

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Nataly Neves Oliveira Dos Santos

**APLICAÇÃO TECNOLÓGICA DE CULTURAS INICIADORAS PARA PRODUÇÃO
DE PÃO VIA *SOURDOUGH* TIPO II**

FLORIANÓPOLIS

2019

Nataly Neves Oliveira Dos Santos

**APLICAÇÃO TECNOLÓGICA DE CULTURAS INICIADORAS PARA PRODUÇÃO
DE PÃO VIA *SOURDOUGH* TIPO II**

Trabalho Conclusão do Curso de Graduação em Ciência e Tecnologia de alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do Título de Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Juliano De Dea Lindner

Florianópolis

2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária
da UFSC

Santos, Nataly

Aplicação tecnológica de culturas iniciadoras para
produção de pão via sourdough tipo II / Nataly Santos ;
orientador, Juliano De Dea Lindner, 2019.

84 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
Agrárias, Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos,
Florianópolis, 2019.

Inclui referências.

1. Ciência e Tecnologia de Alimentos. 2. Tecnologia .
3. Culturas Iniciadoras . 4. Fermento sourdough . 5. Pão .
I. De Dea Lindner, Juliano. II. Universidade Federal de
Santa Catarina. Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos. III. Título.

Nataly Neves Oliveira Dos Santos

**APLICAÇÃO TECNOLÓGICA DE CULTURAS INICIADORAS PARA PRODUÇÃO
DE PÃO VIA *SOURDOUGH* TIPO II**

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para
obtenção do Título de “Bacharel em Ciência e Tecnologia de
Alimentos” e aprovado em sua forma final.

Florianópolis, 26 de novembro de 2019.

Prof.^a Dra. Carmen Maria Oliveira Müller
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Juliano De Dea Lindner
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Dra. Maria Manoela Camino Feltes
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Dra. Ana Carolina Maisonnave Arisi
Universidade Federal de Santa Catarina

Este trabalho é dedicado a Deus e a todos que acreditaram em mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois com ele o impossível se torna possível.

Ao meu orientador prof. Dr. Juliano, obrigada por ter me aceito em seu laboratório a quase 2 anos, o senhor sempre acreditou em mim, obrigada por todos os seus ensinamentos, conselhos e projetos que pude participar, acrescentando muito em minha vida acadêmica.

A prof. Dra. Leidiane, umas das pesquisadoras de renome sobre a fermentação *sourdough*, você é uma inspiração para mim, além de coorientadora, se tornou uma grande amiga que espero levar para a minha vida íntima. Ao doutorando Ivan, obrigada por todas as risadas e caronas, você é uma pessoa incrível, que em tão pouco tempo se tornou extremamente especial. Ao mestrando e futuro doutorando do Laboratório Gabriel, que me ensinou muitas coisas quando eu era apenas a ic voluntária obrigada por toda a ajuda e pelos seus ensinamentos.

Ao Claudio Cartabiano, por toda a sua ajuda ao ter me ensinar sobre o universo da estatística.

Agradeço especialmente a Catharina, Nat, Karol, Fabi, ao grande Marcello, Michele, Renata e Mariana, vocês me trouxeram muita felicidade, obrigada por todas as conversas, conselhos e comidinhas, eu amo cada um de vocês do fundo do meu coração.

A minha amiga de Karina, por todos esses anos de amizade, por todos os conselhos, conversas, risadas por ter me apoiada quando mais precisava, obrigada amiga. A Mariana Maragno, por ter me dado força nas horas difíceis da escrita do tcc. A todos os meus amigos e amigas Natália Moraes, Dinah, Karin, Luan, Georgia, Alana, Mayra e Nathan, foram 5 anos de muita amizade, de muitas provas, de muitos resumos, risos, choros e alegrias compartilhadas.

Aos meus pais que sempre acreditaram em mim, sempre me ensinaram que a educação é uma das maiores riquezas que um pai poderia dar aos seus filhos, eu amo extremamente vocês. A minha irmã e melhor amiga Monyque, agradeço a Deus por ter a oportunidade de ser sua irmã. Aos meus tios Juliana e Gustavo, obrigada por sempre me acolher em sua casa quando ficava sozinha.

Aos meus avós Jorge e Maria que me hospedaram em sua casa nestes anos de graduação, vocês são tudo para mim!

A todos os meus professores que contribuíram para a minha formação acadêmica.

Não! Tentar não!

Faça.

Ou não faça.

Tentativa não há

Mestre Yoda

RESUMO

O fermento *sourdough* é formado por uma mistura constituída de água e farinha, na qual a fermentação ocorre pela ação de bactérias ácido lácticas (BAL) e leveduras. O fermento *sourdough* se divide em quatro classes. Dentre as classes pode-se destacar o *sourdough* tipo I, no qual a fermentação da mistura de farinha e água ocorre através da propagação espontânea entre BAL e leveduras, este tipo de fermento necessita de alimentação contínua. O *sourdough* tipo II, é caracterizado pela adição intencional de BAL selecionadas pela sua aptidão tecnológica. Este tipo de fermentação é considerado um novo segmento de interesse para a indústria da panificação, pois reduz o tempo de preparo do fermento, quando comparado ao tipo I, além de permitir a segurança microbiológica e a padronização dos pães obtidos. Este trabalho teve como objetivo estudar a adição de seis diferentes bactérias ácido lácticas, *Lactobacillus farciminis* 4841; *Leuconostoc citreum* 4900; *Lactobacillus plantarum* 21; *Lactobacillus fermentum* 17; *Weisella minor* 4451 e *Lactobacillus brevis* 4901, como culturas iniciadoras, para elaboração de três fermentos *sourdough*. Estes foram aplicados para obtenção de pães. Comparar suas características tecnológicas e físico-químicas às de pão formulado com a adição de fermento comercial, composto por *Saccharomyces cerevisiae*. Foi investigado como as culturas iniciadoras podem influenciar na acidez e crescimento de BAL, leveduras e volume específico dos fermentos *sourdough* e das massas dos pães formulados. Determinou-se a concentração de frutanos, acidez, vida de prateleira, cor e textura nos pães formulados com e sem a adição do fermento *sourdough*. Durante a fermentação, tanto do fermento *sourdough* quanto das massas, houve uma redução do valor do pH, aumento do índice de acidez e contagem de BAL, o mesmo não foi observado para a massa adicionada de *S. cerevisiae*. Ambas as massas obtiveram crescimento de volume específico, destacando-se a massa P1, formulada com o fermento F1. A redução de pH, diminuição na concentração de frutanos, aumento de acidez e volume específico também foi observado nos pães formulados com o fermento *sourdough*, o mesmo não foi observado para o pão contendo apenas *S. cerevisiae*. Sendo o pão P1, formulado com o fermento *sourdough* F1, obteve uma das maiores reduções de pH, maior volume específico e menor contagem de bolores e leveduras. Já o pão P2, formulado com o fermento *sourdough* F2, obteve a menor concentração de frutanos entre todos os pães formulados, o que indica seu consumo para consumidores com a Síndrome do intestino irritável e ou Sensibilidade ao glúten não-celiaca. Os pães não demonstram diferença entre os parâmetros de cor analisados. Para os parâmetros de textura estudados, não houve diferença estatística entre os pães durante o primeiro dia de armazenamento. O pão contendo apenas a adição de *S. cerevisiae* obteve maior valor de dureza, mastigabilidade e gomosidade após 5 dias de armazenamento. Sendo assim os aspectos físico-químicos e tecnológicos de pães, são modificados positivamente na presença do fermento *sourdough*.

Palavras-chave: Bactérias ácido lácticas. Panificação. Processo fermentativo. Amido. Bioprocessos.

ABSTRACT

Sourdough is a mixture of water and flour, in which fermentation occurs through the action of lactic acid bacteria (LAB) and yeast. *Sourdough* is divided into four classes, the main difference between them is correlated with the spread of microorganisms. Among the classes can be highlighted the type I *sourdough*, the fermentation of the mixture of flour and water occurs through the spontaneous propagation between LAB and yeast, this type of *sourdough* needs continuous feeding. Type II *sourdough* is characterized by the intentional addition of LAB selected for their technological process. This type of fermentation is considered a new segment of interest to the baking industry, as it reduces the baking time when compared to type I, besides allowing the microbiological safety and standardization of the breads obtained. This work aimed to study the addition of six different LAB, *Lactobacillus farciminis* 4841; *Leuconostoc citreum* 4900; *Lactobacillus plantarum* 21; *Lactobacillus fermentum* 17; *Weissella minor* 4451 and *Lactobacillus brevis* 4901 as starter cultures for the preparation of three *sourdough*. These *sourdough* were applied in the production of breads and compare their technological and physicochemical characteristics of bread formulated with the addition of commercial yeast, composed by *Saccharomyces cerevisiae*. It was investigated how starter cultures may influence the acidity and growth of LAB, yeast and specific volume of *sourdough* and formulated bread doughs. The concentration of fructans, acidity, shelf life, color and texture in the breads formulated with and without the addition of *sourdough* was determined. During the fermentation of both *sourdough*, there was a reduction in pH value, increase in acidity index and LAB count, the same was not observed for *S. cerevisiae* added mass. Both masses obtained specific volume growth, especially the mass formulated with F1 yeast. The reduction in pH, decrease in fructan concentration, increase in acidity and specific volume was also observed in breads formulated with *sourdough*, the same was not observed for bread containing only *S. cerevisiae*. P1 bread, formulated with *sourdough* F1, obtained one of the largest pH reductions, higher specific volume and lower yeast and mold count. Already the P2 bread, formulated with *sourdough* F2 obtained the lowest concentration of fructans among all formulated breads, which indicates its consumption for consumers with Irritable bowel syndrome and or Non-celiac gluten sensitivity. The breads show no difference between the analyzed color parameters. For the texture parameters studied, there was no statistical difference between the breads during the first day of storage. The bread containing only the addition of *S. cerevisiae* obtained higher hardness, chewability and gum value after 5 days of storage. This the physicochemical and technological aspects of bread are positively modified in the presence of *sourdough*.

Keywords: Lactic acid bacteria. Bakery. Fermentative process. Starch. Bioprocess.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema dos processos de produção do fermento <i>sourdough</i>	25
Figura 2 – Volume específico fermentos <i>sourdough</i> após 24 h de fermentação (g.mL ⁻¹).....	41
Figura 3 – Volume específico massas após 6 h de fermentação (g.mL ⁻¹).....	45
Figura 4 – Pão formulado com e sem a adição do fermento <i>sourdough</i>	46
Figura 5 – Pães com e sem fermento <i>sourdough</i> após 5 dias de armazenamento.....	50
Figura 6 – Volume específico pães no primeiro dia de armazenamento (g.mL ⁻¹).....	51

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Classificação Bactérias Ácido Láticas frequentemente isoladas a partir de <i>sourdough</i> do tipo I.....	25
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Microrganismos usados para a formulação dos fermentos <i>sourdough</i>	32
Tabela 2 – Composição dos pães e fermentos <i>sourdough</i>	34
Tabela 3 – Valores de pH e Acidez Total Titulável (TTA) no fermento <i>sourdough</i> no tempo 0 h e 24 h de fermentação.....	38
Tabela 4 – Contagens microbianas do fermento <i>sourdough</i> no tempo 0 h e 24 h de fermentação em log UFC.g ⁻¹	39
Tabela 5 – Valores de pH e Acidez Total Titulável (TTA) nas massas dos pães no tempo 0 h e 6 h de fermentação.....	42
Tabela 6 – Contagem microbiana de bactérias ácido lácticas nas passas dos pães no tempo 0 h e 6 h de fermentação (log UFC.g ⁻¹).....	44
Tabela 7 – Valores de pH e Acidez Total Titulável (TTA) nos pães formulados no primeiro e quinto dia de armazenamento.....	47
Tabela 8 – Contagem microbiana de bolores e leveduras nos pães, no primeiro e quinto dia de armazenamento (log UFC.g ⁻¹).....	49
Tabela 9 – Resultados de determinação da cor (L*, a*, b*, c* e h) no miolo dos pães no primeiro dia de armazenamento.....	52
Tabela 10 – Perfil de Textura dos pães no primeiro e quinto dia de armazenamento.....	54
Tabela 11 – Teste de Conover-Iman para a variável gomosidade.....	56
Tabela 12 – Teste de Conover-Iman para a variável mastigabilidade.....	57
Tabela 13 – Teste de Conover-Iman para a variável dureza.....	58
Tabela 14 – Concentração de Frutanos nos pães com e sem a adição de fermento <i>sourdough</i>	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BAL – Bactéria Ácido Láticas

Bf. – *Bifidobacterium*

CCA – Centro de Ciências Agrárias

CHO – Aldeído

EPS – Exopolissacarídeo

FODMAPs – Fermentable Oligosaccharides, Disaccharides, Monosaccharides and Polyols

Lb. – *Lactobacillus*

Lc. – *Leuconostoc*

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MRS – Man, Rugosa and Sharpe

OAC – Organismo da Avaliação da Conformidade Orgânica

PDA – Potato Dextrose Agar

pH – Potencial Hidrogeniônico

RAF – Raffinose

S. – *Saccharomyces*

SII – Síndrome do Intestino Irritado

SGNC – Sensibilidade ao Glúten não Celíaca

STA – Estaquiiose

TTA – Índice de Acidez Titulável

UFC – Unidade formadora de colônia

UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

YEPG – Yeast Extract Peptone Dextrose

Vc – Volume conhecido

Vl – Volume do pão

Vr – Volume preenchido pela semente

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1.1	Objetivo Geral	17
2.1.2	Objetivos Específicos	17
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1	PÃO	18
3.1.1	História do pão	18
3.2	CARACTERÍSTICAS E FUNÇÕES DOS INGREDIENTES DO PÃO	20
3.2.1	Farinha de trigo	20
3.2.2	Água	20
3.2.3	Açúcar	21
3.2.4	Sal	21
3.2.5	Fermento	21
3.2.5.1	Fermento Biológico	22
3.3	BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS	22
3.4	FERMENTAÇÃO <i>SOURDOUGH</i>	23
3.4.1	Classificação tipos de fermentação <i>sourdough</i>	25
3.4.1.1	<i>Sourdough</i> tipo I.....	25
3.4.1.2	<i>Sourdough</i> tipo II.....	26
3.4.1.3	<i>Sourdough</i> tipo III.....	27
3.4.1.4	<i>Sourdough</i> tipo IV.....	27
3.4.2	Efeitos da fermentação <i>sourdough</i> em pão	27
2.4.2.1	Efeitos sobre as proteínas e textura	28
2.4.2.2	Volume.....	29
2.4.2.3	Vida de prateleira e Bacteriocinas.....	29

2.4.2.4	Sabor e aromas.....	30
2.4.2.5	<i>FODMAPs</i>	30
2.4.2.6	Ácidos Orgânicos.....	31
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	32
4.1	MICROORGANISMOS E CONDIÇÕES DE CRESCIMENTO	32
4.2	FORMULAÇÃO DO FERMENTO <i>SOURDOUGH</i>	33
4.3	FORMULAÇÃO DOS PÃES	33
4.4	ÍNDICE DE ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL (TTA) E POTENCIAL HIDROGENIÔNICO (pH).....	34
4.5	TEXTURA	34
4.6	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	35
4.7	COR DOS PÃES	35
4.8	VOLUME ESPECÍFICO	36
4.9	FRUTANOS.....	36
4.10	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1	FERMENTO <i>SOURDOUGH</i>	37
5.2	MASSAS DOS PÃES	42
5.3	PÃES	46
6	CONCLUSÃO	61
	REFERÊNCIAS	63

1 INTRODUÇÃO

O fermento *sourdough*, também conhecido como fermento natural ou *levain*, é obtido pela mistura de farinha de trigo, ou outro cereal, e água, a partir da qual se forma uma pasta chamada de massa madre, que fermentará pela ação de bactérias ácidas lácticas (BAL) e leveduras. Tais microrganismos podem estar presentes naturalmente na farinha, na água e/ou no ambiente onde o *sourdough* é preparado, ou podem ser intencionalmente adicionadas como culturas iniciadoras. Cerca de 80 espécies de BAL de gêneros como *Lactobacillus* e 20 espécies de leveduras, como *Saccharomyces* e *Candida*, já foram isolados em *sourdough* no mundo todo (PATERSON, 2006).

Tradicionalmente, o *sourdough* é composto por microrganismos que se desenvolvem espontaneamente na massa, o que caracteriza o *sourdough* do tipo I. No entanto, devido ao crescente interesse da indústria alimentícia em aplicar a fermentação natural na obtenção de pães especiais, a elaboração tradicional do *sourdough* tem cedido espaço à adição de culturas de bactérias selecionadas à massa. Assim, a fermentação *sourdough* atualmente se classifica em quatro categorias, que diferem principalmente quanto ao modo de produção e à adição de culturas iniciadoras. A categoria de maior aplicação industrial é a classe tipo II, caracterizada pelo uso de BAL previamente selecionadas e reativadas como culturas iniciadoras, sendo possível desta maneira, reduzir o tempo de preparo do fermento natural, garantir a segurança microbiológica do fermento e padronizar os resultados da fermentação na qualidade dos pães (DE VUYST; VANCANNEYT, 2007; DE VUYST; NEYSENS, 2005). O *sourdough* é primordialmente destinado à produção de pães, mas este tipo de fermentação pode ser aplicado em todos os produtos oriundos da indústria da panificação como bolos, tortas, pizzas e biscoitos (GOBETTI *et al.*, 2005).

As BAL podem ser homofermentativas obrigatórias ou heterofermentativas, obrigatórias ou facultativas, o que influencia diretamente nos produtos finais de suas vias metabólicas, como dióxido de carbono, ácido acético e principalmente, ácido láctico, além de outros metabólitos. A atividade metabólica desses microrganismos afeta as características químicas, físicas e nutricionais dos pães produzidos a partir do *sourdough*, como sua acidificação, textura, digestibilidade, aroma, etc (GOBETTI *et al.*, 1999; SILVA, 2015).

O fermento natural pode proporcionar diversos benefícios à qualidade nutricional, sensorial e tecnológica dos produtos nos quais é aplicado, e a sua importância está associada,

entre outras funcionalidades, à capacidade de originar ácidos orgânicos, compostos antifúngicos e antibacterianos. Conseqüentemente, tais capacidades, podem aumentar a vida de prateleira do produto; reduzir o índice glicêmico após ingestão; melhorar as propriedades de textura e sabor, aumentar a disponibilidade de compostos bioativos e contribuir para o surgimento de diversos aromas que enriquecem sensorialmente os produtos fermentados (ARENDRT; LIAM; DAL BELLO, 2007; DE VALDEZ *et al.*, 2010; FLANDER *et al.*, 2011; GEREZ *et al.*, 2009). Além disso, nosso grupo de pesquisa tem demonstrado pioneiramente a capacidade do fermento natural em reduzir a concentração de *FODMAPs* (do inglês, *Fermentable Oligo-, Di-, Mono-Saccharides And Polyols*) em pães (MENEZES *et al.*, 2018). Os *FODMAPs* são uma classe de carboidratos, a maioria de cadeia curta, que em indivíduos sensíveis, pode desencadear os sintomas da Síndrome do Intestino Irritável (SII) e da Sensibilidade ao Glúten Não Celíaca (SGNC) (BÖHN, 2015).

O pão é considerado um dos alimentos mais consumidos no mundo (HAGER *et al.*, 2012). Segundo o Sebrae, serviço brasileiro de apoio às micro e pequenas empresas, (2017), uma das indústrias que mais cresce no Brasil é a de panificação, estando entre os seis maiores segmentos e contribuindo com uma participação de 36% na indústria alimentícia. Cerca de 86% dos pães consumidos pelos brasileiros são artesanais, embora não necessariamente produzidos com fermento natural.

O pão *sourdough* tem atraído atenção da indústria nas últimas décadas, como resposta ao mercado consumidor mais exigente. Desta forma, o mercado da panificação tem se dedicado a resgatar a cultura de fabricar seu próprio fermento natural, com o objetivo de obter pães artesanais, com mais sabor e aroma. No entanto, a aplicação industrial do *sourdough* tem ainda alguns desafios a superar, como a falta de padronização das características de qualidade sensorial e tecnológica dos pães, o tempo prolongado de preparo do fermento e a segurança microbiológica do mesmo, quando se emprega o *sourdough* tradicional (MENEZES *et al.*, 2018). Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi produzir três fermentos *sourdough* a partir de cepas preliminarmente selecionadas de BAL combinadas em co-cultura e avaliar o efeito de sua aplicação na fermentação de pães.

2 OBJETIVOS

2.1.1 Objetivo Geral

Desenvolver três fermentos *sourdough* do tipo II elaborados a partir de diferentes culturas iniciadoras de BAL na formulação de pães e avaliar o efeito da fermentação *sourdough* sobre características nutricionais e tecnológicas dos pães.

2.1.2 Objetivos Específicos

- Elaborar três fermentos *sourdough* do tipo II, usando diferentes combinações de cepas de BAL (*Lactobacillus farciminis*, *Leuconostoc citreum*, *Lactobacillus plantarum*, *Weisella minor*, *Lactobacillus brevis* e *Lactobacillus fermentum*);
- Estudar o desempenho de cada co-cultura iniciadora nas características do fermento, avaliando pH, acidez, enumeração de células de BAL, leveduras e volume específico;
- Aplicar os três fermentos na formulação de pães e avaliar a influência de cada um sobre pH, acidez, frutanos totais, volume específico, cor, textura, contagem de leveduras das massas e bolores e leveduras dos pães após o forneamento, comparando-os a um tratamento controle (fermentação por *Saccharomyces cerevisiae*);
- Avaliar a capacidade dos fermentos *sourdough* de reduzir o teor de *FODMAPs* (frutanos totais) nos pães;
- Investigar a vida-de-prateleira dos produtos, por contagem de bolores e leveduras e análise do perfil de textura no primeiro e no quinto dia após a elaboração dos pães.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 PÃO

O pão é definido como um produto obtido a partir da mistura de farinha de trigo, ou de outras espécies de grãos, com um líquido (normalmente água). O pão pode conter ainda outros ingredientes, desde que não modifiquem as características intrínsecas relacionadas, além disso, pode apresentar diferentes texturas, coberturas, recheios e variados formatos. É considerado um processo resultante de fermentação ou não, que necessita de cocção (BRASIL, 2000).

3.1.1 História do pão

Antigos registros relatam que povos nômades, localizados no oriente médio, faziam uso de sementes selvagens, de difícil mastigação e digestão. Com o objetivo de torná-las mais bioacessíveis, as sementes passaram pelo processo de moagem, transformando-as em um pó, chamado de farinha. Com a adição de água, a farinha, se transformava em uma massa, que quando assada se tornava mais volumosa, de fácil mastigação e sabor agradável. Assim surgiu o pão (CAUVAIN; YOUNG, 2009).

Uma das civilizações que se destacou, como principal produtora de pão, foi a egípcia. No Egito o pão era considerado um dos alimentos mais importantes, nas escavações arqueológicas da tumba do faraó Ramsés II, ano 1200 A.C., foram encontradas gravuras da fabricação do pão, provando que, além de nutrir a população, o pão, foi considerado, durante muito tempo, uma moeda de troca na região. Já os gregos, em 250 A.C., estabeleceram a comercialização do pão em padarias. A comercialização do pão cresceu de modo exponencial depois de 30 A.C., quando ocorreu a dominação do império romano sobre o Egito (CAUVAIN; YOUNG, 2009).

No século XVII, com a ascensão da revolução industrial, a produção do pão mudou drasticamente. O surgimento de máquinas a vapor e fogões forjados com ferro, fez com que a produção deixasse de ser caseira e para se tornar industrializada. Entretanto, foi apenas no início do século XVIII, após a descoberta do cientista Louis Pasteur, que obteve-se o conhecimento científico do uso de leveduras, explicando assim o processo bioquímico que ocorre durante o processo de fermentativo na produção de pães, e outros alimentos

fermentados e possibilitando a elaboração dos pães consumidos nos tempos atuais (BAUMGARTEN, 2007).

O pão pode diferir de diversas maneiras, como tipo de grão usado para fabricação da farinha, tipo de fermentação da massa, ingredientes usados na sua formulação e cocção. Tais variações são associadas a aspectos culturais e principalmente à diversidade de grãos disponíveis em cada região e outros fatores como clima e solo, que alteram características das farinhas (CAUVAIN; YOUNG, 2009).

Apesar de existir uma grande diversidade de tipos de cereais, o termo pão se refere a um produto, que contenha essencialmente farinha, originada de grãos (HAGER *et al.*, 2012). Cada região, no planeta, possui seu grão típico, gerando diferentes tipos de farinhas, originando diferentes tipos de pães. Na América do Norte, o primeiro grão trabalhado para a fabricação de farinhas, com o intuito de fabricação de pão, era conhecido como *Red Fife*. Este não era considerado um grão ideal para a panificação, mas com o advento de novas tecnologias e alterações genéticas, foram criadas novas espécies de grãos capazes de se adequar ao diferentes clima dos países norte-americanos, gerando farinhas ideais para a fabricação de pães (BAILEY, 1975).

No Oriente Médio, os pães são produzidos de diversos modos, de acordo com o clima, granulometria da farinha, adequações religiosas, etc. Países como Paquistão, Iran, Omã, Kuwait os pães são feitos de maneira a manter a coloração branca, baixa estatura (pequeno crescimento da massa ou nenhum crescimento) e em algumas ocasiões há o elevado uso de especiarias. Grande parte do desenvolvimento de técnicas e receitas de pães ocorreram por causa da cultura de imigrantes, por exemplo: no Egito, na Turquia, na Tunísia, na Líbia países com grande número de imigrantes franceses os pães eram tentativas de produzir uma baguete francesa (BAILEY, 1975).

No Brasil, o cultivo do grão de trigo se iniciou na região nordeste em 1534. Ao longo do tempo, a atividade panificadora foi ampliada e melhorada com a chegada de imigrantes italianos, que trouxeram diferentes receitas para a fabricação de pães, bem como mão-de-obra especializada. No século XX, no estado de São Paulo, as padarias estilo europeu, se tornaram comuns e por gosto da elite. O pão mais fabricado no país, foi chamado de pão Francês, pois era uma cópia idêntica da baguete francesa, e se tornou o mais consumido no país (GUIMARÃES; OLIVEIRA; SILVA, 2014).

3.2 CARACTERÍSTICAS E FUNÇÕES DOS INGREDIENTES DO PÃO

Os ingredientes mais comuns usados para a formulação do pão são: farinha de trigo, água, fermento, açúcar e sal (EL DASH, 1982; FANI, 2009).

3.2.1 Farinha de trigo

A farinha de trigo é o produto obtido a partir do trigo (*Triticum durum*), resultante de processos como trituração e moagem, tendo como objetivo diminuir o tamanho do grão (BRASIL, 2017). Para o processamento da farinha branca o grão deve estar limpo (livre de palhas, e grãos murchos), saudável e em período de desgerminação, as operações unitárias seguintes são umidificação, seguida do polimento, trituração, peneiração e separação do farelo da farinha (GUARIENTI, 1996).

Para ser considerada orgânica a farinha de trigo deve possuir a certificação disponibilizada por um OAC (Organismo da Avaliação da Conformidade Orgânica), em conjunto com o MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), assim o produto deve seguir regras e diretrizes descritas pela legislação, como a proibição do uso de agrotóxicos (MAPA, 2007; MAPA, 2005). A farinha de trigo é o elemento principal para a produção de pães, uma vez que possuem características que garantem elasticidade e volume, propriedades geradas pelo glúten, principal proteína encontrada no trigo. A qualidade da farinha será influenciada pela quantidade de proteínas presentes no grão de trigo. Para a fabricação de pães é necessário que a farinha possua no mínimo 30% de glúten (EMBRAPA, 2019).

3.2.2 Água

A água possui características físico-químicas que permitem que seja usada como solvente universal. É um dos ingredientes mais importantes para a formação do pão, ela deve ser potável e contribui com a capacidade de hidratar o amido presente na farinha de trigo, cooperando assim com a formação da rede proteica formadora do glúten (GUAGLIA, 1991).

3.2.3 Açúcar

O açúcar de mesa, também chamado de sacarose, é o termo genérico para carboidratos cristalizados comestíveis. É considerado um ingrediente não essencial para a produção de pães, logo sua presença não é crucial para o processo de desenvolvimento da massa, porém a sua adição confere benefícios ao processo de formulação do pão (CANELLA-RAWLS, 2005). O açúcar pode desempenhar diversas funções durante a elaboração do pão. Além de ser considerado um realçador de sabor, atua na retenção da umidade da massa e age sob a crosta do pão, por meio da reação de Maillard, tonalizando a casca do pão com coloração marrom ou dourada. Atua ainda como substrato para leveduras e bactérias durante a fermentação da massa. Embora a farinha possua naturalmente carboidratos, como amido, maltose, glicose e frutose, a adição proposital de sacarose torna o processo de fermentação mais rápido (FANI, 2009).

3.2.4 Sal

O sal de cozinha (Cloreto de sódio, NaCl), exerce influência direta no sabor e em outras propriedades tecnológicas, como por exemplo, contribui para o fortalecimento da rede proteica formadora do glúten, em razão de que a gliadina tem maior solubilidade em solventes polares e, quando a massa é adicionada de sais, as ligações se tornam mais fortes, aumentando assim, as propriedades viscoelásticas da massa (IGNÁCIO *et al.*, 2013).

3.2.5 Fermento

Os fermentos são caracterizados como geradores de gás carbônico (CO₂), por isso afetam diretamente ao crescimento da massa. Para que a reação de desprendimento do CO₂ ocorra, condições favoráveis como quantidade de substrato disponível, pH e temperatura devem ser fornecidas. O fermento possui 3 classificações: fermento físico, fermento químico, e, um dos mais usados industrialmente, fermento biológico, que inclui a classe dos fermentos naturais, fermento seco ou fresco (CASTRO; MARCELINO, 2012; KATZ, 2014).

De maneira geral, o fermento proporciona a massa do pão, aumento de volume, porosidade e sabor característico (STEFANELLO, 2014).

3.2.5.1 Fermento Biológico

A fermentação biológica pode ser definida como o resultado da utilização de fermento biológico tanto natural quanto industrial, com envolvimento de microrganismos selecionados ou não, para atuar na fermentação (BRASIL, 2000).

O fermento biológico industrial é obtido a partir de uma triagem de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, possuindo duas classificações: fermento biológico industrial seco e fermento biológico industrial fresco (BRASIL, 1977).

A levedura *S. cerevisiae* é muito usada na indústria cervejeira e na panificação. É um microrganismo anaeróbio facultativo, podendo apresentar atividade metabólica tanto em condições aeróbicas, como as que ocorrem no momento de sovatação da massa do pão, quando o objetivo é inserir oxigênio por meio da movimentação, quanto em condições anaeróbicas, durante o crescimento da massa do pão, em que a difusividade de oxigênio é mais difícil (GAENSLY *et al.*, 2011). A levedura é considerada um biocatalisador, pois catalisa processos bioquímicos, como produção de CO₂ e etanol. Também é considerada acessível, porque apresenta grande disponibilidade e baixo custo. É um microrganismo seguro (geralmente considerado como seguro, do inglês *GRAS – Generally Recognised As Safe*) e termicamente estável, mantendo seu metabolismo a temperatura de, 20 ± 1 °C (BARALDI; CORREIA, 2004)

A função da *S. cerevisiae* durante a fermentação do pão é converter os carboidratos presentes no meio em gás carbônico, uma pequena quantidade de etanol, produtos voláteis, etc. O gás carbônico produzido pode ser considerado um dos principais produtos desse metabolismo fermentativo e será o agente responsável pelo aumento da massa ocasionado pela formação de alvéolos (AQUARONE, 2011 *apud* VITTI, 2001).

3.3 BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS

Bactérias ácido lácticas recebem esse nome porque convertem carboidratos fermentáveis em ácido láctico, principalmente (SUN *et al.*, 2014). As BAL constituem um grupo bastante diverso, no sentido do formato, pois podem apresentar forma de bastonetes, cocos ou tétrades. São bactérias gram-positivas, geralmente imóveis pela ausência de flagelos, não formam esporos, crescem em anaerobiose e toleram a presença do oxigênio, são acidificantes de maneira geral e crescem em baixos valores de pH (SILVA, 2011a). A

maioria das BAL são mesófilas, algumas linhagens são termófilas e psicrófilas (FOX *et al.*, 2000).

As BAL possuem grande importância na área de alimentos, principalmente na elaboração de produtos fermentados, como iogurtes, conservas, bebidas alcoólicas, carnes, pescados, pães, etc. (OLIVERA, 2011). Na indústria da panificação as BAL atuam predominantemente como agente fermentador em pães fermentados naturalmente a partir do *sourdough* (CLARKE; ARENT, 2005).

3.4 FERMENTAÇÃO *SOURDOUGH*

O *sourdough* é um tipo de fermento natural, formado pela mistura de farinha de trigo ou outro cereal e água, ou outros líquidos, fermentado pela ação de BAL e leveduras, que podem estar presentes naturalmente na farinha, na água e no ambiente de produção ou podem ser intencionalmente adicionadas à massa (GOBBETTI *et al.*, 2014; WOOD, 1997).

Em relação às fermentações espontâneas, um único *sourdough* pode abrigar de duas a seis espécies de BAL e leveduras (MINERVINI *et al.*, 2014). No mundo todo, mais de 80 espécies de bactérias ácidas lácticas, predominantemente do gênero *Lactobacillus* e 20 espécies de leveduras, como *Saccharomyces* e *Candida*, já foram isoladas a partir de diversas amostras de *sourdough*. Durante a fermentação do *sourdough* as BAL desenvolvem em simbiose com as leveduras presentes na massa madre e estão em uma concentração celular de 10^8 UFC.g⁻¹ em média, sendo responsáveis pela acidificação e ação fermentadora da massa (PATERSON, 2006).

Diversos fatores podem influenciar na quantidade de bactérias e leveduras e na composição da microbiota durante a fermentação desenvolvida espontaneamente, como tipo e origem da farinha, temperatura de manutenção do fermento, teor de água e duração do processo de fermentação (NIONELLE; RIZZELLO, 2016). Dentre as espécies comumente isoladas, são reconhecidas três classes de BAL, as homofermentativas obrigatórias, as heterofermentativas obrigatórias e as heterofermentativas facultativas, conforme descrito no quadro 1.

Quadro 1 – Classificação das Bactérias Ácido Láticas frequentemente isoladas a partir de *sourdough* do tipo I

CLASSE	FUNÇÃO	EXEMPLOS
Homofermentativa Obrigatória	Produzem uma molécula de ácido láctico pela fermentação de uma molécula de glicose, e sintetizam também outras substâncias em menor concentração como diacetil, acetaldeído e hexanal. São responsáveis pelo aroma e acidez característico da fermentação <i>sourdough</i> .	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ; <i>Lactobacillus farciminis</i>
Heterofermentativa Facultativa	Produzem a partir da molécula de glicose produtos como ácido láctico, ácido acético, dióxido de carbono e uma baixa quantidade de etanol. São responsáveis pelo aroma e volume dado ao fermento e massa do pão.	<i>Lactobacillus fermentum</i> ; <i>Lactobacillus brevis</i> ; <i>Leuconostoc citreum</i>
Heterofermentativa Obrigatória	Em circunstâncias abundantes de glicose, possui a capacidade de deteriorar a molécula de pentose e glutamato por meio da via metabólica chamada de Pentose Fosfato ou Fosfocetolase, ocasionando na produção de dióxido de carbono, ácido láctico, ácido acético e/ou etanol. Responsáveis pelo aroma e volume dado ao fermento e massa do pão.	<i>Lactobacillus plantarum</i> ; <i>Lactobacillus casei</i>

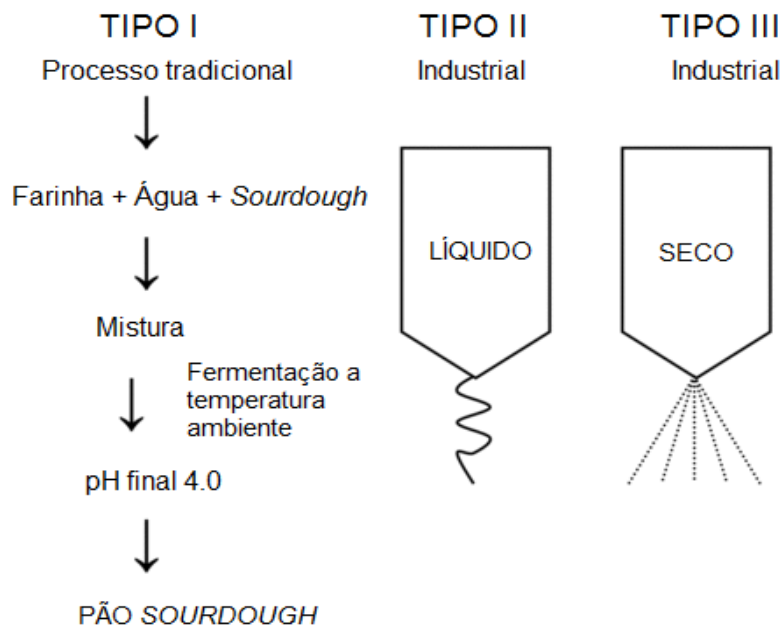
Fonte: Axelsson (2004); Silva (2015). Adaptado.

A fermentação *sourdough* era considerada um método de fermentação relativamente demorado, pois havia a necessidade de que os microrganismos se propagassem naturalmente pela massa. Porém com o advento da fermentação com o uso de leveduras já selecionadas e específicas, como *S. cerevisiae*, a arte de fazer o próprio fermento foi deixando de ser praticada (BRANDT, 2007; FADANI, 2012). Estudos recentes apontam que, os países que mais utilizam a fermentação natural são a Itália e a França (GOBBET, M., GÄNNZLE, 2013 *apud* CAPPELLE *et al.* 2013; SEIBEL; BRUMMER, 1991). O fermento natural reapareceu nas últimas décadas devido ao aumento da procura dos consumidores por produtos menos processados e que atribuam benefícios à saúde (APLEVICZ *et al.*, 2013b).

3.4.1 Classificação tipos de fermentação *sourdough*

Segundo Siepmann *et al.* (2018), o *sourdough* é classificado de acordo com o método tecnológico e o tipo de fermentação usado para sua elaboração, podendo ser *Sourdough* tipo I, II, III, como mostrado na figura 1 e o mais recentemente relatado *sourdough* tipo IV.

Figura 1- Esquema dos processos de produção do fermento *sourdough*



Fonte: Chavan, Chavan. (2011). Adaptado.

3.4.1.1 *Sourdough* tipo I

O *sourdough* tipo I é semelhante aos processos tradicionais realizados há séculos atrás (CORSETTI; GOBBETTI; SMACCHI; 2007). É formado pela mistura de farinha de trigo ou outro cereal e água, na qual a fermentação tem início a partir da propagação espontânea de BAL e leveduras que estão no ambiente, ou na farinha, a temperatura entre 20 °C e 30 °C, e pH próximo de 4,0. Nesse tipo de *sourdough* podem ser encontrados BAL dominantes: *Lactobacillus sanfranciscensis* e *Lactobacillus pontis*, entre outras espécies como: *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus brevis*, e *Lactobacillus farciminis* (DE VUYST *et al.*, 2002).

Neste tipo de *sourdough*, o fermento requer alimentação por meio de *back-slopping*. Ou seja, o fermento é alimentado de forma contínua, com as mesmas proporções de água e

farinha, realizando assim uma propagação natural dos microrganismos presentes no fermento. Este processo proporciona ao fermento uma seleção competitiva de microrganismos até que seja estabelecida uma comunidade microbiana estável, o que ocorre após sete a dez dias de propagação (MENEZES *et al.*, 2019a).

3.4.1.2 *Sourdough* tipo II

O *sourdough* tipo II é formado por BAL selecionadas e reativadas. As BAL são previamente selecionadas, pela sua capacidade de produzir compostos aromáticos, acidificação entre outros, para serem adicionados a massa madre (farinha e água), conferindo assim características singulares ao *sourdough* (DE VUYST; NEYSENS, 2005; PAPADIMITRIOU, 2019). Após 24 horas de fermentação, a temperaturas próximas a 30 °C, o pH pode chegar a 3,5 (BÖCKER; STOLZ; HAMMES, 1995).

A cultura iniciadora adicionada ao *sourdough*, por se encontrar em maior concentração, inibe os microrganismos que se encontram naturalmente na farinha e na água (SIEPMANN, 2019). Diversos microrganismos podem ser adicionados neste tipo de fermentação, tanto homofermentativos quanto heterofermentativos, tais como: *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. farciminis*, *Lb. brevis*, *Lb. fermentum*, *Lactobacillus frumenti*, *Lactobacillus reuteri*, *W. minor*, todos com a finalidade de sintetizar produtos que oferecem ao *sourdough* as características que se distinguem das demais fermentações (MÜLLER *et al.*, 2001; PAPADIMITRIOU, 2019; SIEPMANN, 2019).

O *sourdough* tipo II pode ser chamado também de fermento acelerado. Com o advento da industrialização, o setor de panificação necessitou de uma solução para produzir uma grande quantidade de pães, que mantivesse a mesma qualidade de pães produzidos artesanalmente (DE VUYST; NEYSENS, 2005; PAPADIMITRIOU, 2019; SIEPMANN, 2019). Este tipo de fermentação é considerado um novo segmento para a indústria da panificação, já que tornou possível reduzir o tempo de preparo do fermento natural de uma semana, no mínimo, para apenas algumas horas, já que, quando comparado ao *sourdough* tipo I, o tipo II não necessita da alimentação *back-slopping*, tornando assim o processo de fermentação mais rápido (MENEZES *et al.*, 2019a). Massas fermentadas usando *sourdough* tipo II exibem maior rendimento quando comparadas as fermentações convencionais, usando apenas a levedura *S. cerevisiae* e apresentam chances menores de contaminação por bolores e

leveduras, por ser um processo de apenas uma etapa (SIEPMAN, 2019; MÜLLER, *et al.*, 2001).

3.4.1.3 *Sourdough* tipo III

O *sourdough* tipo III é a forma desidratada ou seca do tipo II. As técnicas mais usadas para a produção do o *sourdough* tipo III são a secagem por aspersão e a secagem em tambor. Esse tipo de fermentação é a mais usada comercialmente, podendo apresentar inúmeras vantagens em relação ao tipo I e II, como armazenamento, manuseio e distribuição, além de proporcionar ao consumidor um produto pronto para uso (CHAVAN; CHAVAN, 2011; PAPADIMITRIOU, 2019).

3.4.1.4 *Sourdough* tipo IV

A fermentação *sourdough* tipo IV é considerada uma tecnologia recente. Culturas iniciadoras são aplicadas na massa madre dando início ao processo de fermentação. Assim a massa madre é alimentada da mesma maneira que o *sourdough* tipo I, por meio da propagação *back-slopping*. Logo, se os microrganismos propagados ao longo dos dias de fermentação forem mais fortes que a cultura iniciadora, adicionada intencionalmente, esta será inibida pela microbiota natural presente no fermento. Isto se deve ao fato de que, a cultura iniciadora não esta acostumada ao ambiente semi sólido, para realizar seu metabolismo e competir com microrganismos, que já são típicos deste ambiente de propagação. Logo, para obter sucesso, neste novo tipo de fermentação, diversas variáveis devem ser consideradas, como tempo de fermentação e qualidade da farinha, para que as culturas iniciadoras e a microbiota natural desenvolvam boa interação. Novos estudos estão sendo realizada sobre esta nova classe de *sourdough* (PAPADIMITRIOU, 2019; SIEPMANN, 2019; DE VYUST *et al.*, 2014; SIEPMANN, 2019; MINERVINI *et al.*, 2010; SIRAGURASA *et al.*, 2009).

3.4.2 Efeitos da fermentação *sourdough* em pão

A fermentação *sourdough* é conhecida como uma biotecnologia que possui a capacidade de melhorar diversos aspectos de produtos oriundos da indústria da panificação,

alterando propriedades reológicas, atuando no aumento de vida de prateleira e melhorando diversos aspectos sensoriais. Nos últimos quinze anos diversas pesquisas têm sido realizadas para avaliar a importância e os efeitos da fermentação *sourdough* (THE BENEFITS OF SOURDOUGH, 2013). A fermentação *sourdough* fornece diversos benefícios tecnológicos tanto à massa madre quanto ao produto final, o pão, dentre eles estão melhorias na textura e no volume; aumento da vida de prateleira; aumento da biodisponibilidade de minerais e digestibilidade proteica, produção de aromas; redução de *FODMAPs* e produção de bacteriocinas (CORSETTI; GOBBETTI; SMACCHI, 1996; MENEZES *et al.*, 2018b; SAKANDAR, 2019).

Existem inúmeras atividades metabólicas que são atribuídas à ação BAL e que afetam as propriedades dos pães, entre elas destacam-se acréscimo de sabor e aroma à massa, redução de fatores antinutricionais, conversão de substâncias tóxicas e produção de substâncias antimicrobianas (bactericidas e fungicidas) (CORSETTI; SETTANI, 2007). Por meio de alterações bioquímicas tanto em proteínas quanto em carboidratos, presentes na farinha de trigo, a fermentação *sourdough* tem como finalidade oferecer ao consumidor um produto com uma qualidade superior frente ao produto obtido pela fermentação convencional, feita com *S. cerevisiae* (DE VYUST; NEYSENS, 2005).

3.4.2.1 Efeitos sobre as proteínas e textura

Um dos benefícios notórios do *sourdough* é a capacidade de hidrolisar as proteínas do trigo, gliadina e glutenina, que juntas formam o glúten. O conjunto das propriedades apresentadas por essas proteínas oferecem à massa formadora do pão viscoelasticidade e maior aprisionamento do dióxido de carbono. O efeito da fermentação sobre as proteínas afeta diretamente a qualidade, textura, quantidade de aminoácidos livres, volume e digestibilidade (GOBBETTI *et al.*, 2014; GANZLE; LOPONEN; GOBBETTI, 2008).

A acidificação microbiana altera o pH da massa para o ideal das proteinases dos cereais (proteólise primária). A acidificação e a redução das ligações dissulfeto nas proteínas do glúten por lactobacilos homo e heterofermentativos, degradam o glúten em peptídeos menores, interrompendo a rede do glúten e aumentando a solubilidade das proteínas do mesmo. A hidrólise de peptídeos (proteólise secundária) pelos lactobacilos do fermento acumula aminoácidos na massa (GANZLE; LOPONEN; GOBBETTI, 2008). Além disso, inúmeros peptídeos bioativos liberados a partir da hidrólise do glúten foram encontrados na

massa fermentada por *sourdough*, entre eles vários antioxidantes (GOBBETTI *et al.*, 2014), antifúngicos (RIZELLO *et al.*, 2011) e anti-hipertensivos (OMEDI *et al.*, 2016). A síntese desses compostos tem sido associada à ação de enzimas proteolíticas microbianas e vegetais (GOBBETTI *et al.*, 2014).

Quanto à textura, os ácidos orgânicos produzidos pelas BAL afetam as frações de proteína e amido da farinha e a queda no pH associada à produção de ácido aumenta a atividade de proteases e amilases, retardando o endurecimento do pão (BARTKIENE, *et al.*, 2017). Esse efeito aumenta o valor nutricional do pão, quando comparado a pães elaborados com fermentação por *S. cerevisiae* e também aumenta sua extensibilidade e amolecimento da massa do pão, diminuindo assim o retrogradação do amido e conseqüentemente o endurecimento da parte interior do pão (AXFORD, 1968; KATINA *et al.*, 2005).

Além disso, algumas espécies de BAL como *L. plantarum* e *Lc citreum* são capazes de produzir Exopolissacarídeos (EPS), biopolímeros microbianos exógenos que possuem a capacidade de melhorar diversas propriedades de textura e retardar o endurecimento do pão, prolongando sua vida útil, além de serem compostos considerados prebióticos (DERTLI *et al.*, 2016; KETABI *et al.*, 2008; TORRIERI *et al.*, 2014; NUNES, 2018).

3.4.2.2 Volume

A produção de CO₂ é responsável pelo crescimento do pão. A associação entre BAL (*Lactobacillus sanfranciscensis*, *Lactobacillus plantarum*) e leveduras, resultam na produção de CO₂ mais rápido, diminuindo em até um terço o tempo de fermentação. Outro fator que afeta o volume do pão é a estrutura do glúten. O ácido láctico, produzido por BAL como *Lactobacillus*, é responsável por uma estrutura mais elástica do glúten (GOBBETTI, 1998).

3.4.2.3 Vida de prateleira e Bacteriocinas

O prazo curto da vida de prateleira de produtos oriundos da indústria de panificação é considerado grave um problema. A deterioração desses produtos geralmente está associada à mudanças que ocorrem na porção interior dos produtos, que se iniciam a partir do surgimento de microrganismos prejudiciais a saúde ou deteriorantes (BECHETEL *et al.*, 1953; DE DEA LINDNER *et al.*, 2013). Os ácidos orgânicos produzidos pelas BAL presentes no fermento

sourdough diminuem o pH do pão inibindo assim o aparecimento de deteriorantes, como *Penicillium*; *Aspergillus*; *Fusarium*, *Bacillus sp.* que são geralmente associados ao menor tempo de prateleira de diversos produtos (CORSETTI, *et al.*, 1996; KIRSCHNER, VON HOLY, 1989).

As bacteriocinas são proteínas, ou pequenos peptídeos produzidos dentro do ribossomo de algumas bactérias biologicamente ativas, como BAL. São liberadas de dentro do meio celular quando o microrganismo sofre alguma condição de estresse excessivo, como alterações de temperatura e pH. São termoestáveis e possuem a função de inibir tanto bactérias gram-positivas quanto gram-negativa como *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum* e *Listeria monocytogenes* (CORSETTI; SETTANNI; VAN SINDEREN, 2006; DE MARCO, 2019; SCHITTLER, 2012). A produção de bacteriocinas pelas BAL presentes na fermentação *sourdough* oferece ao pão *sourdough* atividade contra microrganismos patógenos e deteriorantes, ocasionando assim, o aumento de vida de prateleira do produto (CORSETTI; GOBBETTI; SMACCHI, 1996; CORSETTI; SETTANNI; VAN SINDEREN, 2006; MESSENS; DE VUYST, 2002; RASCH; KNOCHEL, 1998).

3.4.2.4 Sabor e aromas

O sabor e odor do pão *sourdough* são diretamente influenciados pela fermentação dos carboidratos presentes na massa madre. Diversos compostos voláteis podem ser formados pelas BAL durante a fermentação e liberados durante o forneamento dos pães, proporcionando um conjunto de aromas característico do pão obtido por fermentação natural e que o difere dos pães produzidos pela fermentação comercial (VERMEULEN *et al.*, 2006).

O uso de leveduras como *Saccharomyces* e *Hansenula*, em conjunto com o fermento *sourdough*, fornecem a massa do pão um aumento significativo na produção de compostos como 3-metilbutanol, etanol e metilpropanol, responsáveis pelo aumento de aroma do pão (HANSEN; SCHIEBERLE, 2005).

3.4.2.5 FODMAPs

Segundo Menezes *et al.* (2019b), um dos benefícios nutricionais mais importantes que a fermentação *sourdough* proporciona ao pão é a redução de FODMAPs. Os FODMAPs

(Fermentáveis, oligossacarídeos, dissacarídeos, monossacarídeos e polióis) são caracterizados por ser um grupo heterogêneo de compostos, como carboidratos de cadeias curtas, que podem ser mal digeridos, podendo apresentar uma variedade de efeitos no gastrointestinais. Dentro dos *FODMAPs* pode-se encontrar a lactose, frutose em excesso de glicose, frutanos e galacto-oligossacarídeos (rafinose e estaquiose), polióis de açúcar (sorbitol, manitol) e frutooligossacarídeos (nistose e kestose) (MUIR *et al.*, 2009). Por ser consumido diariamente, em muitos países do mundo, o pão representa uma proporção significativa da ingestão de FODMAPs. Os frutanos são os principais FODMAPs encontrados em produtos à base de trigo, como o pão (MENEZES *et al.*, 2018; BIESIEKIERSKI *et al.*, 2011; SHEWRY; HEY; 2015; ZIEGLER *et al.*, 2016). Frutanos são polímeros de frutose, podendo ser encontrados em diversos alimentos, como o trigo. São fibras alimentares solúveis, resistentes a enzimas, presentes no intestino humano (FILISSETTI, 2002).

O consumo de FODMAPs pode ser prejudicial à saúde, e esta diretamente associado, ao aparecimento de doenças intestinais, como a sintomas da Síndrome do Intestino Irritável (SII) e o aparecimento de sintomas relacionados à sensibilidade ao glúten não celíaca (SGNC) (BARRET, 2017; SKODJES *et al.*, 2018). Diversos estudos realizados sobre a redução do consumo de alimentos com FODMAPs demonstram resultados positivos no tratamento do SII e SGNC (ZANNINI; ARENT, 2018; BIESIEKIERSKI *et al.*, 2013; HALMOS *et al.*, 2014).

3.4.2.6 Ácidos Orgânicos

Os ácidos orgânicos são considerados os ácidos mais usados na indústria de alimentos, principalmente como conservantes e aditivos (FIORUCCI, 2012). Durante a fermentação *sourdough* são formados, a partir do metabolismo das BAL, ácidos orgânicos como ácido láctico e acético, sendo responsáveis pela acidez do fermento. No pão estes ácidos atuam no sabor, aroma, formação da rede de glúten e maior retenção de gás, aumento de volume, melhoria da textura do pão e extensão da vida útil pelos efeitos antimicrobianos (MARTINBIANCO, 2013; PLESSAS, 2012).

Diversas espécies de BAL possuem a capacidades de produzir diferentes ácidos orgânicos, portanto, diferentes ácidos podem ser formados e em quantidade maior ou menor, dentro do fermento *sourdough* dependendo da cepa escolhida para fermentar (MENEZES, 2018; NUNES, 2018).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MICRORGANISMOS E CONDIÇÕES DE CRESCIMENTO

As cepas utilizadas neste trabalho foram selecionadas preliminarmente a partir do trabalho desenvolvido por Nunes (2018). As cepas utilizadas para a formulação do fermento *sourdough* são provenientes do Laboratório de Bioprocessos, localizado no Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos na Universidade Federal de Santa Catarina (Tabela 1). Os microrganismos foram reativados em caldo MRS, por 48 h em estufa a 36 °C. Após este período, foi realizado repique das culturas em novo caldo MRS permanecendo em estufa *overnight* a 36 °C. Após o crescimento, o caldo foi centrifugado por 10 min a 4000 rpm. Os microrganismos foram resuspensos em água mineral estéril e foram inoculados no fermento *sourdough*.

Tabela 1 – Microrganismos usados para a formulação dos fermentos *sourdough*.

Microrganismo	Cepa	Origem	Classificação metabólica
<i>Leuconostoc citreum</i>	LBP UFSC 4900	<i>Sourdough</i>	Heterofermentativo Obrigatório
<i>Lactobacillus plantarum</i>	LBP UFSC 21	Desconhecida	Heterofermentativo Obrigatório
<i>Weissella minor</i>	LBP UFSC 4451	<i>Sourdough</i>	Heterofermentativo Obrigatório
<i>Lactobacillus farciminis</i>	LBP UFSC 4841	<i>Sourdough</i>	Homofermentativo Obrigatório
<i>Lactobacillus brevis</i>	LBP UFSC 4901	<i>Sourdough</i>	Heterofermentativo Obrigatório
<i>Lactobacillus fermentum</i>	LBP UFSC 17	Desconhecida	Heterofermentativo Obrigatório

Fonte: Nunes (2018). Adaptado.

4.2 FORMULAÇÃO DO FERMENTO *SOURDOUGH*

Foram elaborados 3 fermentos *sourdough* constituídos de uma mistura de farinha de trigo orgânica branca (Ecobio, Coronel Bicaco, RS, Brasil) e água mineral na proporção 1:1 (m/m) com a adição de culturas iniciadoras de BAL. Cada fermento usado foi composto de três cepas de BAL e foram nominados como F1, F2 e F3. No F1, o fermento foi composto de *Lb. farciminis*, *Lc. citreum* e *Lb. plantarum*; F2 foi composto de *W. minor*, *Lb. farciminis* e *Lb. brevis*; no F3 foram empregados *Lb. fermentum*, *Lc. citreum* e *W. minor*. As culturas iniciadoras foram adicionadas individualmente a uma concentração aproximadamente 10^8 UFC.g⁻¹ no fermento *sourdough*. Os fermentos *sourdough* permaneceram incubados em estufa a 36 °C por 24 h de acordo com Siepmann (2019).

4.3 FORMULAÇÃO DOS PÃES

Foram formulados 4 pães - P1, P2, P3 e P4- como demonstrado na tabela 2, usando na composição, como ingredientes 600 g de farinha orgânica branca (Ecobio, Coronel Bicaco, RS, Brasil), 300 g de água mineral, 13,8 g de sal, 15 g de açúcar e 6 g de fermento biológico comercial (*S. cerevisiae*) (SIEPMANN, 2019). Para P1, P2 e P3 foram adicionados 15% (m/m em relação ao total de farinha) de cada fermento *sourdough* F1, F2, F3, respectivamente. No tratamento P4, foi usado apenas o fermento biológico comercial, e este foi considerado o tratamento controle. Os pães foram fermentados por 6 h em estufa a 30 °C e assados em uma bandeja de aço inox a 180 °C por 30 min em forno com circulação forçada e injeção de vapor (Venâncio, Venâncio Aires, RS). Após a cocção, os pães foram resfriados a temperatura ambiente e armazenados em sacos plásticos de polietileno, a temperatura ambiente, até a realização das demais análises.

Tabela 2 – Composição dos pães e fermentos *sourdough*.

Pão	Agentes fermentativos	Composição do fermento <i>sourdough</i>
P1	F1 + <i>S. cerevisiae</i>	F1 = <i>Lb. farciminis</i> , <i>Lc. citreum</i> e <i>Lb. Plantarum</i>
P2	F2 + <i>S. cerevisiae</i>	F2 = <i>W. minor</i> , <i>Lb. farciminis</i> e <i>Lb. Brevis</i>
P3	F3 + <i>S. cerevisiae</i>	F3 = <i>Lb. fermentum</i> , <i>Lc. citreum</i> e <i>W. minor</i>
P4	<i>S. cerevisiae</i>	-

Fonte: Autor.

4.4 ÍNDICE DE ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL (TTA) E POTENCIAL HIDROGENIÔNICO (pH)

Para a determinação de TTA e pH foram realizadas seguindo a metodologia descrita pelos métodos físico-químicos para análise de alimentos do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2005). Inicialmente pesou-se 5 g de cada amostra de pão, depositadas em becker de 100 mL, nos quais foram homogeneizadas adicionando 50 mL de água destilada. Para a análise de TTA, adicionou-se 3 gotas do indicador fenolftaleína e realizou-se a titulação com o uso de NaOH 0,1 mol.L⁻¹ até a viragem com aparecimento da cor rosa claro na solução. Foram realizadas análises de pH e TTA no fermento *sourdough* tempo 0 h (logo após a inoculação das BAL) e após 24 h, nas massas dos pães formulados no tempo 0 h e 6 h de fermentação. Para o pão *sourdough*, as análises foram conduzidas no tempo 1 e 5 dias após seu forneamento. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.5 TEXTURA

A análise do perfil de textura foi realizada no departamento de Engenharia de Alimentos, localizado no Centro de Ciências Tecnológicas, na UFSC. Foi utilizado o equipamento TA.HD.plus (Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido), a análise foi realizada em quadruplicada, usando quatro amostras do mesmo pão, no primeiro e quinto dia de armazenamento. Usou-se uma fatia de 25 mm do miolo de cada pão. O pão foi comprimido a temperatura ambiente com um cilindro esférico de 38 mm, velocidade de teste de 1 mm.s⁻¹ e deformação de 40% em altura. A análise determinou a resiliência, coesividade, elasticidade,

dureza, gomosidade e mastigabilidade do pães formulados com e sem a adição dos fermentos *sourdough* (APLEVICZ, 2013b).

4.6 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

A contagem de BAL e leveduras foram no realizadas fermento nos tempos 0 h e 24 h, e na massa dos pães nos tempos 0 h e 6 h, respectivamente. Nos pães foi realizada a contagem de bolores e leveduras no primeiro e no quinto dia de armazenamento. Para a realização da análise seguiu-se a metodologia descrita por Aplevicz (2013b). Cinco g de amostra foram diluídas em 45 mL de água peptonada estéril, com sucessiva agitação até completa dissolução. Diluições seriadas foram executadas com uso de água peptonada. MRS ágar foi usado para o cultivo de BAL sob anaerobiose com incubação a 36 °C por 48 h, para leveduras foi utilizado o ágar YEPG (*Yeast Extract, Peptone, Glucose*, com a adição de clorofenicol), as placas foram incubadas a 25 °C por 72 h e para análise de bolores e leveduras foi empregado o ágar PDA (*Potato Dextrose Agar*) com incubação a 25 °C por 7 dias. As análises foram realizadas em duplicata.

4.7 COR DOS PÃES

A determinação de cor nos pães foi realizada nos miolos. A análise foi realizada utilizando-se o colorímetro Chroma Meter CR-400 (Minolta, Osaka, Japão). O equipamento foi previamente calibrado e ajustado para operar com ângulo de observação de 10° e iluminante D65. Para calcular os parâmetros de cor avaliados, L*, a*, b*, c* e h, usou-se a escala de cor CIELab. O parâmetro L* varia de 0 a 100, indicando a diferença de luminosidade entre o preto e branco, respectivamente, o eixo a* indica a variação de vermelho (+a*) para verde (-a*), o eixo b* demonstra a variação que ocorre do amarelo (+b*) para azul (-b*), o c* indica a tonalidade e o parâmetro h* a luminosidade da amostra (APLEVICZ, 2013b).

4.8 VOLUME ESPECÍFICO

O volume específico nas amostras de fermento, massa e pão foi determinado pelo método de deslocamento de sementes, seguindo a metodologia descrita por Hallen, Ibanaglu e Ainsworth (2004). As amostras foram depositadas em proveta e becker de volume conhecido (V_C) e preenchidas por sementes de linhaça. Foram anotados os volumes de preenchimento das sementes (V_R). Para obter-se o volume do pão (V_L), foi utilizada a **equação (1)**.

$$V_L \text{ (mL)} = V_C - V_R \quad (1)$$

O volume específico foi obtido a partir da razão entre V_L e P (peso da amostra), como descrito na **equação (2)**. A análise foi realizada no tempo 0 h e 24 h de fermentação do fermento *sourdough*, no tempo 0 h e 6 h de fermentação na massa do pão e no primeiro dia após fabricação do pão *sourdough*.

$$V_S \text{ (mL/ g)} = V_L / P \quad (2)$$

4.9 FRUTANOS

Para a determinação total de frutanos nas amostras de pão foi utilizado o Kit de ensaio enzimático *Megazyme Fructan HK* (Megazyme, Bray, Irlanda), seguindo a metodologia recomendada pelo fabricante.

As análises foram realizadas em duplicata, no primeiro dia de armazenamento dos pães.

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As diferenças entre os resultados obtidos foram determinadas por análise de variância (ANOVA), mediante o teste de *Tukey* a 5% de probabilidade, utilizando o software *Statistica* versão 10.0, Excel e R[©] versão 3.6.0 "*Planting of a Tree*".

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 FERMENTO *SOURDOUGH*

A adição de culturas iniciadoras no fermento *sourdough* tem como objetivo iniciar o processo de fermentação e acidificar o fermento de maneira mais rápida (DE VUYST, NEYSENS, 2005; STOLZ, BOCKER, 1996). De acordo com Paramithiotis *et al.* (2007), a interação entre os microrganismos presentes nas culturas iniciadoras podem gerar diversos benefícios ao fermento *sourdough*, como o aumento de acidez pela produção de ácidos orgânicos como o ácido lático e o ácido acético (BÖCKER *et al.*, 1995; HAMMES, GÄNZLE, 1998).

Os resultados das análises de pH e TTA dos fermentos *sourdough* no tempo 0 h e 24 h de fermentação estão demonstrados na Tabela 3. Os valores de pH dos tratamentos no tempo 0 h de fermentação não variaram significativamente entre si ($p > 0,05$). Todos os valores de pH dos tratamentos após 24 h de fermentação variaram estatisticamente entre si, ($p < 0,05$), sendo que o tratamento F1 foi o que apresentou o menor pH ($3,74 \pm 0,01$). Quando comparado o mesmo tratamento no tempo 0 h e 24 h, todos apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$), sendo que, todos tratamentos após 24 h de fermentação apresentaram menor valor de pH, indicando que houve uma diminuição significativa nos valores de pH no decorrer do tempo de fermentação. O pH do fermento *sourdough* ideal para ser utilizado na fabricação de pães deve variar entre 3,5 a 4,3 (PAUTANEN; FLANDE R; KATINA, 2009). Assim, pode-se verificar que a fermentação rápida de 24 h a partir das cepas selecionadas foi satisfatória para que os fermentos atingissem a faixa de pH ideal para serem aplicados como fermento.

Tabela 3 - Valores de pH e Acidez Total Titulável (TTA) no fermento *sourdough* no tempo 0 h e 24 h de fermentação.

		Tratamentos		
	Tempo (h)	F1	F2	F3
pH	0 h	6,34 ± 0,04 ^{aA}	6,31 ± 0,02 ^{aA}	6,22 ± 0,01 ^{aA}
	24 h	3,74 ± 0,01 ^{cB}	3,92 ± 0,01 ^{aB}	3,77 ± 0,02 ^{bB}
TTA	0 h	2,13 ± 0,47 ^{aB}	1,01 ± 0,10 ^{bB}	2,02 ± 0,10 ^{aB}
	6 h	14,77 ± 2,57 ^{aA}	11,33 ± 0,82 ^{aA}	12,87 ± 0,41 ^{aA}

Legenda: Resultados apresentados como média de triplicatas ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma linha (a, b, c) indicam diferença significativa entre os tratamentos aplicados ($p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes sobrescritas (A e B) indicam diferenças significativas entre diferentes dias de análise e o mesmo tratamento. O fermento F1 foi composto de *Lb. farciminis*, *Lc. citreum* e *Lb. plantarum*; F2 foi composto de *W. minor*, *Lb. farciminis* e *Lb. brevis*; no F3 foram empregados *Lb. fermentum*, *Lc. citreum* e *W. minor*.

Fonte: Autor.

Os valores de TTA dos tratamentos, durante o tempo 0 h de fermentação, F1 e F3 não deferiram estatisticamente, ($p > 0,05$), porém o tratamento F2 foi o que apresentou maior diferença estatística entre os resultados, ($p < 0,05$). Os valores de TTA dos tratamentos após 24 h de fermentação não apresentaram diferença estatística, ($p > 0,05$). No tempo 24 h os fermentos não apresentaram diferença estatística entre si, ($p > 0,05$), mas quando comparado o mesmo tratamento nos tempos 0 h e 24 h houve diferença estatística, ($p < 0,05$), indicando que há uma grande acidificação dos fermentos durante a fermentação. Apesar de não haver diferença estatística entre os fermentos no tempo 24 h, ($p > 0,05$), o fermento F2 apresentou menor valor de TTA, esse fermento foi produzido com *Lb. brevis* e *W. minor* que segundo Nunes (2018) foram, um dos microrganismos, com a maior capacidade acidificante, entre os testados, o que pode explicar assim o aumento de acidez.

De acordo com Siepmann (2019), a adição de BAL no fermento *sourdough* afeta diretamente o processo de acidificação do meio, alterando os valores de pH e TTA por meio da produção de diversos ácidos orgânicos, como o ácido lático e o ácido acético. Estudos realizados por Aplevicz *et al.*, (2013a) com a adição de BAL no fermento *sourdough* formulado com suco da uva Niágara rosada, também demonstraram a redução do pH e aumento do TTA, indicando maior acidez do fermento ao longo do tempo de fermentação. Ainda, de acordo Paramithiotis *et al.* (2005), em estudo realizado com fermento *sourdough*, foi verificado que os valores de pH e TTA variaram de 3,57 a 3,85 e 10,1 a 12,5, respectivamente. Sabino; Sousa e Santos (2015) também estudaram como a acidez do fermento *sourdough*, formulado com culturas iniciadoras, *S. cerevisiae*, *Lb. rhamnosus* e *Bf.*

Bifidum, podem afetar algumas propriedades reológicas de pão sem glúten. Foram realizadas análises de pH e TTA, obtendo valores de 3,81 e 5,34, respectivamente, após 48 h de fermentação. O aumento de acidez, dos fermentos *sourdough*, pode ser pelo uso de diferentes BAL na formulação das culturas iniciadoras aplicadas nos fermentos *sourdough* (COLLAR *et al.*, 1996; CORSETTI *et al.*, 1998).

A maioria das reações químicas que acontecem no fermento *sourdough* tipo II ocorrem pela presença de microrganismos como as BAL (ROCHA; MALCATA, 2019). Quando há adição de BAL selecionadas, direcionadas de acordo com a necessidade requerida pela indústria de alimentos, ocorre, conseqüentemente, um aumento na qualidade dos pães produzidos a partir deste tipo de fermentação (GUINET; GODON, 1996).

Os resultados das análises microbiológicas estão demonstrados na Tabela 4. A contagem de BAL dos tratamentos no tempo 0 h, não variou significativamente entre si, ($p > 0,05$). Também não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos após 24h de fermentação, ($p > 0,05$). No entanto, para os tratamentos F1 e F3, houve um aumento significativo na concentração da BAL após 24h de fermentação. No trabalho realizado por Siepmann (2019), a contagem de BAL no fermento *sourdough* tipo II variou entre 7,9 a 9,4 log UFC.g⁻¹. Essa baixa concentração encontrada pode ser explicada pela redução do pH, a partir do aumento de acidez pela produção de ácidos orgânicos pelas BAL, podendo assim inibir o crescimento das mesmas.

Tabela 4 - Contagens microbianas do fermento *sourdough* no tempo 0 h e 24 h de fermentação em log UFC.g⁻¹.

	Tempo (h)	Tratamentos		
		F1	F2	F3
BAL	0 h	8,97 ± 0,96 ^{aA}	10,34 ± 0,55 ^{aA}	9,45 ± 0,52 ^{aB}
	24 h	11,56 ± 1,15 ^{aA}	10,99 ± 0,37 ^{aA}	12,57 ± 0,62 ^{aA}
Leveduras	0 h	<4,00 ^{bA}	4,33 ± 0,53 ^{aA}	3,62 ± 2,30 ^{aA}
	24 h	<4,00 ^{bA}	5,88 ± 0,83 ^{aA}	6,71 ± 0,12 ^{aA}

Legenda: Resultados como média de duplicatas ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma linha (a, b, c) indicam diferença significativa entre os tratamentos aplicados ($p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes sobrescritas (A e B) indicam diferenças significativas entre diferentes dias de análise e o mesmo tratamento. O fermento F1 foi composto de *Lb. farciminis*, *Lc. citreum* e *Lb. plantarum*; F2 foi composto de *W. minor*, *Lb. farciminis* e *Lb. brevis*; no F3 foram empregados *Lb. fermentum*, *Lc. citreum* e *W. minor*.
Fonte: Autor.

No fermento *sourdough* tipo II é possível obter contagens microbiológicas iguais ou superiores de BAL quando comparadas ao fermento *sourdough* tradicional (tipo I). No estudo

realizado por Stefanello (2014), a contagem de BAL após 14 dias de propagação do *sourdough* tipo I foi de $9,0 \log \text{UFC.g}^{-1}$, valor abaixo do encontrado neste estudo. Su; Schlicht e Ganzle, estudaram como glutamato descarboxilase poderia contribuir em diversos aspectos tecnológicos na massa fermentada usando o *Lb. reuteri*. Em um dos seus testes foi realizado a contagem de BAL no fermento formulado e obtido valores entre $10,7$ e $10,5 \log \text{UFC.g}^{-1}$, após 12 h de fermentação, valores próximos do obtido pelo fermento F2.

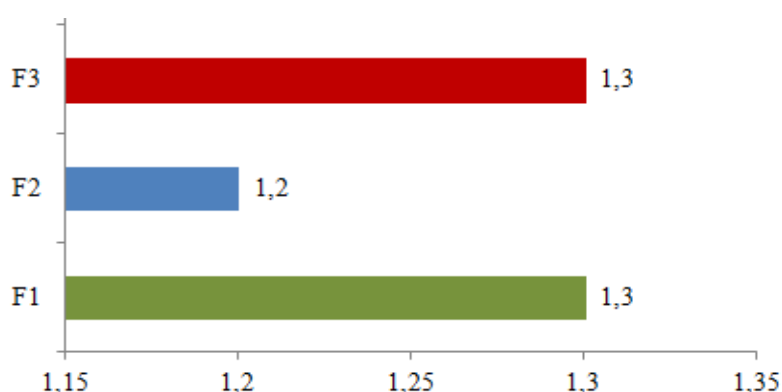
A contagem de leveduras em YEPG dos tratamentos F2 e F3 nos tempos 0 h e 24h de fermentação não variaram significativamente entre si, ($p > 0,05$), porém o tratamento F1 diferiu significativamente dos demais tratamentos, ($p < 0,05$), apresentando contagem de leveduras inferior a $< 4,00 \log \text{UFC.g}^{-1}$ mesmo após 24 h de fermentação. A inibição das leveduras neste fermento pode ser atribuída à acidificação mais intensa do F1, evidenciada pelos valores de pH mais baixo e TTA mais elevado que nos demais *sourdough*. As leveduras crescem em uma faixa ampla de pH, aproximadamente de 4,5 a 6,5, porém, com o aumento excessivo da acidez, por meio da produção de ácidos orgânicos pelas BAL, pode ocorrer a sua inibição (PIPER, *et al.*, 1998). É importante destacar que não são todos os ácidos orgânicos que inibem o crescimento de leveduras, conforme descrito por McDonald; Henderson; Heron (1991), o ácido lático possui baixo poder fungicida. É possível ainda que tenha ocorrido um efeito inibitório das BAL utilizadas no F1 frente às leveduras. As relações de competição e simbiose entre a microbiota do fermento *sourdough* são complexas e por sua vez influenciam na determinação de quais microrganismos irão compor a comunidade microbiana do fermento maduro. Em geral o número de leveduras é menor que o de BAL (GOBBETTI *et al.*, 2016). Menezes (2019) realizou um estudo sobre as qualidades nutricionais do fermento *sourdough* e também obteve um aumento significativo na contagem de leveduras, após 48 h da primeira fermentação do *sourdough* tipo I, atingiu a contagem atingiu $6,6 \log \text{UFC.g}^{-1}$, valor próximo do tratamento F3, após 24 h de fermentação.

O volume específico obtido para fermento *sourdough* tipo II é um dos principais parâmetros usados para avaliar a produção e retenção de CO_2 sintetizado a partir das BAL. Quando ocorre a adição de diferentes culturas iniciadoras no fermento, os resultados obtidos podem variar (HAMMES; GANZLE, 1998). As BAL que se destacam para a produção de CO_2 são caracterizadas como heterofermentativas. Por meio da via glicolítica de Embden-Meyerhoff ocorre à metabolização de hexoses, demais carboidratos, como glicose e frutose, são metabolizadas via fosfoketololase, e se obtém como produto final principal o ácido lático

etanol e ácido acético que posteriormente, através de rotas secundárias, serão modificados e transformados em ésteres, aldeídos e cetonas, compostos aromáticos. A razão molar entre o ácido lático e acético. De maneira geral essa metabolização gera uma quantidade significativa de dióxido de carbono, auxiliando no crescimento do fermento (HUERTAS, 2010; AXELSSON, 1999).

O volume específico de F1, F2 e F3 no tempo 0 h de fermentação foi de $1,13 \text{ g.mL}^{-1}$. Após 24 h de fermentação o volume dos tratamentos F1, F2 e F3, esta demonstrado na figura X. F1 e F3 obtiveram um aumento de 15,1% e F2 de 6,2%, em relação ao tempo 0 h de fermentação. O maior volume específico encontrado foram nos tratamentos F1 e F3, $1,3 \text{ g.mL}^{-1}$, enquanto o tratamento F2 foi o que apresentou menor volume específico, $1,2 \text{ g.mL}^{-1}$. Isto pode ser atribuído fato de como o CO_2 é um produto do metabolismo de BAL e leveduras e que F2 foi o fermento que teve menor contagem de BAL depois de 24 h fermentando. Sendo assim, quanto menor a quantidade de BAL, presente no fermento, menos produto do metabolismo, isso é confirmado pelo fato de o F2 ter acidificado menos, pois obteve o menor TTA e o maior pH, ou seja, realmente continha menos microrganismo, sendo assim produziram menos compostos do metabolismo, ácidos e CO_2 . Pode haver um efeito de protocooperação entre as culturas indicadoras, assim como pode haver um efeito de inibição, o que provavelmente explica o menor pH e maior acidez do F2.

FIGURA 2 – Volume específico fermentos *sourdough* após 24 h de fermentação (g.mL^{-1})



Legenda: O fermento F1 foi composto de *Lb. farciminis*, *Lc. citreum* e *Lb. plantarum*; F2 foi composto de *W. minor*, *Lb. farciminis* e *Lb. brevis*; no F3 foram empregados *Lb. fermentum*, *Lc. citreum* e *W. minor*.

Fonte: Autor.

O fermento *sourdough* proporciona a massa do pão maior acidez, favorecendo o aumento das forças interligantes do glúten. Contribuindo para a exposição de regiões hidrofóbicas da molécula e formação de uma hidrólise parcial de sua cadeia. Como consequência dessa exposição, ocorre a formação de uma emulsão, que torna a massa do pão menos elástica e mais extensível, favorecendo assim a retenção de CO₂, aumentando consequentemente o volume do fermento (CLARK *et al.*, 2004; OSBORNE, 1907).

5.2 MASSAS DOS PÃES

Os resultados das análises de pH e TTA das massas dos pães no tempo 0 h e 6 h de fermentação estão demonstrados na Tabela 5. No tempo 0 h, P2 e P3 não diferiram significativamente entre si, ($p > 0,05$), porém P1 e P4 variaram estatisticamente dos demais tratamentos, ($p < 0,05$).

O tratamento P1 apresentou menor pH ($5,15 \pm 0,01$) e P4 maior ($5,59 \pm 0,01$). Após 6 h de fermentação, P1 e P3 apresentaram os menores valores de pH ($p < 0,05$), diferindo estatisticamente dos demais. Por outro lado, P4 apresentou o maior valor de pH, diferindo estatisticamente dos demais. O menor decréscimo de pH foi observado para P4, elaborado somente com *S. cerevisiae*, evidenciando que a acidificação a partir dos fermentos *sourdough* (P1, P2 e P3) foi mais intensa. Quando comparado o mesmo tratamento no tempo 0 h e após 6 h de fermentação, todos apresentaram diferença estatística entre si, ($p < 0,05$) demonstrando que houve uma queda significativa no pH dos quatro tratamentos, ao longo da fermentação.

Tabela 5 – Valores de pH e Acidez Total Titulável (TTA) nas massas dos pães no tempo 0 h e 6 h de fermentação.

		Tratamentos			
	Tempo (h)	P1	P2	P3	P4
pH	0 h	$5,15 \pm 0,01^{cA}$	$5,20 \pm 0,01^{bA}$	$5,19 \pm 0,02^{bA}$	$5,59 \pm 0,01^{aA}$
	6 h	$4,33 \pm 0,02^{cB}$	$4,73 \pm 0,04^{bB}$	$4,44 \pm 0,02^{cB}$	$5,37 \pm 0,03^{aB}$
TTA	0 h	$2,85 \pm 0,18^{aB}$	$2,49 \pm 0,31^{aA}$	$2,73 \pm 0,37^{aB}$	$1,36 \pm 0,10^{bB}$
	6 h	$3,86 \pm 0,10^{aA}$	$3,56 \pm 0,71^{aA}$	$3,74 \pm 0,00^{aA}$	$2,43 \pm 0,21^{bA}$

Legenda: Resultados como média de triplicatas \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma linha (a, b, c) indicam diferença significativa entre os tratamentos aplicados ($p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes sobrescritas (A e B) indicam diferenças significativas entre diferentes dias de análise e o mesmo tratamento. O tratamento P1 foi composto do fermento F1 e *S. cerevisiae*; P2 foi composto do fermento F2 e *S. cerevisiae*; no P3 foram empregados o fermento F3 e *S. cerevisiae*; P4 foi adicionado *S. cerevisiae*.

Fonte: Autor.

Quanto aos valores de TTA dos tratamentos no tempo 0 h de fermentação, P1, P2 e P3 não variaram significativamente entre si, ($p > 0,05$). O tratamento P4 apresentou a menor TTA, diferindo estatisticamente dos demais, ($p < 0,05$). Isto se deve à adição dos fermentos *sourdough* à massa de P1, P2 e P3, uma vez que adiciona-se também uma pequena quantidade de ácidos orgânicos que foi produzida pelas BAL no período de 24 h de fermentação durante o preparo do *sourdough*, o que não ocorreu com o tratamento P4, já que não foi adicionado do fermento natural. Após 6 h de fermentação, P1, P2 e P3 não apresentaram diferença estatística entre si, ($p > 0,05$). Por outro lado, P4 apresentou o menor valor para TTA, diferindo estatisticamente dos demais, ($p < 0,05$), o que demonstra novamente que a acidificação nos tratamentos adicionados de *sourdough* a acidificação foi mais intensa. Quando comparados os tratamentos no tempo 0 h e após 6 h de fermentação, P1, P3 e P4 apresentaram entre os tempos, demonstrando que houve um acréscimo significativo da acidez durante o período de 6 h de fermentação. O tratamento P2 não demonstrou diferença estatística, ($p > 0,05$) entre 0 e 6 h de fermentação.

Estudos realizados por Clark *et al.* (2004) evidenciaram que as massas dos pães, após 24 h de fermentação, adicionadas de fermento *sourdough* tipo II, apresentaram pH de 5,49, uma maior redução de pH, quando comparado ao pão controle formulado sem a adição do fermento *sourdough*, que obteve pH de 6,30. O mesmo ocorreu para os valores de TTA, confirmando assim os valores encontrados neste trabalho, que de maneira geral também demonstrou maior acidez das massas adicionadas de fermento *sourdough*. De acordo com Thiele; Gänzle; Vogel (2002) a redução do pH no decorrer do tempo de fermentação ocorre pela produção de ácidos orgânicos como ácido láctico e acético, produtos do metabolismo das BAL.

A associação de BAL e *S. cerevisiae* pode trazer alterações, tanto no crescimento de BAL, quanto no volume das massas dos pães *sourdough* (PARAMITHIOTIS, 2006). Os resultados das análises microbiológicas estão demonstrados na Tabela 6. Não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$), P1, P2 e P3 para a contagem de BAL tanto no inóculo (tempo 0 h) quanto após o período de fermentação (6 h). P4 diferiu estatisticamente dos demais tratamentos ($p < 0,05$), apresentando menor contagem, $2,00 \pm 0,01$ log UFC.g⁻¹ no tempo 0 h. Esta pequena pode estar relacionada a concentração de BAL corresponde as bactérias que estão naturalmente presentes na farinha de trigo (MENEZES, 2019a). Após 6 h de fermentação a contagem de BAL seguiu o mesmo padrão, P4 diferiu

estatisticamente dos demais tratamentos ($p < 0,05$), apresentando menor contagem, $5,60 \pm 0,05$. Quando comparado as contagens realizadas do tempo 0 h até o final da fermentação (6 h), apenas P4 apresentou diferença estatística ($p < 0,05$). O tratamento P4 foi formulado apenas com a adição da *S. cerevisiae* o que pode explicar menor contagem de BAL, uma vez que não houve nesse tratamento a inoculação das BAL presentes nos *sourdough* dos demais. Também foram realizadas contagens de leveduras, porém os resultados obtidos no tempo 0 h e após 6 h de fermentação apresentaram resultados inferiores a $10^4 \log \text{UFC.g}^{-1}$.

Tabela 6 – Contagem microbiana, bactérias ácido lácticas nas massas dos pães com 0 h e 6 h fermentação ($\log \text{UFC.g}^{-1}$).

		Tratamentos			
	Tempo (h)	P1	P2	P3	P4
BAL	0 h	$10,08 \pm 0,22^{aA}$	$10,47 \pm 0,52^{aA}$	$11,24 \pm 0,48^{aA}$	$2,00 \pm 0,01^{bB}$
	6 h	$10,05 \pm 0,08^{aA}$	$10,83 \pm 0,30^{aA}$	$10,44 \pm 0,94^{aA}$	$5,60 \pm 0,05^{bA}$

Legenda: Resultados como média de duplicatas \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma linha (a, b, c) indicam diferença significativa entre os tratamentos aplicados ($p < 0,05$ Teste de Tukey). Letras maiúsculas diferentes sobrescritas (A e B) indicam diferenças significativas entre diferentes dias de análise e o mesmo tratamento. O tratamento P1 foi composto do fermento F1 e *S. cerevisiae*; P2 foi composto do fermento F2 e *S. cerevisiae*; no P3 foram empregados o fermento F3 e *S. cerevisiae*; P4 foi adicionado *S. cerevisiae*.

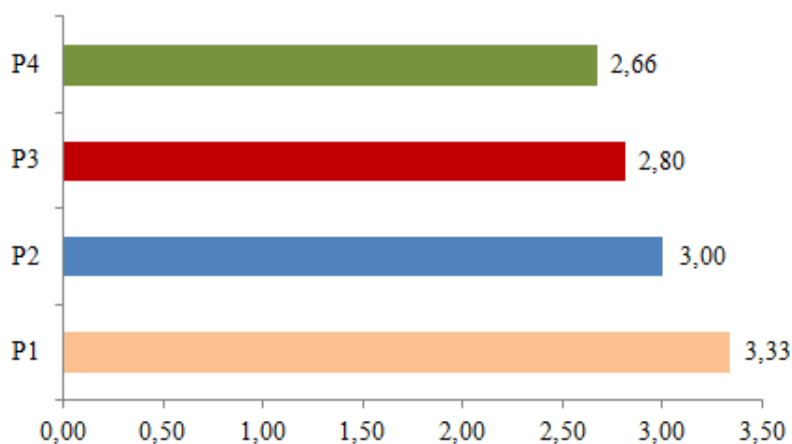
Fonte: Autor.

De acordo com Aplevicz *et al.* (2013a), após 10 h de fermentação, as duas linhagens de *L. paracasei* e a primeira linhagem de *S. cerevisiae* apresentaram o maior crescimento microbiano (BAL e leveduras), ocorreu após 10 horas de fermentação. Entre as massas formuladas com a adição de BAL, a massa com a segunda linhagem de *L. paracasei* apresentou a maior contagem, $8,91 \log \text{UFC.g}^{-1}$, já a massa contendo a primeira linhagem de *S. cerevisiae*, obteve contagem de $8,03 \log \text{UFC.g}^{-1}$.

O volume específico de P1, P2, P3 e P4 no tempo 0 h de fermentação foi de $1,23 \text{g.mL}^{-1}$. Os resultados das análises de volume específico, de T1, T2, T3 e T4, após de 6 h de fermentação estão demonstrados na figura 3. De maneira geral os tratamentos que obtiveram a adição do fermento *sourdough* apresentaram maior volume específico. Sendo que, após 6 h de fermentação o tratamento P1 apresentou o maior volume específico, $3,33 \text{g.mL}^{-1}$, um aumento de 170,7% em relação ao tempo 0 h de fermentação. Porém o tratamento P4 formulado apenas com a adição de *S. cerevisiae* obteve o menor volume específico entre demais tratamentos, $2,66 \text{g.mL}^{-1}$, um aumento de 116,3%. Estes resultados corroboram com os resultados obtidos do fermento *sourdough*, o tratamento F1 após 24 h de fermentação apresentou um dos maiores

volumes específico, proporcionando a massa do pão *sourdough* do tratamento P1 também maior volume específico, quando comparado aos demais tratamentos.

FIGURA 3 – Volume massas após 6 h de fermentação (g.mL^{-1})



Legenda: O tratamento P1 foi composto do fermento F1 e *S. cerevisiae*; P2 foi composto do fermento F2 e *S. cerevisiae*; no P3 foram empregados o fermento F3 e *S. cerevisiae*; P4 foi adicionado *S. cerevisiae*

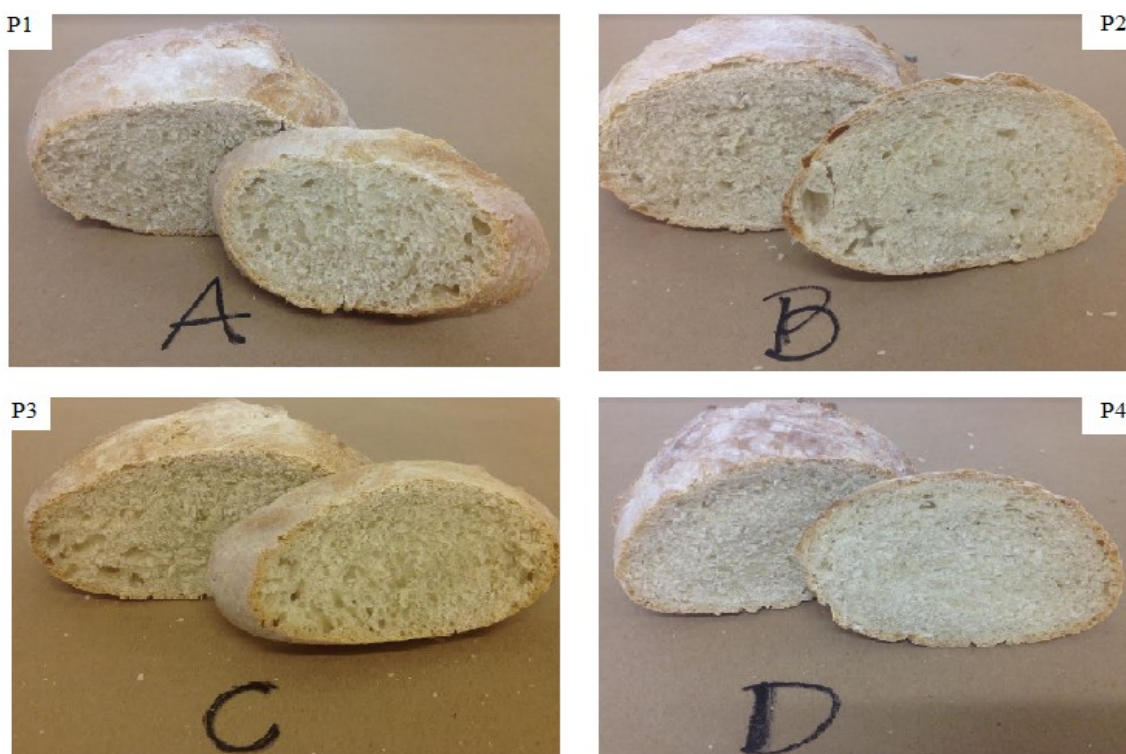
Fonte: Autor.

De acordo com Gocmen *et al.*(2006), a quantidade de CO_2 influencia diretamente o crescimento da estrutura da massa do pão. A presença de BAL e *S. cerevisiae*, na massa do pão faz com que aumente a produção de CO_2 . A *S. cerevisiae* consome os açúcares biodisponíveis na massa do pão, transformando-os em CO_2 , fazendo com que ocasionalmente a massa aumente de volume, durante seu tempo de fermentação. Isto só ocorre, pois quando há a mistura dos ingredientes, para a formação da massa, ocorre uma incorporação de ar dentro da massa do pão, diminuindo assim sua densidade e proporcionando a formação de alvéolos, considerados locais por onde o CO_2 , produzido pela levedura, poderá que alojar (NITZKE; BIEDRZYCKI, 2004).

5.3 PÃES

A figura 4 apresenta os pães obtidos neste trabalho.

Figura 4 – Pães formulados com e sem adição do fermento *sourdough*



Legenda: Os pães A, B, C e D representam os tratamentos P1, P2, P3 e P4. Os tratamentos P1, P2 e P3 receberam a adição do fermento *sourdough*, F1, F2 e F3, respectivamente, P4 foi formulado apenas com a adição de *S. cerevisiae*.

Fonte: Autor.

Os resultados das análises de pH e TTA dos pães nos formulados no primeiro e quinto dia de fabricação estão demonstrados na Tabela 7. Os valores de pH dos tratamentos P1 e P3 no primeiro dia de armazenamento não variaram significativamente entre si ($p > 0,05$), e apresentaram o menor valor de pH entre os tratamentos, $4,51 \pm 0,01$ e $4,44 \pm 0,05$, respectivamente, P2 e P4 apresentaram diferença estatística dos demais tratamentos ($p < 0,05$), sendo que P4 obteve o maior pH entre os tratamentos, $5,59 \pm 0,01$. O tratamento P4 foi formulado apenas com a adição da *S. cerevisiae*, o que pode explicar o maior valor de pH encontrado. De acordo com Silva (2011) pães formulados apenas com a adição do fermento comercial, apresentaram o valor de pH entre 5,40 e 5,66. Conforme o estudo realizado por

Oliveira *et al.* (2011) em pães de forma, com a adição de *S. cerevisiae* o valor de pH obtido foi de $5,64 \pm 0,15$. Ambos os estudos obtiveram a mesma faixa de pH encontrada neste trabalho.

Os valores de pH após 5 dias de armazenamento mantiveram o mesmo padrão descrito acima, os valores de pH dos tratamentos P1 e P3 não variaram significativamente entre si ($p > 0,05$), e apresentaram o menor valor de pH entre os tratamentos, $4,42 \pm 0,03$ e $4,44 \pm 0,05$, respectivamente, P2 e P4 apresentaram diferença estatística dos demais tratamentos ($p < 0,05$), sendo que P4 obteve o maior valor de pH entre os demais tratamentos, $5,54 \pm 0,03$. Quando comparado, durante o primeiro e quinto dia de armazenamento, os tratamentos que apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$), entre si foram P1 e P4, sendo que o menor pH obtido foi após 5 dias de fabricação, $4,42 \pm 0,03$ e $5,54 \pm 0,03$, respectivamente.

Tabela 7 - Valores de pH e Acidez Total Titulável (TTA) nos pães formulados no primeiro e quinto dia de armazenamento.

		Tratamentos			
	Tempo (dias)	P1	P2	P3	P4
pH	1°	$4,51 \pm 0,01^{cA}$	$4,66 \pm 0,02^{bA}$	$4,46 \pm 0,04^{cA}$	$5,59 \pm 0,01^{aA}$
	5°	$4,42 \pm 0,03^{cB}$	$4,66 \pm 0,05^{bA}$	$4,44 \pm 0,05^{cA}$	$5,54 \pm 0,03^{aB}$
TTA	1°	$4,92 \pm 0,21^{aA}$	$4,33 \pm 0,10^{bA}$	$5,22 \pm 0,11^{aA}$	$2,81 \pm 0,28^{cA}$
	5°	$5,45 \pm 0,45^{aA}$	$4,39 \pm 0,27^{bA}$	$5,39 \pm 0,11^{aA}$	$3,16 \pm 0,13^{cA}$

Legenda: Resultados como média de triplicatas \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma linha (a, b, c) indicam diferença significativa entre os tratamentos aplicados ($p < 0,05$ Teste de Tukey). Letras maiúsculas diferentes sobrescritas (A e B) indicam diferenças significativas entre diferentes dias de análise e o mesmo tratamento. O tratamento P1 foi composto do fermento F1 e *S. cerevisiae*; P2 foi composto do fermento F2 e *S. cerevisiae*; no P3 foram empregados o fermento F3 e *S. cerevisiae*; P4 foi adicionado *S. cerevisiae*.

Fonte: Autor.

Os valores de TTA dos tratamentos P1 e P3 no primeiro dia de armazenamento não variaram significativamente entre si ($p > 0,05$), e apresentaram o maior valor de TTA entre os tratamentos, $4,92 \pm 0,21$ e $5,22 \pm 0,11$, respectivamente, P2 e T4 apresentaram diferença estatística dos demais tratamentos ($p < 0,05$), sendo que P4 obteve o menor valor de TTA entre os tratamentos, $2,81 \pm 0,28$. Os valores de TTA após 5 dias de armazenamento mantiveram o mesmo padrão descrito acima, os valores de pH dos tratamentos P1 e P3 não variaram significativamente entre si ($p > 0,05$), e apresentaram o maior valor de TTA entre os tratamentos, $5,45 \pm 0,45$ e $5,39 \pm 0,11$, respectivamente, P2 e P4 apresentaram diferença

significativa dos demais tratamentos ($p < 0,05$), sendo que P4 obteve o menor valor de TTA entre os demais tratamentos, $3,16 \pm 0,13$. Quando comparado, durante o primeiro e quinto dia de armazenamento, não houve diferença estatística entre os tratamentos.

Plessas *et al.* (2011) prepararam pães usando culturas iniciadoras contendo 10 % de *Lactobacillus sakei* e 10 % *Lactobacillus acidophilus* e obtiveram pH de 3,9 e TTA de 11,0 porém os resultados das análises de pH e TTA deste trabalho, apresentaram valores acima de 4,0 e abaixo de 5,5, respectivamente. O aumento da acidez também foi constatado por Katina *et al.* (2002) em seu estudo usando diferentes culturas iniciadoras no fermento *sourdough* para a fabricação de pão. De acordo com os autores a seleção dos microrganismos que constituem a cultura iniciadora, voltada para seu potencial antimicrobiano, pode prevenir a deterioração do pão. O fermento *sourdough* proporciona ao pão o aumento da acidez pelo aumento da concentração de diversos ácidos orgânicos, como ácido lático, medido a partir do índice de acidez titulável e acético, produzidos pelas BAL, presentes na cultura iniciadora adicionada ao *sourdough* (DE VUYST; NEYSENS, 2005).

Os fungos são considerados um dos principais deteriorantes presentes em pães, diminuindo rapidamente sua vida de prateleira, sendo assim, uma alternativa para a indústria aumentar a vida de prateleira de pães sem o uso de produtos químicos, como conservantes é a adição do fermento *sourdough*, que de acordo com diversos estudos vem se apresentando um bom conservante natural (CORSETTI, *et al.*, 1996; CLARKE, SCHOBBER; ARENDT, 2002).

Os resultados das análises da contagem de bolores e leveduras, nos pães formulados no primeiro e quinto dia de armazenamento, estão demonstrados na Tabela 8. A contagem de bolores e leveduras em ágar PDA, P3 e P4 dos tratamentos no tempo primeiro dia de armazenamento, não variaram significativamente entre si ($p > 0,05$), e apresentaram a maior contagem, $3,45 \pm 0,21$ e $3,93 \pm 0,03$, respectivamente. P1 e P2 obtiveram diferença estatística dos demais resultados ($p < 0,05$), sendo que o tratamento P2 obteve contagem inferior a $< 10^{-2}$ log UFC.g⁻¹. A contagem de bolores e leveduras, em ágar PDA, P3 e P4 dos tratamentos no tempo quinto dia de armazenamento, não variaram significativamente entre si ($p > 0,05$) e apresentaram a maior contagem, $5,39 \pm 0,15$ e $5,74 \pm 0,12$, respectivamente. P1 e P2 obtiveram diferença estatística dos demais resultados ($p < 0,05$) sendo que P1 obteve a menor contagem entre os demais tratamentos, $3,50 \pm 0,28$ log UFC.g⁻¹. Quando comparado os tratamentos durante o primeiro e quinto dia de armazenamento, P2, P3 e P4 obtiveram diferença estatística entre si ($p < 0,05$), sendo que os tratamentos após o quinto dia de

fabricação apresentaram a maior contagem, P1 foi o único tratamento que não apresentou diferença estatística.

Tabela 8 - Contagem microbiana de bolores e leveduras nos pães formulados no primeiro e quinto dia de armazenamento (log UFC.g⁻¹).

		Tratamentos			
	Tempo (dias)	P1	P2	P3	P4
Leveduras	1°	2,74 ± 1,04 ^{bA}	<2,00 ^{cB}	3,45 ± 0,21 ^{aB}	3,93 ± 0,03 ^{aB}
	5°	3,50 ± 0,28 ^{cA}	4,72 ± 0,13 ^{bA}	5,39 ± 0,15 ^{aA}	5,74 ± 0,12 ^{aA}

Legenda: Resultados como média de duplicatas ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma linha (a, b, c) indicam diferença significativa entre os tratamentos aplicados (P < 0,05 Teste de Tukey).

Letras maiúsculas diferentes sobrescritas (A e B) indicam diferenças significativas entre diferentes dias de análise e o mesmo tratamento. O tratamento P1 foi composto do fermento F1 e *S. cerevisiae*; P2 foi composto do fermento F2 e *S. cerevisiae*; no P3 foram empregados o fermento F3 e *S. cerevisiae*; P4 foi adicionado *S. cerevisiae*

Fonte: Autor.

O aparecimento de bolores de leveduras dos tratamentos P1 e P4, após o quinto dia armazenamento pode ser observado na figura 5, o que corrobora com o resultado da contagem. O tratamento P4 foi um dos tratamentos que obtiveram maior contagem e apresentou visualmente o aparecimento e fungos, e o tratamento P1 foi o que apresentou menor, sendo que visualmente não foi constatado o aparecimento de fungos. O tratamento P1 obteve a adição do fermento *sourdough* com o menor pH, 3,74 ± 0,01 e também apresentou um dos menores valores de pH dentre todos os pães avaliados, neste estudo, tanto no primeiro quanto no quinto dia de armazenamento. A redução de pH também influencia diretamente na presença de microrganismo, tanto patógeno, quanto deteriorantes, como fungos e leveduras, no pão *sourdough*, já que o meio ácido inibe a atividade metabólica dos mesmos (DE MARTINIS *et al.*, 2007). De acordo com o estudo realizado por Tonetto (2018), com a adição de fermento *sourdough* tipo I em pão sem a adição de glúten, foi obtido uma redução significativa na contagem de bolores e leveduras nos pães com o *sourdough* em relação ao controle, adicionado de *S. cerevisiae*, no primeiro dia de fabricação o pão controle apresentou contagem de 2,8 log UFC.g⁻¹ e os pães *sourdough* variando de 2,65 a 0 log UFC.g⁻¹, após 5 dias foram realizadas novas contagens e se obtiveram os seguintes valores, 4,97 e 3,59 log UFC.g⁻¹ a 1,42 log UFC.g⁻¹, respectivamente.

Figura 5 – Pães com e sem fermento *sourdough* após 5 dias de armazenamento.

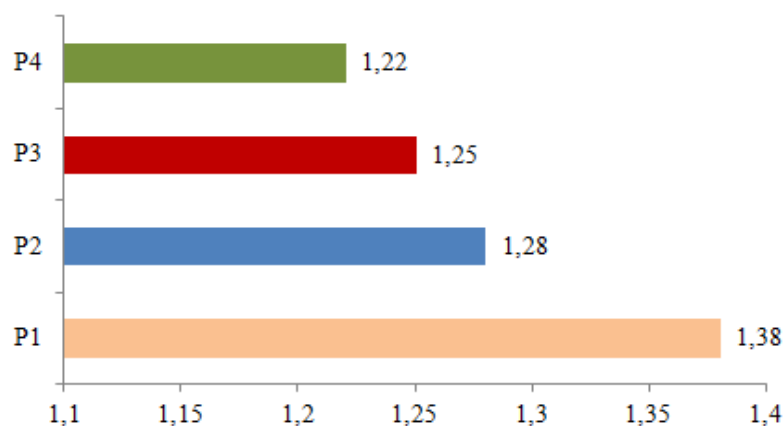


Legenda: Tratamento P1 e P4 após 5 dias de armazenamento. O tratamento P1 além de ter obtido a menor contagem de bolores e leveduras, visualmente não apresentou a presença típica de bolores e leveduras, oposto do tratamento P4.

Fonte: Autor

O volume específico é um parâmetro muito usado para determinar a produção e retenção de CO_2 pela massa e pelo pão, no decorrer da fermentação e a cocção, além de ser um dos principais critérios usados pelos consumidores para avaliar a qualidade de produtos oriundos da panificação como o pão (DELCOUR; HOSENEY, 2010). Os resultados das análises de volume específico, realizadas no primeiro dia de fabricação, estão demonstradas na tabela 6. O tratamento P1 apresentou o maior volume específico dentre todos os pães, $1,38 \text{ g.mL}^{-1}$, corroborando com os resultados obtidos do fermento *sourdough* e massa do pão, em que ambos o primeiro tratamento apresentou o maior volume específico, P2 obteve o menor volume dentre os tratamentos, $1,18 \text{ g.mL}^{-1}$. Porém quando comparado os resultados, de maneira geral, houve uma redução entre o volume da massa e do pão após a cocção.

Martinbianco *et al.* (2013) produziram pães *sourdough* com adição de apenas uma BAL, *L. plantarum* e foi obtido valor específico de $1,29 \text{ g.mL}^{-1}$, quando houve a adição de três microrganismos, *K. marxianus*, *D. bruxellensis* e *L. plantarum*, obtiveram um aumento no volume específico do pão, $2,87 \text{ g.mL}^{-1}$.

Tabela 6 – Volume específico pães no primeiro dia de armazenamento (g.mL⁻¹)

Legenda: O tratamento P1 foi composto do fermento F1 e *S. cerevisiae*; P2 foi composto do fermento F2 e *S. cerevisiae*; no P3 foram empregados o fermento F3 e *S. cerevisiae*; P4 foi adicionado *S. cerevisiae*

Fonte: Autor.

De acordo com Rodrigues; Steinmacher (2016) o volume específico de pães, produzidos com diferentes concentrações de microrganismos no fermento *sourdough* e farinha de painço, apresentaram valores entre 1,72 e 2,14 g.mL⁻¹. O volume específico representa a relação entre fração de ar existente na massa após a sua cocção e o seu teor de sólidos. Quanto maior o volume específico obtido, mais aerado e leve é o pão, assim como quanto menor é o volume específico menos aerado, e evidenciam erros durante o processamento do pão, durante a cocção e o batimento (ESTELLER; DA SILVA LANNES, 2005).

A cor é um dos principais parâmetros mais usados pelo consumidor para a compra dos mais diversos produtos oferecidos no mercado como o pão (BERNO; SPOTO; CANNIATTI-BRAZACA, 2007; CREPALDI, 2006). De acordo com a Resolução da Anvisa nº 90 de 2000, não existe nenhum padrão de cor a ser seguido para pães oriundos de fermentação natural, apenas para pães denominados francês, pelo qual deve apresentar coloração da casca castanho-dourada e miolo branco-creme. Os resultados das análises de cor dos pães no primeiro dia de fabricação estão demonstrados na tabela 9. Dentre todos os padrões analisados, L*, a*, b*, c* e h os tratamentos não apresentaram diferença estatística, ($p > 0,05$), ou seja, as diferentes culturas iniciadoras adicionadas nos fermentos *sourdough* que foram usados para a fabricação dos pães não afetaram a cor dos pães. A média do padrão de luminosidade variou entre $66,63 \pm 1,16$ e $65,62 \pm 2,94$, valores próximos ao encontrado por

Farias (2012), que estudou a qualidade de pães tipo francês e obteve valores de luminosidade entre 65,72 e 72,35.

Tabela 9 – Resultados de determinação da cor (L*, a*, b*, c* e h) no miolo dos pães no primeiro dia de armazenamento.

Tratamento	L*	a*	b*	c*	H
P1	66,63 ± 1,16 ^a	1,49 ± 0,26 ^a	17,54 ± 0,82 ^a	17,61 ± 0,83 ^a	85,40 ± 0,41 ^a
P2	65,93 ± 1,34 ^a	1,29 ± 0,25 ^a	17,01 ± 0,90 ^a	17,07 ± 0,91 ^a	85,67 ± 0,68 ^a
P3	65,62 ± 2,94 ^a	1,25 ± 0,07 ^a	16,83 ± 0,53 ^a	16,87 ± 0,54 ^a	85,75 ± 0,29 ^a
P4	65,78 ± 1,86 ^a	1,29 ± 0,08 ^a	17,37 ± 0,50 ^a	17,24 ± 0,48 ^a	85,04 ± 0,57 ^a

Resultados como média de quadruplicada ± desvio padrão. Letras diferentes sobrescritas na mesma coluna (a, b, c) indicam diferença significativa entre os tratamentos aplicados (P < 0, 05, Teste de Tukey). O tratamento P1 foi composto do fermento F1 e *S. cerevisiae*; P2 foi composto do fermento F2 e *S. cerevisiae*; no P3 foram empregados o fermento F3 e *S. cerevisiae*; P4 foi adicionado *S. cerevisiae*

Fonte: Autor.

Choi; Kim; Lee (2016) realizaram a análise de cor no miolo de pães formulados com o fermento *sourdough* tipo II e adicionados apenas de *S. cerevisiae*, obtiveram valores de L* que variaram entre, 83,25 e 78,29, e b* que variaram entre 20,91 e 16,74, respectivamente. Estudos realizados por Borges *et al.* (2011) em pães de sal enriquecidos com farinha integral de linhaça obtiveram valores dos parâmetros de cor, L*, a* e b*, nos miolos dos pães formulados com uma mistura de 90:10 de farinha de trigo e linhaça integral, 68,40; 1,37 e 15,06; respectivamente, valores próximos dos encontrados neste trabalho. Ainda de acordo com Purlis; Salvadori (2009) os valores aceitáveis pelo consumidor de luminosidade se encontram na faixa de 60 a 78, sendo assim positivo o resultado encontrado neste trabalho, pois os consumidores não iriam diferenciar a cor dos pães com fermento *sourdough* de pães fabricados apenas com a *S. cerevisiae*., podendo aumentar sua aceitabilidade.

A textura é um parâmetro muito utilizado pelo consumidor, como indicador de frescor e influência diretamente na aceitabilidade do pão (BRADY; MAYER, 1985). Para se obter um pão de alta qualidade os ingredientes devem ser bem selecionados, sendo que todos eles irão afetar diretamente a textura do pão. Dentre os aspectos avaliados pelo consumidor para distinguir um produto de alta e baixa qualidade estão a dureza inicial, avaliando quão duro, fácil ou difícil é de morder o produto, logo após as características sobre a gomosidade e adesividade, e por fim a velocidade de mastigação. Sendo assim é de grande importância o estudo sobre a textura de diversos alimentos, como o pão (FELLOWS, 2019).

Os resultados das análises do perfil de textura dos pães no primeiro dia e quinto dia de fabricação estão demonstrados na Tabela 10. Os parâmetros de resiliência, coesividade e elasticidade foram analisados utilizando teste estatístico paramétrico, pois as amostras apresentaram dados contínuos, sem tendência e continham normalidade. Os testes paramétricos são considerados mais confiáveis nos dados de saída e foram realizados por análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey (LEITE, 2017).

Para os parâmetros de resiliência e coesividade, os tratamentos no primeiro dia de armazenamento não variaram significativamente entre si ($p > 0,05$), o mesmo ocorreu no quinto dia de armazenamento. Quando comparado os tratamentos no primeiro e quinto dia, para estes dois parâmetros, todos apresentaram diferença estatística entre si ($p > 0,05$). Após 5 dias os pães apresentaram menor resiliência e coesividade. Para o perfil de elasticidade, os tratamentos no primeiro e quinto dia de fabricação, também não apresentaram diferença estatística entre si ($p > 0,05$). A aplicação de dos fermentos *sourdough*, constituído de diferentes microrganismos, quando comparado ao tratamento adicionado apenas de *S. cerevisiae* e o tempo de fabricação analisados, o primeiro e quinto dia, não apresentaram variação para estes parâmetros estudados.

Tabela 10 - Perfil de Textura dos pães no primeiro e quinto dia de armazenamento.

Perfil de textura							
Tratamento	Resiliência(%) \bar{x} dp	Coesividade \bar{x} dp	Elasticidade(%) \bar{x} dp	Dureza (g) $x \pm iqr$	Adesividade (g.s) $x \pm iqr$	Gomosidade $x \pm iqr$	Mastigabilidade $x \pm iqr$
P1 _{1d}	33,58 ± 3,43 ^{aA}	0,69 ± 0,04 ^{aA}	81,35 ± 5,02 ^{aA}	1188,60±1067,79	-20,30 ± 40,77	828,39 ± 687,626	661,93 ± 484,31
P2 _{1d}	34,52 ± 4,92 ^{aA}	0,69 ± 0,07 ^{aA}	83,97 ± 5,71 ^{aA}	80,42 ± 99,55	-61,20 ± 109,01	53,50 ± 59,372	45,85 ± 50,18
P3 _{1d}	31,17 ± 3,22 ^{aA}	0,65 ± 0,02 ^{aA}	82,00 ± 3,04 ^{aA}	94,80 ± 36,12	-186,0 ± 113,43	62,01 ± 21,792	50,72 ± 17,17
P4 _{1d}	35,18 ± 2,22 ^{aA}	0,72 ± 0,03 ^{aA}	85,79 ± 2,15 ^{aA}	415,01 ± 811,82	-27,74 ± 55,94	291,79 ± 569,97	243,82 ± 475,93
P1 _{5d}	24,77 ± 3,92 ^{aB}	0,55 ± 0,04 ^{aB}	79,93 ± 2,64 ^{aA}	5820,05 ± 1573,28	-31,64 ± 64,20	3271,13 ± 569,97	2632,67 ± 1032,39
P2 _{5d}	24,08 ± 2,41 ^{aB}	0,55 ± 0,04 ^{aB}	79,29 ± 5,74 ^{aA}	1589,14 ± 3139,01	-56,34 ± 110,81	862,52 ± 1144,753	718,69 ± 1419,74
P3 _{5d}	19,80 ± 3,94 ^{aB}	0,48 ± 0,06 ^{aB}	79,87 ± 4,42 ^{aA}	3546,52 ± 2336,70	-310,76 ± 576,29	1679,14 ± 1701,99	1357,42 ± 1130,75
P4 _{5d}	21,66 ± 2,43 ^{aB}	0,52 ± 0,03 ^{aB}	80,61 ± 3,20 ^{aB}	6125,45 ± 3139,01	-12,79 ± 26,11	3200,38 ± 906,63	2586,06 ± 821,10

Legenda: Para os parâmetros, resiliência, coesividade e elasticidade, médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si por teste de Tukey ao intervalo de confiança de 95 %, \bar{x} = média dos valores; dp = desvio padrão. Para os parâmetros, dureza, adesividade, gomosidade e mastigabilidade, x =mediana dos valores; iqr= distancia interquartil. O tratamento P1 foi composto do fermento F1 e *S. cerevisiae*; P2 foi composto do fermento F2 e *S. cerevisiae*; no P3 foram empregados o fermento F3 e *S. cerevisiae*; P4 foi adicionado *S. cerevisiae*

Fonte: Autor.

O perfil de coesividade determina o quanto um alimento é deformado antes de atingir o ponto de rompimento, e engloba diversas características secundárias de textura como a gomosidade e mastigabilidade, já a resiliência mede a capacidade que um material possui de após sofrer algum tipo de tensão voltar ao seu estado normal. A elasticidade é um parâmetro que determina a velocidade que um material que sofreu algum tipo de deformação retorna a sua forma não deformada, depois que uma força aplicada sobre ele é retirada (CIVILLE; SZCZESNIAK, 1979; SZCZESNIAK, 2002). De acordo com Sousa (2004) em seu estudo sobre o uso de diferentes concentrações de fermento natural em pão integral, o parâmetro de resiliência e elasticidade apresentaram diferença estatística após 3 e 7 dias de fabricação, foi evidenciado uma redução da elasticidade apenas para o pão controle. Estes resultados corroboram com o obtido neste trabalho, em que apenas o pão com o fermento comercial obteve diferença estatística entre os tempos de armazenamento, sendo que, quanto maior o tempo de armazenamento menor a elasticidade do pão. Hammes; Ganzle (1998) afirmam que a variação do perfil de textura estão diretamente relacionadas com a capacidade de expansão do glúten, resultante da produção de CO₂ pelas leveduras e BAL adicionadas no pão. Chiavaro *et al.* (2008) avaliaram a coesividade e elasticidade em pães formulados com *sourdough*, segundo o estudo estes parâmetros diminuíram com 8 dias de armazenamento.

Para os parâmetros de mastigabilidade, gomosidade, dureza e adesividade foi utilizado teste estatístico não paramétrico, pois as amostras não atenderam às condições necessárias de homocedasticidade e normalidade (LEITE, 2017).

A tabela 11 apresenta a diferenças avaliadas para o parâmetro de gomosidade. A análise de variância por Kruskal-Wallis (teste não paramétrico) para esta variável apresentou valor de $p=0,005236$, isso indica que houve diferença significativa entre as amostras analisadas. O teste de comparação da mediana por Conover-Iman foi usado para avaliar as diferenças estatísticas entre as amostras. De acordo com a tabela 11, os tratamentos no primeiro dia de armazenamento não variaram significativamente entre si, no quinto dia de fabricação, apenas os tratamentos P2 e P4 variaram significativamente, sendo que P4 apresentou a maior mediana, $3200,38 \pm 906,63$. Quando comparado, durante o primeiro e quinto dia de armazenamento, apenas o tratamento P4 apresentou diferença estatística, sendo que no quinto dia de fabricação obteve maior mediana. A gomosidade é considerada uma propriedade secundária de textura, é obtido através da divisão dos parâmetros de dureza e coesividade, é definida como uma força necessária para tornar um alimento mastigável e de fácil deglutição (CIVILLE; SZCZESNIAK, 1973; SZCZESNIAK, 2002).

Tabela 11- Teste de Conover-Iman para a variável gomosidade

V.D. ^a FLAV	P1 _{1d}	P1 _{5d}	P2 _{1d}	P2 _{5d}	P3 _{1d}	P3 _{5d}	P4 _{1d}
P1 _{5d}	0,2960	-	-	-	-	-	-
P2 _{1d}	1,0000	0,0104*	-	-	-	-	-
P2 _{5d}	1,0000	0,0540	1,0000	-	-	-	-
P3 _{1d}	1,0000	0,0110	1,0000	1,0000	-	-	-
P3 _{5d}	1,0000	1,0000	0,2960	1,0000	0,2984	-	-
P4 _{1d}	1,0000	0,0084*	1,0000	1,0000	1,0000	0,2549	-
P4 _{5d}	0,2752	1,0000	0,0094*	0,0493*	0,0104*	1,0000	0,0076*

Legenda: (^a) V.D.: variável dependente; P1_{1d}, P2_{1d}, P3_{1d} e P4_{1d} indicam os diferentes tratamentos no seu primeiro dia de fabricação; P1_{5d}, P2_{5d}, P3_{5d} e P4_{5d}, indicam os diferentes tratamentos após 5 dias de armazenamento; * diferença significativa ao intervalo de confiança de 95 %.

Fonte: Autor.

A tabela 12 apresenta a diferenças avaliadas para o parâmetro de mastigabilidade. A análise de variância por Kruskal-Wallis para a variável mastigabilidade apresentou valor de $p=0,006757$, isso indica que houve diferença significativa entre as amostras analisadas. O teste de comparação da mediana por Conover-Iman foi usado para avaliar as diferenças entre as amostras. De acordo com a tabela 12, os tratamentos no primeiro dia de armazenamento não variaram significativamente entre si o mesmo fato ocorreu no quinto dia de armazenamento. Quando comparado, durante o primeiro e quinto dia de fabricação, apenas o tratamento P4 apresentou diferença estatística, sendo que no quinto dia de fabricação obteve valor de maior mediana, $2586,06 \pm 821,10$. A mastigabilidade, que faz parte do perfil de coesividade, determina o tempo e força necessários para tornar um alimento adequado para ser deglutido (CIVILLE; SZCZESNIAK, 1973; SZCZESNIAK, 2002).

Tabela 12- Teste de Conover-Iman para a variável mastigabilidade

V.D. ^a FLAV	P1 _{1d}	P1 _{5d}	P2 _{1d}	P2 _{5d}	P3 _{1d}	P3 _{5d}	P4 _{1d}
P1 _{5d}	0,446	-	-	-	-	-	-
P2 _{1d}	1,0000	0,022*	-	-	-	-	-
P2 _{5d}	1,0000	0,089	1,0000	-	-	-	-
P3 _{1d}	1,0000	0,017*	1,0000	1,0000	-	-	-
P3 _{5d}	1,0000	1,0000	0,421	1,0000	0,345	-	-
P4 _{1d}	1,0000	0,017*	0,421	1,0000	1,0000	0,345	-
P4 _{5d}	0,350	1,0000	0,017*	0,063	0,012*	1,0000	0,012*

Legenda: (^a) V.D.: variável dependente; P1_{1d}, P2_{1d}, P3_{1d} e P4_{1d} indicam os diferentes tratamentos no seu primeiro dia de fabricação; P1_{5d}, P2_{5d}, P3_{5d} e P4_{5d}, indicam os diferentes tratamentos após 5 dias de fabricação; * diferença significativa ao intervalo de confiança de 95 %.

Fonte: Autor.

A tabela 13 apresenta a diferenças avaliadas para o parâmetro de dureza. A análise de variância por Kruskal-Wallis para a variável dureza apresentou valor de $p=0,004616$, indicando que houve diferença significativa entre as amostras analisadas. O teste de comparação da mediana por Conover-Iman foi usado para as diferenças entre as amostras. A avaliação da tabela 13 indica que os tratamentos no primeiro dia de armazenamento não variaram significativamente entre si o mesmo fato ocorreu no quinto dia de armazenamento. Quando comparado, durante o primeiro e quinto dia de armazenamento, apenas o tratamento P4 apresentou diferença estatística, sendo que no quinto dia de fabricação obteve maior mediana, $6125,45 \pm 3139,01$ g. O perfil de dureza é definido como uma força aplicada em um material até provocar algum tipo de deformação (CIVILLE; SZCZESNIAK, 1973; SZCZESNIAK, 2002).

De acordo com estudos realizados por Vaz (2004), sobre o perfil de textura de pães Mafra e tipo Alentejano, com o uso de fermentação natural, o parâmetro de dureza apresentou resultado de 373 e 161 g, respectivamente, no primeiro dia de fabricação. Rizello *et al.* (2009) avaliaram o perfil de dureza para pães *sourdough* formulados com germen de trigo entre 4 e 8 dias de armazenamento e verificaram que a dureza aumentou com o tempo. Estes resultados vão de acordo com os obtidos por trabalhos realizados por Hebeda *et al.*, (1990), conforme descrito por estes autores o parâmetro de dureza influencia diretamente na aceitabilidade do pão pelo consumidor.

Tabela 13- Teste de Conover-Iman para a variável dureza.

V.D. ^a FLAV	P1 _{1d}	P1 _{5d}	P2 _{1d}	P2 _{5d}	P3 _{1d}	P3 _{5d}	P4 _{1d}
P1 _{5d}	0,2708	-	-	-	-	-	-
P2 _{1d}	1,0000	0,0064*	-	-	-	-	-
P2 _{5d}	1,0000	0,0659	1,0000	-	-	-	-
P3 _{1d}	1,0000	0,0114*	1,0000	1,0000	-	-	-
P3 _{5d}	1,0000	1,0000	0,1559	1,0000	0,2708	-	-
P4 _{1d}	1,0000	0,0064*	0,421	1,0000	1,0000	0,1559	-
P4 _{5d}	0,2708	1,0000	0,0064	0,0659	0,0114*	1,0000	0,0064*

Legenda: (^a) V.D.: variável dependente; P1_{1d}, P2_{1d}, P3_{1d} e P4_{1d} indicam os diferentes tratamentos no seu primeiro dia de fabricação; P1_{5d}, P2_{5d}, P3_{5d} e P4_{5d}, indicam os diferentes tratamentos após 5 dias de fabricação; * diferença significativa ao intervalo de confiança de 95 %.

Fonte: Autor.

A dureza da massa aumenta pois a estrutura formadora do glúten se rompe fazendo com que o amido contido na mesma se ligue com a água, que exsudou de proteínas, que coagularam a partir do processo de cocção, gerando um pão com maior umidade e maciez. Após a cocção o pão é resfriado e armazenado reorganizando assim as moléculas do amido que se reestruturam, assim a água presente nas proteínas evapora tornando o pão mais seco e com aspecto rígido (MADRE, 2017). Os pães formulados, neste trabalho, com o fermento *sourdough* não apresentaram diferenças entre o primeiro e quinto dia de armazenamento, sendo assim um possível resultado positivo, pois os consumidores não irão diferenciar o tempo de armazenamento com a qualidade do pão, contrariamente do que ocorreu no pão formulado apenas com o fermento comercial, que obteve diferença entre os dias de armazenamento.

Para o perfil de adesividade a análise de variância por Kruskal-Wallis apresentou valor de $p=0,1416$, indicando que não houve diferença significativa entre as amostras analisadas. A adesividade mede a força necessária para retirar o alimento do que se adere à boca, durante a análise de textura é avaliada a força negativa necessária para a descompressão do *probe*, ou seja, como a força resultante foi negativa, o *probe* fez mais força para sair da amostra do que para penetrá-la (CIVILLE; SZCZESNIAK, 1973; SZCZESNIAK, 2002). Zhao *et al.*, (2014) descreveu o efeito da acumulação de glutamato em pães *sourdough* com a redução de cloreto de sódio, foi avaliado diversos parâmetros de textura no pão, entre eles, a adesividade que apresentou valor entre 34 g.s para o pão comercial, adicionado apenas de *S. cerevisiae* e 77 g.s para o pão *sourdough*. Ainda de acordo com Di Monaco; Pepe; Cavella (2014) a adesividade de pães formulados com o fermento

sourdough reduz com o tempo de armazenamento, isto se deve ao fato que a umidade também reduz, tornando assim menos coeso, podendo afetar a aceitabilidade do produto para o consumidor (Rohm *et al.* 1997).

A fermentação *sourdough* pode afetar positivamente a textura de um pão, as BAL presentes no fermento produzem diversos componentes, como ácidos orgânicos e principalmente o EPS, que possui a função de substituição da adição de compostos químicos no pão e tem como objetivo melhorar diversos parâmetros de textura (DI MONACO, 2015). Os tratamentos continham diferentes BAL que afetaram positivamente a estrutura do pão, P1 e P3 continha em sua formulação o *Ln citreum*, BAL descrita por Nunes (2018), como uma das maiores produtoras de EPS, P2 continha *W. minor* que foi considerado um dos maiores degradadores de glúten e *L. brevis* como produtor de gás. Sendo assim, o aumento da qualidade do pão pode ser explicado pela alta capacidade de acidificação e maior produção de CO₂, EPS e ácidos orgânicos por BAL adicionadas no fermento *sourdough* (NUNES, 2019).

Os frutanos são considerados um dos maiores componentes do grupo de *FODMAPs*, por apresentar maior representatividade, ou seja, em alimentos como o pão, estão em maior quantidade, quando comparado com outros compostos pertencentes a este grupo (MENEZES, 2019a). Sendo assim, foi realizado um estudo sobre a capacidade de degradação de frutanos, consequentemente *FODMAPs*, sobre pães adicionados de fermento *sourdough*. A tabela 14 apresenta a concentração de frutanos nos pães formulados com e sem a adição do fermento *sourdough*. Os tratamentos P1, P2 e P3 não apresentaram diferença estatística entre si ($p > 0,05$), sendo que apenas P4 diferiu estatisticamente dos demais tratamentos ($p < 0,05$), obtendo maior valor de frutanos, $0,81 \pm 0,15$ g /100g de pão.

Tabela 14 – Concentração de frutanos nos pães formulados com e sem a adição do fermento *sourdough* no primeiro dia de armazenamento.

	Tratamentos			
	P1	P2	P3	P4
Frutanos (g/100g)	$0,17 \pm 0,14^b$	$0,06 \pm 0,04^b$	$0,24 \pm 0,04^b$	$0,81 \pm 0,15^a$

Legenda: Resultados como média de duplicatas \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma linha (a, b, c) indicam diferença significativa entre os tratamentos aplicados ($P < 0,05$ Teste de Tukey). O tratamento P1 foi composto do fermento F1 e *S. cerevisiae*; P2 foi composto do fermento F2 e *S. cerevisiae*; no P3 foram empregados o fermento F3 e *S. cerevisiae*; P4 foi adicionado *S. cerevisiae*

Fonte: Autor.

A redução de frutanos quando comparado ao tratamento formulado apenas com a adição de *S. cerevisiae* foi de 79,01 % e 70,37%, para P1 e P3, respectivamente. P2 obteve a maior redução entre os tratamentos, 92,60%. Menezes *et al.*, (2019) avaliaram o efeito da fermentação *sourdough* na redução de *FODMAPs* em pães, conforme descrito pelos autores houve uma redução significativa da concentração de frutanos, em comparação com o pão controle, formulado com o uso de fermento comercial. De acordo com a literatura, a maioria das pessoas com SII pode tolerar a ingestão de no máximo 0,5 g de *FODMAPs* por refeição, considerando todos os alimentos ingeridos. Os pães *sourdough* tiveram uma concentração abaixo desse valor, enquanto o pão de *S. cerevisiae* apresentou valor acima 0,68g/100g, de acordo com Halmos *et al.* (2014). Assim, os pães *sourdough* obtidos neste estudo são adequados para o consumo de pacientes com SII. Uma dieta reduzida em *FODMAPs* pode aliviar os sintomas da SII e potencialmente da SGNC (RAO; YU; FEDEWA, 2015; ZIEGLER *et al.*, 2016).

Diversos lactobacilos podem expressar algumas enzimas específicas, como a α -Gal não redutora intracelular que possui função de clivar os resíduos terminais de α -galactose da RAF e STA (SILVESTRONI *et al.*, 2002; TEIXEIRA; MCNEILL; GANZLE, 2012), levansucrase e sacarose fosforilase, que possuem a capacidade de converter açúcares do tipo rafinose (TIEKING *et al.*, 2005), e a 1,6- α -glucosidase, capaz de hidrolisar glico-oligossacarídeos (GANZLE; FOLLADOR, 2012). Estas enzimas atuam possivelmente no metabolismo dos *FODMAPs* (TEIXEIRA; MCNEILL; GANZLE, 2012; TIEKING *et al.*, 2005). Já as enzimas localizadas extracelularmente nas BAL degradam moléculas de maior peso molecular, como os frutanos, levando ao acúmulo extracelular de frações curtas, que podem ser conduzidas para a célula bacteriana para a hidrólise intracelular (TSUJIKAXA; NOMOTO; OSAWA, 2013). A BAL presente no fermento *sourdough* ainda é capaz de clivar e converter frutanos em outras moléculas, como frutose e sacarose. Em massas alimentícias compostas por leveduras e bactérias, como o pão, as BAL criaram condições ácidas que melhoram a atividade da invertase das leveduras no meio podendo aumentar ainda mais a degradação dos frutanos. Sendo assim é de grande importância, e preferencialmente, adicionar o fermento *sourdough* em conjunto com o fermento comercial (NILSSON; ÖSTE; JAGERSTAD, 1987).

6 CONCLUSÃO

O desenvolvimento deste trabalho possibilitou um estudo mais aprofundado sobre o uso de diferentes culturas iniciadoras no fermento *sourdough* para a formulação de diferentes pães. Neste sentido pode-se observar que de acordo com os resultados obtidos o fermento *sourdough* proporcionou diversos aspectos positivos, tanto à massa, quanto aos pães. Foi evidenciado a redução da concentração de frutanos nos pães formulados com o fermento *sourdough*. Com relação à cor, os pães não apresentaram diferença entre os tratamentos aplicados. De maneira geral, os pães formulados com o fermento *sourdough* também apresentaram maior acidez, vida de prateleira, tanto no primeiro quanto no quinto dia de armazenamento, e volume específico. Destacando os tratamentos P1 e P3 que foram formulados com culturas iniciadoras, testadas anteriormente com maior poder acidificante. P1 obteve menor contagem de bolores e leveduras e maior volume específico entre os tratamentos testados. Para o perfil de textura, o tratamento P4, formulado com fermento comercial, *S. cerevisiae*, apresentou as maiores diferenças entre os parâmetros e diferentes dias de armazenamento testados, sendo que obteve maior dureza, mastigabilidade e gomosidade.

De acordo com estes resultados, pode ser indicado o uso do tratamento F1, formulado com as culturas iniciadoras, *Lb. farciminis* 4841, *Lc. Citreum* 4900 e *Lb. plantarum* 21 para a formulação de pães que tenham como objetivo alcançar maior vida de prateleira, acidez e volume. Já o tratamento F2, formulado com as culturas iniciadoras *W. minor* 4451, *Lb. farciminis* 4841 e *Lb. brevis* 4901 pode ser usado para a obtenção de pães com menor concentração de frutanos, indicado para consumo de pessoas com a SII. A redução de consumo de *FODMAPs* pode aliviar os sintomas produzidos por esta síndrome. O tratamento F3 obtido por meio da adição de culturas iniciadoras *Lb. fermentum* 17, *Lc. Citreum* 4900 e *W. minor* 4451 pode ser indicado para a obtenção de pães mais ácidos.

Sendo assim, pode-se concluir que os pães formulados com o fermento *sourdough* obtiveram resultados promissores referente à acidez, volume, textura e concentração de frutanos e após 5 dias de armazenamento não foi constatado uma mudança dos dados obtidos pelas análises quando comparado ao pão normalmente vendido comercialmente, com a adição de *S. cerevisiae*. Dada a importância do assunto, torna-se necessário a continuidade do estudo

sobre a aplicabilidade de culturas iniciadoras no fermento *sourdough* para se obter pães com diversos aspectos tecnológicos que beneficiariam tanto a indústria de alimentos quanto o consumidor final.

REFERÊNCIAS

- APLEVICZ, K. S. *et al.* Influence of fermentation time on characteristics of sourdough bread. **Brazilian journal of pharmaceutical sciences**, v. 49, n. 2, p. 233-239, 2013a.
- APLEVICZ, K. S. **Identificação de bactérias ácido lácticas e leveduras em fermento natural obtido a partir de uva e sua aplicação em pães**. 2013. Dissertação (Pós-Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013b.
- ARENDET, E. K.; LIAM, A. M. R.; DAL BELLO, F. Impact of sourdough on the texture of bread. **Food Microbiology**, v. 24, p. 165-174, 2007.
- AXELSSON, L. *et al.* Lactic acid bacteria: classification and physiology. **FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER**. v. 139, p. 1-66, 2004.
- AXFORD, D. W. E. *et al.* Effect of loaf specific volume on the rate and extent of staling in bread. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, v. 19, n. 2, p. 95-101, 1968.
- BARALDI, P. T.; CORREIA, A. G. O emprego de fermento de pão, *Saccharomyces cerevisiae*, na síntese de feromônios. **Química Nova**, v. 27, n. 3, p. 421-431, 2004.
- BARRETT, J. S. How to institute the low-FODMAP diet. **Journal of gastroenterology and hepatology**, v. 32, p. 8-10, 2017.
- BARTKIENE, E. *et al.* The contribution of *P. acidilactici*, *L. plantarum*, and *L. curvatus* starters and L-(+)-lactic acid to the acrylamide content and quality parameters of mixed rye-Wheat bread. **LWT**, v. 80, p. 43-50, 2017.
- BAUMGARTEN, C. **O milagre moderno da multiplicação: a história do pão e da indústria da panificação no Brasil**. HB Editora, 2007.
- BAILEY, A. *et al.* Blessings of bread. **Paddington Press**, [Sn], 1975.

BECHETEL, W. G. *et al.* The effects of crust on the staling of bread. **Cereal Chem**, v. 30, p. 160–68, 1953.

BERNO, L. I.; SPOTO, M. H. F.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Avaliação química e aceitabilidade de pão enriquecido com proteína concentrada do soro de leite bovino (whey protein). **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 18, n. 1, p. 41-49, 2008.

BIESIEKIERSKI, J. R. *et al.* Quantification of fructans, galacto-oligosaccharides and other short-chain carbohydrates in processed grains and cereals. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, v. 24, n. 2, p. 154-176, 2011.

BRADY, P. L.; MAYER, S. M. Correlation of sensory and instrumental measures of bread texture. **Cereal chemistry**, v. 62, n. 1, p. 70-72, 1985.

BRANDT, M. J. Sourdough products for convenient use in baking. **Food Microbiology**, v. 24, p. 161–164, 2007.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – ANVISA. RDC nº 150, de 13 de abril de 2017. Dispõe sobre o enriquecimento das farinhas de trigo e de milho com ferro e ácido fólico. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil União**, Brasília, 17 de abril de 2005. Disponível em:<http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_150_2017_.pdf/a873d3b9-3e93-49f3-b6c5-0f45aefcd348>. Acesso em: 18 maio 2019.

Brasil. Ministério da Agricultura, Agropecuária e Abastecimento. Decreto nº 6.323, de 27 de dezembro de 2007. Dispõe sobre a agricultura orgânica, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil União**, Brasília, 23 de dezembro de 2003. Disponível em<<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/organicos/legislacao/portugues/decreto-no-06-323-de-27-de-dezembro-de-2007.pdf/view.>>. Acesso em: 12 de novembro de 2019.

Brasil. Ministério da Agricultura, Agropecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 8, de 2 de junho de 2005. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade da farinha de trigo. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil União**, Brasília, 03 de junho de 2005. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=803790937>>. Acesso em: 16 de setembro de 2019.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – ANVISA. RDC nº 90, de 18 de outubro de 2000. Aprovar o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Pão. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil União**, Brasília, 11 de outubro de 2000. Disponível em: <<https://sogi8.sogi.com.br/Arquivo/Modulo113.MRID109/Registro13419/documento%201.pdf>>. Acesso em: 27 de agosto de 2019.

Brasil. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos – CNNPA. Resolução nº 38 de 1977. Aprova como coadjuvantes da tecnologia de fabricação as substâncias constantes dos anexos I, II, III e IV, destinadas ao fabrico de produtos forneados, tais como: pão, broa, biscoito, bolacha, bolo, torta e demais produtos afins de confeitaria. **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil União**, Brasília, DF, 27 dez. 1977. Seção 1. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/RESOLUCAO_CNNPA_38_1977.pdf/fedc31c9-811f-4f43-a90d-58f5f4d72bad>. Acesso em: 29 mai. 2019.

BÖCKER, G.; STOLZ, P.; HAMMES, W. P. Neue Erkenntnisse zum Ökosystem Sauerteig und zur Physiologie des sauerteigtypischen Stämme *Lactobacillus sanfrancisco* und *Lactobacillus pontis*. **Getreide Mehl und Brot**, v. 49, p. 370–374, 1995.

BÖHN, L. *et al.* Diet low in *FODMAPs* reduces symptoms of irritable bowel syndrome as well as traditional dietary advice: a randomized controlled trial. **Gastroenterology**, v. 149, n. 6, p. 1399-1407, 2015.

BORGES, J. T. D. S. *et al.* Caracterização físico-química e sensorial de pão de sal enriquecido com farinha integral de linhaça. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 29, n. 1, 2011.

CAPPELLE, S. History and Social Aspects of Sourdough. *In*: GOBBET, M., GÄNNZLE, M. **Handbook on Sourdough Biotechnology**, 1.ed. New York: Springer Science Business Media, v. 1, p. 1-4, 2013.

CASTRO, M. H. M. M. S.; MARCELINO, M. S. **Dossiê técnico fermentos químicos, biológicos e naturais**. Paraná: Brt, 2012.

CANELLA-RAWLS, S. **Pão: arte e ciência**. São Paulo: SENAC, 2005.

CAUVAIN, S. P.; YOUNG, L. S. **Tecnologia de Panificação**. 2.ed. Barueri: Manoele, 2009.

CHAVAN, R.S; CHAVAN, S.R. Sourdough Technology - A traditional way for whole some foods: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 10, p. 169-182, 2011.

CHIAVARO, E. *et al.* Shelf-life stability of artisanally and industrially produced durum wheat sourdough bread (“Altamura bread”). **LWT-Food Science and Technology**, v. 41, n. 1, p. 58-70, 2008.

CHOI, J.; KIM, E.; LEE, K. Quality characteristics of sourdough bread made with kamut sour starter. **Culinary science and hospitality research**, v. 22, n. 5, p. 117-133, 2016.

CIVILLE, G. V.; SZCZESNIAK, A. S. Guidelines to training a texture profile panel. **Journal of texture studies**, v. 4, p. 204-223, 1973.

CLARKE, C. I.; ARENT, E. K. A review of application of sourdough technology to wheat beads. **Advances and Food Nutrition Research**, v. 49, n. 1, p. 137-136, 2005.

CLARKE, C. I. *et al.* Wheat sourdough fermentation: effects of time and acidification on fundamental rheological properties. **Cereal Chemistry**, v. 81, n.3, p.409-417, 2004.

CLARKE, C. I.; SCHOBER, T. J.; ARENDT, E. K. Effect of single strain and traditional mixed strain starter cultures on rheological properties of wheat dough and on bread quality. **Cereal Chemistry**, v. 79, n. 5, p. 640-647, 2002.

CODA, R. *et al.* Selected lactic acid bacteria synthesize antioxidant peptides during sourdough fermentation of cereal flours. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 78, n. 4, p. 1087-1096, 2012.

COLLAR, C. *et al.* Microbial sourdoughs influence acidification properties and breadmaking potential of wheat dough. **Journal of Food Science**, v. 59, p. 629-633, 1994.

CORREIA, Paula *et al.* Pão São, uma alternativa ao pão tradicional. **11º Encontro de Química dos Alimentos**, 2012.

CORSETTI, A.; SETTANI, L. Lactobacilli in sourdough fermentation. **Food Research International**, v.40, p.539-558, 2007.

CORSETTI, A.; GOBBETTI, M.; SMACCHI, E. Antibacterial activity of sourdough lactic acid bacteria: isolation of a bacteriocin-like inhibitory substance from *Lactobacillus sanfrancisco* C57. **Food Microbiology**, v. 13, n. 6, p. 447-456. 1996.

CORSETTI, A.; SETTANNI, L.; VAN SINDEREN, D. Characterization of bacteriocin-like inhibitory substances (BLIS) from sourdough lactic acid bacteria and evaluation of their in vitro and in situ activity. **Journal of Applied Microbiology**, v. 96, n. 3, p. 521-534, 2004.

CREPALDI, L. A influência das cores na decisão de compras: um estudo do comportamento do consumidor no ABC paulista. *In: Congresso Brasileiro de Ciências da Comunicação*. 2006. p. 1-14.

DECOCK, P.; CAPPELLE, S. 2005. Bread technology and sourdough technology. **Trends Food Science Technology**, v. 16, p. 113–20, 2005.

DELCOUR, J. A.; HOSENEY, R. C. Principles of cereal science and technology, AACC International. **Inc., St. Paul, MN, USA**, p. 229-235, 2010.

DE DEA LINDNER, J. *et al.* Fermented Foods and Human Health Benefits of Fermented Functional Foods. **Fermentation Processes Engineering In The Food Industry**, p. 263-298, 2013.

DE MARCO, I. **Atividade antilisterial de peptídeos sintetizados por *Lactococcus lactis* subsp. *hordniae* e sua aplicação na bioconservação de alface (*Lactuca sativa*) variedade crespa minimamente processada.** 2019. Dissertação (Mestrado em Ciência e tecnologia de alimentos) – Universidade Estadual de Santa Catarina, Pinhalzinho, 2019.

DE MARTINIS, E. C. P. *et al.* Fundamentals and perspectives for the use of bacteriocins produced by lactic acid bacteria in meat products. **Food Reviews International**, v. 18, n. 2, p. 191-208, 2002.

DERTLI, E. *et al.* Characterisation of lactic acid bacteria from Turkish sourdough and determination of their exopolysaccharide (EPS) production characteristics. **LWT-Food Science and Technology**, v. 71, p. 116-124, 2016.

DE VALDEZ, G. F. *et al.* **New trends in cereal based products using lactic acid bacteria.** *In:* MOZZI, F.; RAYA, R. R.; VIGNOLO, G. M. Biotechnology of lactic acid bacteria: novel applications. Wiley-Blackwell, Iowa, 2010.

DE VUYST *et al.* The biodiversity of lactic acid bacteria in Greek traditional wheat sourdoughs is reflected in both composition and metabolite formation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 12, p. 1059-1069, 2002.

DE VUYST, L.; NEYSENS, P. The sourdough microflora: Biodiversity and metabolic interactions. **Trends in Food Science and Technology**, v. 16, p. 43-56, 2005.

DE VUYST, L.; VANCANNEYT, M. Biodiversity and identification of sourdough lactic acid bacteria. **Food Microbiology**, v. 24, p. 120-127, 2007.

DE VUYST, L. et al. Microbial ecology of sourdough fermentations: diverse or uniform?. **Food microbiology**, v. 37, p. 11-29, 2014.

DI CAGNO, *et al.* Use of selected sourdough strains of *Lactobacillus* for removing gluten and enhancing the nutritional properties of gluten-free bread. **Journal Food Prot.**, v. 71, p. 1491-1495, 2008.

DI MONACO, R. *et al.* Effect of sourdough with exopolysaccharide (EPS)-producing lactic acid bacteria (LAB) on sensory quality of bread during shelf life. **Food and bioprocess technology**, v. 8, n. 3, p. 691-701, 2015.

EDEMA, M. O.; SANNI, A. I. Functional properties of selected starter cultures for sour maize bread. **Food Microbiology**, v. 25, n. 4, p. 616-625, 2008.

EL-DASH, A. A. **Fundamentos da tecnologia de panificação**. Coodenadoria da Indústria e Comércio, 1982.

EMBRAPA. **Trigo**. [S.l. : s.n]. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/trigo1>>. Acesso em: 6 maio 2019.

ESTELLER, M. S. *et al.* The effect of kefir addition on microstructure parameters and physical properties of porous white Bread. **Europe Food Research and Technology**, v. 222, p. 26-31, 2006.

ESTELLER, M. S.; DA SILVA LANNES, S. C. Parâmetros complementares para fixação de identidade e qualidade de produtos panificados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 802-806, 2005.

FANI, M. Panificação: os ingredientes enriquecedores. **Food Ingredients Brasil**, v. 12, n. 10, p. 22-27, 2009.

FARIAS, L. R. G. **Avaliação de qualidade do pão tipo francês por métodos instrumentais e sensoriais**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2012.

FADANI, *et al.* Museum Der Brotkultur Gegrundet 1955, ULM. [S.l : s.n], 2012.

FELLOWS, P. Tecnologia do processamento de alimentos. ed. 2. RS: Porto Alegre: Artmed, 2019.

FILISSETTI, T. M. C. C. Determinação de frutanos (Inulina e frutoligossacarídeos) em alimentos consumidos na dieta brasileira. **Fapesp**, 2002.

FIORUCCI, A. R. *et al.* **Ácidos orgânicos: dos primórdios da química experimental à sua presença em nosso cotidiano**. 2002.

FLEMING, H. P.; ETCHELLS, J. L.; COSTILOW, R. N. Microbial Inhibition by an Isolate of *Pediococcus* from Cucumber Brines?. **Appuzd Microbiology**, v. 30, n. 6, p. 1040–1042, 1975.

FLANDER, L. *et al.* Effects of wheat sourdough process on the quality of mixed oat-wheat bread. **LWT-Food Science and Technology**, v. 44, n. 3, p. 656-664, 2011.

FOX, Patrick F. *et al.* **Fundamentals of cheese science**. Boston, MA, USA: Springer, 2017.

GAENSLY, F. *et al.* Iron enriched *Saccharomyces cerevisiae* maintains its fermenting power and bakery properties. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 4, p. 980-983, 2011.

GALLE, S. ARENT, Exopolysaccharides from Sourdough Lactic Acid Bacteria. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, p. 891-901, 2013.

GANZEL, M. G.; LOPONEN, J.; GOBBETTI, M. Proteolysis in sourdough fermentations: mechanisms and potential for improved bread quality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, p. 513-521, 2008.

GANZLE, M. G.; FOLLADOR, R. Metabolism of oligosaccharides and starch in lactobacilli: a review. **Frontiers in microbiology**, v. 3, p. 340, 2012.

GEREZ, C. L. *et al.* Prevention of bread mould spoilage by using lactic acid bacteria with antifungal properties. **Food Control**, v. 20, p. 144-148, 2009.

GOBBETTI, M. *et al.* How the sourdough may affect the functional features of leavened baked goods. **Food Microbiology**, v. 37, p. 30-40, 2014.

GOBBETTI, M. *et al.* Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria. **Trends in Food Science and Technology**, v. 16, p. 57-69, 2005.

GOBBET, M. *et al.* Added pentosans in breadmaking: fermentations of derived pentoses by sourdough lactic acid bacteria. **Food Microbiol**, v. 16, p. 409-418, 1999.

GOBBETTI, M. The sourdough microflora: interactions of lactic acid bacteria and yeasts. **Trends in Food Science & Technology**, v. 9, n. 7, p. 267-274, 1998.

GOBBETTI, M. *et al.* Volatile compound and organic acid productions by mixed wheat sourdough starters: influence of fermentation parameters and dynamics during baking. **Food Microbiology**, v. 12, p. 497-507, 1995.

GOCMEN, D. *et al.* The effects of wheat sourdough on glutenin patterns, dough rheology and bread properties. **European Food Research and Technology**, v. 225, n. 5-6, p. 821-830, 2007.

GUAGLIA, G. **Ciencia y tecnología de La panificación**. España: Acribia, 1991. p.485.

GÜL, H. *et al.* Sourdough bread production with lactobacilli and *S. cerevisiae* isolated from sourdoughs. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 2, p. 691-697, 2005.

GUARIENTI, E. M. Qualidade industrial de trigo. **Embrapa Trigo-Documents (INFOTECA-E)**, 1996.

GUIMARÃES, A. D.; OLIVEIRA, S. R.; SILVA, V. M. **TECNOLOGIA EM GASTRONOMIA: LEVAIN, PANIFICAÇÃO PROCESSO DE FERMENTAÇÃO NATURAL**. 2014. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Tecnologia de Gastronômica) - Famesp, São Paulo, 2014.

GUINET, R.; GODON, B. **La Panification Française**. Barcelona, España: Ed. Montagu, 1996.

HAGER, A. S. *et al.* Investigation of product quality, sensory profile and ultrastructure of breads made from a range of commercial gluten-free flours compared to their wheat counterparts. **Europe Food Research and Technology**, v. 235, p. 333-344, 2012.

HALLÉN, E.; İBANOĞLU, Ş.; AINSWORTH, P. Effect of fermented/germinated cowpea flour addition on the rheological and baking properties of wheat flour. **Journal of food engineering**, v. 63, n. 2, p. 177-184, 2004.

HALMOS, E. P. *et al.* A diet low in FODMAPs reduces symptoms of irritable bowel syndrome. **Gastroenterology**, v. 146, n. 1, p. 67-75, 2014.

HAMMES, W. P.; GÄNZLE, M. G. Sourdough breads and related products. *In: Microbiology of fermented foods*. Springer, Boston, MA, 1998. p. 199-216.

HANSEN, A.; SCHIEBERLE, P. Generation of aroma compounds during sourdough fermentation: applied and fundamental aspects. **Trends in Food Science & Technology**, v. 16, n. 1-3, p. 85-94, 2005.

HANSEN, A.; LUND, B.; LEWIS, M. J. Flavour of sourdough rye bread crumb. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v. 22, p. 141-144, 1989.

HEBEDA, R. E. *et al.* Developments in enzymes for retarding staling of baked goods. **Cereal Foods World**, v. 35, n. 5, p. 453-457, 1990.

HUERTAS, P. R. A. Review lactic acid bacteria: functional role in the foods. **Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial**, v. 8, n. 1, p. 93-105, 2010.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**, 4.ed. São Paulo, Inst. Adolfo Lutz, 2008, v.1, p.1020.

IGNÁCIO, A. K. F. *et al.* Efeito da substituição de cloreto de sódio por cloreto de potássio em pão francês. **Brazilian Journal Of Food Technology**, v. 16, n. 1, p. 01-11, 2013.

KATZ, E. S. **A arte da fermentação**. 1 ed. São Paulo: Tapioca, 2014.

KATINA, K. *et al.* Potential of sourdough for healthier cereal products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 16, n. 1-3, p. 104-112, 2005.

KETABI, A. *et al.* Production of microbial exopolysaccharides in the sourdough and its effects on the rheological properties of dough. **Food research international**, v. 41, n. 10, p. 948-951, 2008.

KILCAST, D. **Texture in Foods: Vol. 2: Solid Foods**, Woodhead, Cambridge. **McKenna, BM (ed.)**, 2003.

KIRSCHNER, L.; VON HOLY, A. Rye spoilage of bread. **S. Afr. J. Sci.** v.85, p.425-427. 1989.

LEITE, C. E. C. **Novas culturas de batatas-doce (Ipomoea batatas L. Lam.): Potencial nutricional, compostos bioativos, propriedades antioxidantes e análise digital de imagem**. 2017. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Paraná, Pato Branco, 2017.

MADRE, Massa. **Afinal, porque o pão endurece?** 2017. Disponível em: <<https://massamadreblog.com.br/know-how/curiosidades/afinal-por-que-o-pao-endurece/>>. Acesso em: 7 nov. 2019.

MARTINBIANCO, F. *et al.* Avaliação sensorial de pães de fermentação natural a partir de culturas starters inovadoras. **Ciência Rural**, v. 43, n. 9, p. 1701-1706, 2013.

MARTÍNEZ-ANAYA, M. A. *et al.* Regulation of acetic acid production by homo- and heterofermentative lactobacilli in whole-wheat sour-doughs. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung**, v. 199, n. 3, p. 186-190, 1994.

MCDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. The biochemistry of silage 2nd ed. **Marlow, UK: Chalcombe Publications**, 1991.

MENEZES, L. A. A. **Sourdough biotechnology for improving bread nutritional properties**. 2019. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019a

MENEZES, L. A. A. *et al.* Use of sourdough fermentation to reducing FODMAPs in breads. **European Food Research and Technology**, v. 245, n. 6, p. 1183-1195, 2019b.

MENEZES, L. A. A. *et al.* Effects of sourdough on FODMAPs in bread and potential outcomes on irritable bowel syndrome patients and healthy subjects. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 1972, 2018.

MESSENS, W.; DE VUYST, L. Inhibitory substances produced by Lactobacilli isolated from sourdoughs – a review. **International Journal Food Microbiology**, v. 72, p. 267-274, 1998.

- MINERVINI, F. *et al.* Ecological parameters influencing microbial diversity and stability of traditional sourdough. **International journal of food microbiology**, v. 171, p. 136-146, 2014.
- MINERVINI, F. *et al.* Robusiness of *Lactobacillus plantarum* starters during daily propagation of whole wheat flour sourdough type. **Food Microbiol**, v. 27, p. 897-908, 2010.
- MUIR, J. G. *et al.* Measurement of short-chain carbohydrates in common Australian vegetables and fruits by high-performance liquid chromatography (HPLC). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 57, n. 2, p. 554-565, 2009.
- MÜLLER, M. R. A. *et al.* Monitoring the growth of *Lactobacillus* species during a rye flour fermentation. **Food Microbiology**, v. 18, p. 217-227, 2001.
- NILSSON, U.; ÖSTE, R.; JÄGERSTAD, M. Cereal fructans: Hydrolysis by yeast invertase, in vitro and during fermentation. **Journal of Cereal Science**, v. 6, n. 1, p. 53-60, 1987.
- NIONELLI, L.; RIZZELLO, C. G. Sourdough-based biotechnologies for the production of gluten-free foods. **Foods**, v. 5, n. 3, p. 65, 2016.
- NITZKE, J. A.; BIEDRZYCKI, A. **Crescimento da massa**. [S.l : s.n], 2004.
- NUNES, C. C. **Caracterização da aptidão tecnológica de bactérias ácido-láticas para a aplicação como cultura iniciadora de sourdough**. 2018. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Ciência e Tecnologia de alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018.
- OLIVEIRA, N. M. A. L. *et al.* Características físico-químicas e sensoriais de pão de forma enriquecido com concentrado proteico de soro de leite e carbonato de cálcio. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 70, n. 1, p. 16-22, 2011.

OMEDI, J. O. *et al.* Effect of five lactic acid bacteria starter type on angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity and emulsifying properties of soy flour sourdoughs with and without wheat bran supplementation. **Journal of Cereal Science**, v. 69, p. 57-63, 2016.

OSBORNE, T. B. **The proteins of the wheat kernel**. Carnegie institution of Washington, 1907.

PALLARES M. G. *et al.* Trigo. *In*: LEÓN, A. E. ROSELL C. M. **De tales harinas, tales panes - Granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica**. Córbona: Hugo Báez, 2007, p. 17-71.

PARAMITHIOTIS, S. *et al.* Application of selected starter cultures for the production of wheat sourdough bread using a traditional three-stage procedure. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 8, p. 2813-2819, 2005.

PARAMITHIOTIS, S. *et al.* Interactions between *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria in sourdough. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 12, p. 2429-2433, 2006.

PARAMITHIOTIS, S. *et al.* Flour carbohydrate catabolism and metabolite production by sourdough lactic acid bacteria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 23, n. 10, p. 1417-1423, 2007.

PAPADIMITRIOU, S. *et al.* Sourdough Bread. *In*: **Innovations in Traditional Foods**. Woodhead Publishing, 2019. p. 127-158.

PATERSON, Alistair *et al.* Flavour in sourdough breads: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v.17, n.10, p.557-566, 2006.

PAUTANEN, K.; FLANDE R, L.; KATINA, K. Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective. **Food Microbiology**, v. 26, p. 693–699, 2009.

PIPER, P. *et al.* The Pdr12 ABC transporter is required for the development of weak organic acid resistance in yeast. **The EMBO journal**, v.17, n. 15, p. 4257-4265, 1998.

PIZZINATTO, A.; HOSENEY, R. C. Rheological changes in cracker sponges during fermentation. **Cereal Chem.**, v. 57, n. 3, p. 186-188, 1980.

PLESSAS, S. *et al.* Kefir immobilized on corn grains as biocatalyst for lactic acid fermentation and sourdough bread making. **Journal of food science**, v. 77, n. 12, p. 1256-1262, 2012.

PLESSAS, S. *et al.* Application of novel starter cultures for sourdough bread production. **Anaerobe**, v. 17, p. 486-489. 2011.

PURLIS, E.; SALVADORI, V. O. Modelling the browning of bread during baking. **Food Research International**, v. 42, n. 7, p. 865-870, 2009.

RAO, S. S. C.; YU, S.; FEDEWA, A. Systematic review: dietary fibre and FODMAP-restricted diet in the management of constipation and irritable bowel syndrome. **Alimentary pharmacology & therapeutics**, v. 41, n. 12, p. 1256-1270, 2015.

RASCH, M.; KNÖCHEL, S. Variations in tolerance of *Listeria monocytogenes* to nisin, pediocin PA-1 and bavaricin A. **Letters in applied microbiology**, v. 27, n. 5, p. 275-278, 1998.

RIZZELLO, C. G. *et al.* Micronized by-products from debranned durum wheat and sourdough fermentation enhanced the nutritional, textural and sensory features of bread. **Food Research International**, v. 46, n. 1, p. 304-313, 2012.

ROCHA, J. M.; MALCATA, F. X. On the microbiological profile of traditional Portuguese sourdough. **Journal of food protection**, v. 62, n. 12, p. 1416-1429, 1999.

RODRIGUES L. G.; STEINMACHER, N. C. Desenvolvimento de pão com fermentação natural “sourdough” adicionado de farinha de painço. **Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia – CONTECC**, 2016.

ROHM, H. *et al.* A video-based method for determination of average stress-strain relations in uniaxial compression of selected foods. **Journal of texture studies**, v. 28, n. 3, p. 245-255, 1997.

SABINO, A. C.; SOUSA, J. D. C. D.; SANTOS, J. P. D. **Desenvolvimento de pão sourdough sem glúten a partir de culturas starters**. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnólogo em Alimentos) – Universidade tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2015.

SADEGHI, A. The secrets of sourdough: a review of miraculous potentials of sourdough in bread shelf life. **Biotechnology**, v. 7, p.413-417, 2008.

SAKANDAR, H. A. *et al.* Sourdough bread: A contemporary cereal fermented product. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 43, n. 3, 2019.

SHEWRY, P. R.; Hey, S. J. The contribution of wheat to human diet and health. **Food and Energy Security**, v. 4, p. 178-202, 2015.

SKODJE, G. I. *et al.* Fructan, rather than gluten, induces symptoms in patients with self-reported non-celiac gluten sensitivity. **Gastroenterology**, v. 154, n. 3, p. 529-539, 2018.

SCHITTLER, L. **Isolamento e caracterização fenotípica e molecular de bactérias ácido lácticas bacteriocinogênicas em leite in natura da região oeste de Santa Catarina**. 2012. Dissertação (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.

SEBRAE, Estudo de mercado indústria: Panificação, Brasília: **Sebrae**, 2017. Disponível em: <<https://m.sebrae.com.br/Sebrae/Portal%20Sebrae/UFs/BA/Anexos/Ind%C3%BAstria%20da%20panifica%C3%A7%C3%A3o.pdf>>. Acesso em: 26 ago. 2019.

SIEBEL, W.; BRUMMER, J. Sourdough Process for Bread in Germany. **Cereal Foods World**, v. 36, n. 3, p. 299-304, 1991.

SIEPMANN, F. B. *et al.* Overview of sourdough technology: from production to marketing. **Food and bioprocess technology**, v. 11, n. 2, p. 242-270, 2018.

SIEPMANN, F. B. **Avaliação do crescimento microbiano e dos parâmetros tecnológicos do sourdough tipo I e do tipo II adicionado de diferentes bactérias lácticas**. 2019. Tese (Doutorado em Engenharia dos alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2019.

SILVA, L. J. M. **Isolamento e Caracterização Bioquímica das Bactérias do Ácido Láctico do Queijo São Jorge DOP**. 2011. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar) – Universidade dos Açores, Angra do Heroísmo, 2011a.

SILVA, G. A. S. *et al.* Avaliação físico-química do pãozinho de 50 gramas comercializado no interior da Paraíba. **Caderno verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável**, v. 1, n. 1, 2011b.

SILVA, P. K. M. **Avaliação do potencial de assimilação açúcares da bactéria *Lactobacillus vini* a partir meios de cultivo sintéticos**. 2015. 50 f. Dissertação (Mestrado em ciências biológicas) – Universidade federal de Pernambuco, Recife, 2015.

SILVESTRONI, A. *et al.* Characterization of the melA locus for α -galactosidase in *Lactobacillus plantarum*. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 68, n. 11, p. 5464-5471, 2002.

SIRAGURASA, S. *et al.* Taxonomic structure and monitoring of the dominant population of lactic acid bacteria during wheat flour sourdough type I propagation using *Lactobacillus sanfranciscensis* iniciadoras. **Appl Environ Microbiol**, v. 75, p. 1099-1109, 2009.

SOUSA, E. A. D. **Desenvolvimento e qualidade de pães de forma integral adicionados de diferentes concentrações de fermento natural**. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Gastronomia) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017.

STEFANELLO, R. F. **Produção, Liofilização e Aplicação de fermento natural em pão tipo sourdough**. 2014. 160 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2014.

STOLZ, P.; BÖCKER, G. Technology, properties and applications of sourdough products. **Advances in food sciences**, v. 18, n. 6, p.234-236, 1996.

SU, M. S.; SCHLICHT, S.; GÄNZLE, M. G. Contribution of glutamate decarboxylase in *Lactobacillus reuteri* to acid resistance and persistence in sourdough fermentation. *In: Microbial cell factories*. BioMed Central, 2011.

SUN, Z. *et al.* Phylogenesis and Evolution of Lactic Acid Bacteria. *In: Lactic Acid Bacteria: fundamental and practice*. ZHANG, H.; CAI, Y. Dordrecht: **Springer Science**, p.1-101, 2014.

SZCZESNIAK, A. S. Classification of mouthfeel characteristics of beverages. **Food texture and rheology**, p. 1-20, 1979.

SZCZESNIAK, A. S. Texture is a sensory property. **Food quality and preference**, v. 13, n. 4, p. 215-225, 2002.

TEIXEIRA, J. S.; MCNEILL, V.; GÄNZLE, M. G. Levansucrase and sucrose phosphorylase contribute to raffinose, stachyose, and verbascose metabolism by lactobacilli. **Food microbiology**, v. 31, n. 2, p. 278-284, 2012.

TIEKING, M. *et al.* Evidence for formation of heterooligosaccharides by *Lactobacillus sanfranciscensis* during growth in wheat sourdough. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 7, p. 2456-2461, 2005.

THE BENEFITS OF SOURDOUGH. West Linton: Macbiehill Farmhouse, 2013. Disponível em: <<https://www.breadmatters.com/the-benefits-of-sourdough/>>. Acesso em: 3 jun. 2019.

THIELE, C.; GÄNZLE, M. G.; VOGEL, R. F. Contribution of sourdough lactobacilli, yeast, and cereal enzymes to the generation of amino acids in dough relevant for bread flavor. **Cereal Chemistry**, v. 79, n. 1, p. 45-51, 2002.

TONETTO, T. C. **Melhoria nas características sensoriais de pão isento de glúten a partir da fermentação natural.** (2018). Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2018.

TORRIERI, E. *et al.* Effect of sourdough at different concentrations on quality and shelf life of bread. **LWT-Food Science and Technology**, v. 56, n. 2, p. 508-516, 2014.

TSUJIKAWA, Y.; NOMOTO, R.; OSAWA, R. Difference in degradation patterns on inulin-type fructans among strains of *Lactobacillus delbrueckii* and *Lactobacillus paracasei*. **Bioscience of microbiota, food and health**, v. 32, n. 4, p. 157-165, 2013.

VAZ, M. A. M. **Aproximação ao estudo da tipicidade do pão alentejano.** 2004. Relatório do trabalho de fim de curso de engenharia alimentar (Bacharel em Engenharia) – Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2004.

VERMEULEN, N. *et al.* Influence of redox-reactions catalysed by homo- and heterofermentative lactobacilli on gluten in wheat sourdoughs. **Journal Of Cereal Science**, v. 43, n. 2, p. 137-143, 2006.

VITTI, P. Pão. *In*: AQUARONE, E. *et al.* **Biotechnologia industrial.** São Paulo: Edgar Blücher, 2001. v. 4, p.371.

WOOD, B. J. B. **Microbiology of Fermented Foods.** Glasgow, UK: Black Academic And Professional, p. 852, 1997.

ZANNINI, E.; ARENDT, E. K. Low FODMAPs and gluten-free foods for irritable bowel syndrome treatment: Lights and shadows. **Food research international**, v. 110, p. 33-41, 2018.

ZHAO, Cindy J. *et al.* Effect of glutamate accumulation during sourdough fermentation with *Lactobacillus reuteri* on the taste of bread and sodium-reduced bread. **Cereal Chemistry**, v. 92, n. 2, p. 224-230, 2015.

ZIEGLER, J. U. *et al.* Wheat and the irritable bowel syndrome–FODMAP levels of modern and ancient species and their retention during bread making. **Journal of functional foods**, v. 25, p. 257-266, 2016.

ZORZI, C. Z. Avaliação do processo de liofilização de um fermento natural do tipo levain. 2016.