunaikinti pasterizavus imbierą 70 °C temperatūroje.
2. Imbiero apdorojimas (pasterizacija) ir taikytas fermentacijos būdas turėjo įtakos mikroorganizmų kiekiui gėrimuose ir jų pokyčiams laikymo metu:
 - 2.1. Savaiminės fermentacijos pasterizuoto imbiero gėrime neaptikta jokios mikroorganizmų veiklos, tuo tarpu savaiminės fermentacijos natūralaus imbiero gėrime tiek bendras mikroorganizmų, tiek mielių ir pieno rūgšties bakterijų kiekis laipsniškai didėjo fermentacijos ir laikymo metu.
 - 2.2. Mielėmis fermentuotame pasterizuoto imbiero gėrimo mikroflorą sudarė tik pridėtinės mielės, o natūralaus imbiero gėrimo – mielės ir pieno rūgšties bakterijos. Fermentacijos metu mielių skaičius mažėjo, o pieno rūgšties bakterijų – didėjo tiek fermentacijos, tiek laikymo metu.
 - 2.3. Probiotinėmis bakterijomis fermentuotuose imbieriniuose gėrimuose bakterijų metabolinė veikla ir žymus pieno rūgšties bakterijų kiekio padidėjimas pastebėtas nuo 4 fermentacijos paros. Natūralaus imbiero gėrimas buvo gera terpė ir mielių veiklai. Šie imbieriniai gėrimai 17 parų laikymo metu gali būti priskiriami probiotiniams gėrimams, nes jų sudėtyje probiotinių bakterijų buvo daugiau nei 10^6 KSV/g.
3. Savaiminė fermentacija ir fermentacija mielėmis netinka imbierinio gėrimo gamybai, nes gėrime susidaro etilo alkoholis. Fermentacijos pabaigoje (5 parą) daugiausiai etilo alkoholio susidarė mielėmis fermentuoto natūralaus imbiero giroje (0,85 %). Laikymo metu etanolio kiekis didėjo, išskyrus pasterizuoto imbiero savaiminės fermentacijos ir probiotinėmis bakterijomis fermentuotą gėrimą.
4. Sudarytos dvi probiotinio fermentuoto imbierinio gėrimo receptūros ir parinkti probiotinių bakterijų mišiniai imbierinio gėrimo fermentacijai: I prototipui – komercinės Chr. Hansen probiotinės kultūros BB 12 (*Bifidobacterium*); Nu-trish-LA 5 (freeze-dried *Lactobacillus acidophilus*) ir *Lactobacillus casei* 431; II prototipui – *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium longum*, *Streptococcus thermophilus* bakterijų kultūros.
5. Sudarytos fermentuoto imbierinio gėrimo gamybos technologinės schemas ir parinkti technologiniai gamybos parametrai: fermentacijos trukmė – ne ilgiau 4 parų, temperatūra – 30 °C, gėrimo pH fermentacijos pabaigoje turi pasiekti 5.
6. Nustatyta probiotinio fermentuoto imbierinio gėrimo tinkamumo vartoti trukmė – 35 paros, laikant 0-4 °C temperatūroje (šaldytuve).
7. Juslinis gėrimų vertinimas parodė, kad labiausiai vertintojams patiko fermentuoto pasterizuoto ir natūralaus imbiero gėrimų juslinės savybės, jie buvo daugiausiai priimtini. Geriausiai vertintojai įvertino fermentuotą imbierinį gėrimą su palmių cukrumi ir citrinų sultimis bei gėrimą su palmių cukrumi ir citrinų sultimis bei pelynu, atitinkamai, 4,7 ir 4,5/5 kategorijų priimtimumo skalėje.
8. Įgyvendinus projektą pasiektas TPL 6 lygis – sukurtas probiotinio imbierinio gėrimo prototipas (bandomoji versija), kuris sekančiu etapu bus išbandomas realiomis sąlygomis.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

- Abdoul-Latif F. M., Bassolé I. H. N., Dicko M. H. Proximate composition of traditional local sorghum beer “dolo” manufactured in Ouagadougou. *African Journal of Biotechnology*, 2013, 12.13.
- Alaei Z., Douidi M., Setorki M. The protective role of Kombucha extract on the normal intestinal microflora, high-cholesterol diet caused hypercholesterolemia, and histological structures changes in New Zealand white rabbits *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 10 (2020), pp. 604-614
- Altay F., Karbancıoğlu-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*, Volume 167, Issue 1, 1 October 2013, Pages 44-56.
- Bakr A. F. *International Journal of Veterinary Science. Int J Vet Sci*, 2020, 9.2: 203-209. 35. ALAM, Md Sahin. Quality Evaluation of Ginger Candy Prepared by Osmotic Dehydration Techniques. *Food and Nutrition Sciences*, 2018, 9.4: 376-389.
- Banerjee S. *Zingiber officinale*: ‘a natural gold’. *Int J Pharmaceutical Bio-Sci*, 2011, 2: 283-94.
- Bellut K., Elke K. A. Chance and Challenge: Non-*Saccharomyces* Yeasts in Nonalcoholic and Low Alcohol Beer Brewing—A Review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 2019, 77.2: 77-91.
- Diez-Ozaeta I., Astiazaran O. J. Fermented foods: an update on evidence-based health benefits and future perspectives. *Food Research International*. Available online 15 March 2022, 111133
- Ding J., Wang L., Zhao C. H. J., Si L., Huang H. *Artemisia scoparia*: Traditional uses, active constituents and pharmacological effects. *Journal of Ethnopharmacology* Volume 273, 12 June 2021, 113960
- Gamboa-Gómez C. I., Simental-Mendia L. E., Gonzalez-Laredo R. F., Alcantar- Orozco E. J., Monserrat-Juarez V. H., Ramirez-España J. C., et al. (2017). In vitro and in vivo assessment of anti-hyperglycemic and antioxidant effects of Oak leaves (*Quercus convallata* and *Quercus arizonica*) infusions and fermented beverages. *Food Research International*, 102, 690–699.
- Ghafoor K. Total phenolics, total carotenoids, individual phenolics and antioxidant activity of ginger (*Zingiber officinale*) rhizome as affected by drying methods. *LWT*, 2020, 109354.
- Habtemariam S. Chapter 18 - The chemical and pharmacological basis of ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) as potential therapy for diabetes and metabolic syndrome. Editor(s): Solomon Habtemariam, *Medicinal Foods as Potential Therapies for Type-2 Diabetes and Associated Diseases*, Academic Press, 2019, P. 639-687.
- ISO, E. N. 15214. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuff—Horizontal Method for the Enumeration of Mesophilic Lactic Acid Bacteria—Colony-Count Technique at 30 Degrees C. In: *ICS*. 1998. p. 300.
- Yüksel A. N., Barut K. T. Ö., Bayram M. The effects of roasting, milling, brewing and storage processes on the physicochemical properties of Turkish coffee. *LWT*, 2020, 131: 109711.
- Janes M. E., Nannapaneni R., Johnson M. G. Identification and characterization of two bacteriocin-producing bacteria isolated from garlic and ginger root. *Journal of food protection*, 1999, 62.8: 899-904.

- Kato M. Occupational exposure to neurotoxicants: preliminary survey in five industries of the Camacari Petrochemical Complex, Brazil. In: Neurobehavioral Methods and Effects in Occupational and Environmental Health. Academic Press, 1994. p. 801-807.
- Leech J. Fermented food metagenomics reveals substrate-associated differences in taxonomy, health-associated-and antibiotic resistance-determinants. bioRxiv, 2020.
- Marzban F., Azizi G., Afraei S., Sedaghat R., Seyedzadeh M.H., Razavi A, et al. Kombucha tea ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis in mouse model of multiple sclerosis Food and Agricultural Immunology, 26 (2015), pp. 782-793
- Moghaddasi M. S., Kashani H. H. Ginger (*Zingiber officinale*): a review. Journal of Medicinal Plants Research, 2012, 6.26: 4255-4258.
- Mueller J. Delicious Probiotic Drinks 75 Recipes for Kombucha, Kefir, Ginger Beer, and Other Naturally Fermented Drinks. 2014. Skyhorse Publishing, 226 p.
- Nissen L., Di Carlo E., Gianotti A. Prebiotic potential of hemp blended drinks fermented by probiotics. Food Research International, 2020, 131: 109029.
- Nutakor C., Essiedu J. A., Adadi P., Kanwugu O. N. Ginger Beer: An Overview of Health Benefits and Recent Developments. Fermentation, 2020, 6.4: 102.
- Osuntogun B., Aboaba O. O. Microbiological and physico-chemical evaluation of some non-alcoholic beverages. Pak. J. Nutr, 2004, 3.3: 188-192.
- Peres C. M. Review on fermented plant materials as carriers and sources of potentially probiotic lactic acid bacteria—with an emphasis on table olives. Trends in Food Science & Technology, 2012, 26.1: 31-42.
- Pradhan S., Mishra A., Sahoo S., Pradhan S., Babu P. J., Singh Y. D., Chanu N. B. Artemisinin Based Nanomedicine for Therapeutic Applications: Recent Advances and Challenges. Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine Volume 2, March 2022, 100064.
- Preedy V.R... Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety. 2016. Academic press.
- Rahayu E. S. Development of the Traditional Tape Ketan Into Probiotic Drink. Indonesian Food and Nutrition Progress, 2018, 15.1: 11-20.
- Ren Z., Yu X., Abu El Gasim A., Fakayode, O. A., Ma H., Sun Y., Zhou C. Combinative effect of cutting orientation and drying techniques (hot air, vacuum, freeze and catalytic infrared drying) on the physicochemical properties of ginger (*Zingiber officinale Roscoe*). 2021. LWT.
- Ryoiti K. Nutritional implications of ginger: chemistry, biological activities and signaling pathways, The Journal of Nutritional Biochemistry, Volume 86, 2020, P. 108486.
- Rohini S. Culturable endophytic bacteria of ginger rhizome and their remarkable multi-trait plant growth-promoting features. Current microbiology, 2018, 75.4: 505-511.
- Rusmarilin H. Soy-yamgurt probiotic drink as a natural potential of antioxidant. In: IOP Conf Ser Earth Environ Sci. 2018. p. 012087.
- Shankar I., Usha A. Probiotic microorganisms from non-dairy traditional fermented foods. Trends in Food Science & Technology, Volume 118, Part A, 2021, Pages 617-638.

Shukla Y., Singh M. Cancer preventive properties of ginger: a brief review. *Food and chemical toxicology*, 2007, 45.5: 683-690.

Thakur M., Deshpande H. W., Bhate M. A. Isolation and identification of lactic acid bacteria and their exploration in non-dairy probiotic drink. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2017, 6.4: 1023-1030.