

*Fermentação natural de pães – Análise sensorial e
laboratorial de pães e massas mãe produzidos a partir de
farinhas com grau diferente de industrialização*

Gabriela Guida de Freitas

Peniche, 2022

*Fermentação natural de pães – Análise sensorial e
laboratorial de pães e massas mãe produzidos a partir de
farinhas com grau diferente de industrialização*

Gabriela Guida de Freitas

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Gastronomia

Dissertação de Mestrado realizada sob a orientação da Professora Maria Jorge Campos e
da Professora Maria Manuel Lopes Sampaio Cristóvão

Peniche, 2022

*Fermentação natural de pães – Análise sensorial e
laboratorial de pães e massas mãe produzidos a partir de
farinhas com grau diferente de industrialização*

© Copyright Gabriela Guida de Freitas, Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar, Politécnico de Leiria

A Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar e o Politécnico de Leiria têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta Dissertação de mestrado através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Resumo

O pão é um dos alimentos mais antigos produzidos pelo homem e a forma de produção passou por muita evolução ao longo dos anos. Apesar de os ingredientes utilizados serem praticamente os mesmos, água, farinha, sal e fermento, os utensílios e equipamentos usados mudaram muito com o avanço da industrialização, mas especialmente o tipo e tempo de fermentação utilizada passou por mudanças significativas. A fermentação natural, que nas últimas décadas foi substituída por fermentos industrialmente produzidos, com a pandemia do vírus SARS-CoV-2 passou a ser novamente adotada diante da tendência de as pessoas voltarem a fazer pão em casa e de maneira mais artesanal. Diante desse contexto, esse trabalho propõe-se a estudar a fermentação natural de pães com dois objetivos principais, observar características sensoriais de pães produzidos a partir de três farinhas com diferentes graus de industrialização e analisar características microbiológicas de fermentos naturais produzidos a partir dessas farinhas, estabelecendo possíveis correlações entre os microrganismos encontrados e resultados da análise sensorial.

Palavras-chave

Pão, fermentação, artesanal, farinhas, análise sensorial, microrganismos

Abstract

Bread is one of the oldest food produced by man and the way it is produced has gone through a lot of evolution over the years. Although the ingredients used are practically the same, water, flour, salt and yeast, the utensils and equipment used have changed a lot with the advance of industrialization, but especially the type and time of fermentation used has undergone significant changes. Natural leavening, which in recent decades has been replaced by industrially produced leaven, with the SARS-CoV-2 pandemic has been adopted again due to the tendency of people to return to making bread at home in a more artisanal way. In this context, this work aims to study the natural fermentation of breads with two main objectives: to observe sensory characteristics of breads produced from three flours with different degrees of industrialization and to analyse microbiological characteristics of natural yeasts produced from these flours, establishing possible correlations between the microorganisms found and the results of sensory analysis.

Keywords

Bread, fermentation, artisanal, flour, sensory characteristics, microorganisms

Índice

| | |
|---|----|
| 1. Introdução | 9 |
| 3. Enquadramento teórico | 12 |
| 3.1. A história do pão | 12 |
| 3.2. Consumo de pão e Produção de trigo..... | 13 |
| 3.3. Composição do pão | 14 |
| 3.4. Sobre o trigo | 14 |
| 3.5. Sobre as farinhas..... | 16 |
| 3.6. Processo de fermentação de pães | 17 |
| 4. Materiais e Métodos | 21 |
| 4.1. Processo produção do fermento natural | 21 |
| 4.2. Processo de produção do pão..... | 26 |
| 4.3. Isolamento de microrganismo das massas mãe | 31 |
| 4.4. Identificação dos microrganismos das massas mãe | 31 |
| 4.5. Análise sensorial | 32 |
| 5. Resultados | 34 |
| 5.1. Resultados Análise sensorial | 34 |
| 5.2. Resultados isolamento e identificação dos microrganismos | 40 |
| Conclusão | 42 |
| Referências..... | 44 |
| Anexos..... | 50 |

Índice de figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Anatomia de um grão de trigo | 15 |
| Figura 2 - Desenho Molécula de glúten | 16 |
| Figura 3 - Massas mães no primeiro dia do processo de produção | 22 |
| Figura 4 - Massas mães no início da segunda etapa de seu processo de produção | 23 |
| Figura 5 - Massas mães no meio da segunda etapa de seu processo de produção | 24 |
| Figura 6 - Pães produzidos a partir de fermentação natural com as farinhas Rodrigues (R), Paulino Horta (PH) e Nacional (N) | 29 |
| Figura 7 - Scan de Alvéolos pão farinha Nacional..... | 30 |
| Figura 8 - Scan de Alvéolos pão farinha Rodrigues..... | 30 |
| Figura 9 - Scan de Alvéolos pão farinha Paulino Horta..... | 30 |
| Figura 10 - Pães ofertados aos provadores na análise sensorial..... | 33 |
| Figura 11 - Sala de prova durante o decorrer da prova sensorial dos pães produzidos..... | 34 |
| Figura 12 - Resultado análise sensorial no quesito aparência | 35 |
| Figura 13 - Resultado análise sensorial no quesito odor | 37 |
| Figura 14 - Resultado análise sensorial no quesito textura | 38 |
| Figura 15 - Resultado análise sensorial no quesito sabor..... | 39 |
| Figura 16 - Compilado de resultados análise sensorial | 40 |

Índice de tabelas

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Tempo que massas mãe levaram para dobrar de volume na primeira etapa | 24 |
| Tabela 2 - Tempo que massas mãe levaram para dobrar de volume na segunda etapa..... | 25 |
| Tabela 3 - Tempo que massas mãe levaram para dobrar de volume na última etapa..... | 26 |
| Tabela 4 - Nomenclatura atribuídas às diferentes colónias isoladas, das distintas massa-mãe | 41 |
| Tabela 5 - Resultados amplificação por PCR..... | 41 |

1. Introdução

Sabemos que o pão é um dos alimentos mais antigos do mundo, dada sua simplicidade feito através de farinha e água, ele era consumido desde civilizações muito antigas. Com o desenvolvimento da sociedade, a forma de produzir pão passou por grandes mudanças até chegar ao que é hoje, um alimento que é consumido em todas as nações e amplamente disponível (Song, 2011).

A origem do pão na humanidade está relacionada com o início do cultivo de grãos e cereais como o trigo há seis mil anos atrás na região da Mesopotâmia (SindiTrigo, s.d.). No início, o pão era consumido como uma papa crua produzida através da junção de farinha e água. Com o passar do tempo, novas ferramentas de cozinha passaram a ser criadas e essa papa passa a ser assada. Há registos que mostram que a fermentação natural foi descoberta no Egito quando um pedaço da massa crua ficou esquecida até o dia seguinte e ao juntá-la com as novas massas produzidas, a fermentação e crescimento foi muito mais acelerado (Massa Madre, 2018).

Portanto, apesar da fermentação natural de pães ser apresentada atualmente como uma moda ou tendência, é na verdade um processo utilizado desde a produção dos primeiros pães. Se analisarmos a evolução da panificação, poderemos verificar que antigamente os pães eram produzidos artesanalmente, com uma longa fermentação e processo extremamente demorado. Com o desenvolvimento da sociedade, exigiu-se que o processo fosse mais rápido, para isto o tempo de preparo e a fermentação foram reduzidos, comprometendo-se o sabor e aroma do produto final (Hensperger, 1999).

A fermentação natural na panificação é o produto da ação de microrganismos que se alimentam da mistura de farinha e água. Eles consomem os açúcares contidos no trigo e, em troca, produzem gás carbônico, álcool e ácidos. Basta expor a massa de farinha e água ao

ambiente e esperar que ela seja dominada por uma complexa flora microscópica, presente no ar e no trigo, composta por leveduras selvagens (fungos) e bactérias (Silva e Friscio, 2021).

Além de resgatar a tradição que está na origem do processo de produção de pães, o fermento natural também tem se tornado popular por suas vantagens em termos de saúde para os que o consomem. Dentre as principais, fala-se muito da fácil digestão desse pão, como ele passa por uma fermentação lenta antes de ser assado e não fermenta em nosso organismo, torna-se muito mais leve e os desconfortos abdominais são bastante reduzidos. Além disso, esse tipo de fermentação altera as características nutricionais dos cereais, podendo estabilizar ou aumentar os níveis de compostos bioativos, diminuir a biodisponibilidade do amido e potencializar a biodisponibilidade de minerais pela degradação de substâncias como os fitatos, que competem com diversos nutrientes (Balestra et.al., 2015). Além dos benefícios para a saúde, a fermentação lenta e natural também produz sabores muito específicos no pão, além de fazer com que ele dure muito mais já que o ácido acético é um dos produtos da fermentação lenta e ele contribui para a inibição do crescimento do bolor (Ribeiro, 2021).

Em toda a evolução de como o pão era feito na pré-história até seus avanços com industrialização e a ampla disponibilização do produto, merece atenção um fenômeno recente que certamente é um marco na história do pão em nossa sociedade, a pandemia do novo corona vírus SARS-CoV-2 (Young, 2020). Em março de 2020, o mundo todo se viu obrigado a permanecer em casa em total confinamento por algumas semanas e o pão, produto perecível que costumamos comprar quase que diariamente, passou a ser produzido dentro de casa (Nunes, 2020). E em algumas semanas de isolamento social, a curiosidade e interesse pela produção artesanal de pães, tal qual os métodos antigos de produção com fermentação natural, cresceu repentinamente em todo o mundo (Easterbrook-Smith, 2021). Seja pela necessidade de reduzir a saída às ruas ou também por ser um tema que rapidamente passou a unir as pessoas, o pão caseiro se torna grande tendência. Atualmente, mesmo com o fim do confinamento

imposto pela pandemia, muitas pessoas continuaram com esse hábito e vê-se inclusive muitos negócios de produção e comercialização de pães de fermentação natural surgindo após a pandemia (Marques, 2020).

Também com a pandemia, vimos surgir outra importante consequência, os indicadores de fome e insegurança alimentar agravaram-se de maneira expressiva. O número de pessoas afetadas pela fome globalmente subiu para cerca de 828 milhões em 2021, um aumento de cerca de 46 milhões desde 2020 e 150 milhões desde 2019 (UNICEF, 2022). Um relatório das Nações Unidas mostra evidências de que o mundo está se afastando cada vez mais de seu objetivo de acabar com a fome, a insegurança alimentar e a má nutrição em todas as suas formas até 2030 (Bread.org). Depois de permanecer relativamente inalterado desde 2015, a proporção de pessoas afetadas pela fome saltou em 2020 e continuou a aumentar em 2021, para 9,8% da população mundial, em comparação com 8% em 2019 e 9,3% em 2020. Isso significa que quase 3,1 bilhões de pessoas não podiam pagar por uma alimentação saudável em 2020, um aumento de 112 milhões em relação a 2019, refletindo os efeitos da inflação nos preços dos alimentos decorrentes dos impactos econômicos da pandemia por corona vírus SARS-CoV-2 e das medidas adotadas para contê-la (FAO, IFAD, UNICEF, WFP e WHO, 2022).

Diante do contexto apresentado sobre tendência de aumento de produção artesanal de pães com técnicas de fermentação natural e de o pão apresentar-se como uma alternativa para a crescente insegurança alimentar no mundo advinda da pandemia e crises humanitárias, esse trabalho se faz relevante uma vez que se propõe a fazer um entendimento aprofundado sobre fermentação natural de pães e características de pães produzidos a partir desse processo.

O presente trabalho de investigação insere-se no âmbito do Mestrado de Gastronomia do Instituto Politécnico de Leiria. Ao longo do mestrado foram estudadas técnicas de culinária, pastelaria e panificação, nutrição, química e microbiologia dos alimentos, análise sensorial de alimentos, inovação e tendências na gastronomia mundial. A produção de pão através de

fermentação natural e análise de suas propriedades foi um tema analisado sob diferentes óticas a partir das cadeiras estudadas, portanto a motivação para esse trabalho está relacionada a construção de conhecimento durante a minha jornada acadêmica no mestrado.

2. Objetivo

A dissertação apresentada tem como principal objetivo estudar características microbiológicas de fermentos naturais produzidos a partir de três farinhas que diferem entre si no grau de processamento que o grão recebe, além de analisar características sensoriais de pães produzidos com as três farinhas estudadas.

O trabalho está estruturado em três capítulos, no primeiro é feito um enquadramento teórico sobre as três farinhas estudadas, sobre o processo de fermentação natural e sobre produção de pão. No segundo capítulo é relatada toda a metodologia da pesquisa, como foram produzidos e estudados os fermentos naturais e como foi conduzida a análise sensorial. Por fim, no terceiro capítulo são apresentados e discutidos os resultados da análise laboratorial dos fermentos e da análise sensorial dos pães.

3. Enquadramento teórico

3.1. A história do pão

A história do pão está intimamente relacionada com a própria história da civilização. Ao mesmo tempo em que ele é um dos alimentos mais antigos e consumido no mundo todo, ele apresenta suas particularidades em cada região e cultura demonstrando que a forma como é feito e consumido reflete as características de cada sociedade (Song, 2011). Alguns estudos evidenciam que o surgimento da produção do pão aconteceu paralelamente ao desenvolvimento da agricultura, ou seja, há 11 mil anos atrás na região do Oriente Médio (FAO, 2021).

No entanto, já há pesquisas que sugerem que o pão tenha sido produzido mesmo antes das primeiras plantações. Escavações arqueológicas feitas na Jordânia, o pão começou a ser confeccionado há 14 mil anos atrás, na verdade era uma junção de água e trigo triturado, ainda sem fermento feito com uma variedade de trigo selvagem

Os pré-históricos comiam gramíneas devido ao seu sabor doce, porém eles descobriram que moer as sementes e misturá-las com água facilitava a digestão. Três mil anos depois, com o desenvolvimento da agricultura, a técnica foi se aprimorando porque passou a ser feita uma seleção do trigo, escolhiam-se as melhores sementes para serem replantadas, dando origem ao trigo mais parecido com o que conhecemos hoje (Rosell, 2012; Alais & Linden, 1991). Já o processo de fermentação parece ter sido descobertos milhares de anos depois pelo povo egípcio, quando acidentalmente foi deixada uma massa sem cozer para o dia seguinte, resultando em um pão de mais fácil digestão. Desde então o alimento passou a ser produzido em larga escala, se disseminando até outros povos como os romanos. Foi há apenas 150 anos que, com o cientista Louis Pasteur, as reações de fermentação foram entendidas, abrindo-se assim o caminho para a produção industrial de fermentos. Com a mudança no estilo de vida no último século e as pessoas com cada vez menos tempo disponível, os fermentos industriais se desenvolveram amplamente e tornaram o fabrico do pão muito mais rápido. No entanto, hoje em dia, notamos uma retomada da tradição de fermentação natural progressivamente. Essa tendência ganhou ainda mais força durante a pandemia por corona vírus SARS-CoV-2, pelo fato de as pessoas passarem mais tempo em casa (Sponagle, 2020; Sofo et.al., 2021).

3.2. Consumo de pão e Produção de trigo

O pão é o segundo alimento mais consumido no mundo, fica apenas atrás do leite (Super Interessante, 2020). Ainda nesse mesmo estudo, vemos que no ano de 2017 foram consumidos

740 milhões de toneladas de trigo, representando aproximadamente 100kg de trigo consumidos por pessoa ao ano.

3.3.Composição do pão

Apesar do pão ser um produto muito simples, cada um dos seus ingredientes têm um papel importante na transformação desses poucos insumos em um bom pão. A farinha é de onde vem a maior parte dos nutrientes do pão. A farinha é composta por proteína e amido. A concentração de proteína depende do tipo de refinamento que essa farinha levou, podendo variar entre 12% a 14%. Os dois tipos de proteína que compõem a farinha são a gliadina e a glutenina (Damodaran et.al., 2007). Quando se hidrata a farinha com água e se amassa, essas cadeias de proteínas, se quebram e se reorganizam de forma mais coesa, originando assim o glúten, que confere elasticidade e viscosidade a massa (Coultate, 2009). O amido da farinha irá originar os açúcares que alimentarão as leveduras. A água é responsável por catalisar a hidrólise de ligações moleculares do amido através de enzimas, principalmente a amílase (Coultate, 2009). O sal é responsável por dar sabor e favorecer as características da crosta (Calvel, 2001). Seus íons dissociados em cloreto e sódio ajudam a reforçar as ligações entre as cadeias do glúten, deixando o mais coeso. A levedura consome a glucose e maltose resultantes dos amidos para formação de CO₂ e etanol. O CO₂ se acumula dentro da massa, graças às estruturas de glúten que o seguram, e a massa aumenta de volume, caracterizando a fermentação, que ocorre idealmente a 37 °C (Trinh, 2013).

3.4.Sobre o trigo

O trigo é um alimento extremamente importante para a nossa saúde no aspecto nutricional. Além de ser uma importante fonte de energia para o organismo, por ser um hidrato de carbono, o trigo é um alimento rico em vitaminas e minerais essenciais para vida humana,

como as vitaminas do complexo B, o potássio, o fósforo e o magnésio (Rosell, 2012). O trigo é um cereal do tipo gramínea e a espécie mais produzida é a *Triticum aestivum* L, que é utilizada na produção de farinhas. Mundialmente, é a segunda maior cultura de cereais, sendo a primeira o milho e a terceira o arroz (Diniz, 2016).

Na figura 1 podemos observar a estrutura de um grão de trigo, ele é composto por gérmen, endosperma e farelo. O gérmen é o embrião e representa de 2% a 4% do peso do grão. O farelo é formado por várias camadas de casca com alto teor de fibra, 7% a 8% do peso vem dessa parte. Por fim, o endosperma que é 81% a 84% do peso do grão é a parte que efetivamente é moída para formar a farinha.

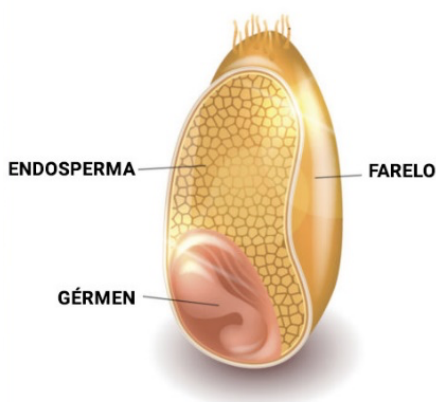


Figura 1 - Anatomia de um grão de trigo. (Figura adaptada de banco de imagem Dreamstime).

A quantidade de proteína que uma farinha possui determina sua força, pois é dessa substância que toda a cadeia de glúten se formará. Uma pequena parte (aproximadamente 15%) das proteínas do trigo são as albuminas e globulinas e a maior parte (85%) são as gliadinas e gluteninas, essas são as responsáveis pela formação do glúten (Coultate, 2009).

Na figura 2 é possível ver como essa cadeia de glúten é formada a partir da reorganização da gliadina e da glutenina após contato com a água e sova.

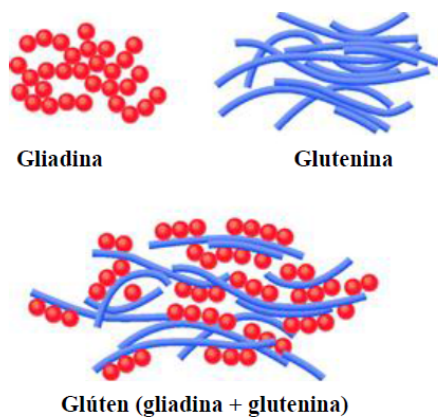


Figura 2 - Desenho Molécula de glúten. (Figura adaptada de Food Science Toolbox – Food Science Worth Sharing)

3.5. Sobre as farinhas

Nacional

Marca portuguesa fundada há mais de 170 anos, produz uma enorme variedade de produtos, distribuídos entre as categorias massas alimentícias, farinhas, cereais de pequeno-almoço e bolachas. Hoje disponibiliza os seus produtos em mais de 37 países, seguindo um sistema de qualidade contínuo, que adota procedimentos de certificação dos fornecedores, controlo e seleção das matérias-primas e o cumprimento dos requisitos de garantia de higiene e segurança alimentar (Nacional, s.d).

Os processos de produção e distribuição encontram-se certificados pelos referenciais de segurança alimentar ISO 22000 e IFS (International Food Standard), concedidas pela ISACert.

Rodrigues

Na freguesia de Turquel, no município de Alcobaça, fica o Moinho do Ardido, da família Rodrigues, onde é produzida a farinha Rodrigues. Os moinhos são de pedra e já concorreu como representante de moinhos de vento da zona do Oeste a Património Imaterial da Organização para a Cultura, Ciência e Educação das Nações Unidas (UNESCO). o proprietário Raul Rodrigues é bisneto, neto e filho de moleiros, e o último desta geração que ainda mantém viva a tradição de moer de forma tradicional o trigo e o milho (O Alcoa, 2017).

Moinho já bastante antigo, há peças datadas do século XVII, o proprietário chegou a comentar que este moinho foi invadido pelos franceses no tempo das invasões francesas. Todo o processo é mecânico e artesanal. Ainda hoje trabalha como sempre trabalhou na sua existência. No exterior estão algumas mós que em tempos trabalharam neste moinho. Em algumas ocasiões há atividades alusivas aos moinhos a vento. Está muito bem conservado e arranjado e ainda produz farinha. Sem dúvida um excelente exemplo de conservação do património.

Apesar de manter o processo de moagem tradicional, o trigo moído no Ardido não é cultivado pelo proprietário, o mesmo é comprado de uma produção na Espanha.

Paulino Horta

Localizado no município de Alenquer, região com fortes rajadas de vento onde muitos moinhos foram instalados e responsáveis por abastecer toda região de farinha.

O moinho de vento das farinhas Paulino Horta está na família há quatro gerações, tem características do início de 1800. Paulo Horta, proprietário diz que a escolha da região não foi só pelo vento, lá sempre houve boa terra, que dava bom cereal (Pais, s.d.). Diferente da Farinha Rodrigues, o trigo utilizado para a produção dessa farinha é todo cultivado na região e de forma biológica.

O moinho ainda funciona para fins museológicos, já que os cereais são tratados em maquinaria moderna, equipada com mós de pedra.

3.6. Processo de fermentação de pães

O fermento é um fungo unicelular, também designado por levedura, que se alimenta de açúcar para produzir dióxido de carbono (CO₂), bem como uma pequena quantidade de álcool. É um processo de fermentação muito importante tanto para o crescimento do pão quanto para lhe proporcionar textura e sabor (Ribeiro, 2021).

São três os tipos de fermentos mais usados na panificação: biológico fresco, biológico seco instantâneo e o fermento natural (Chamberlain, 1985).

Fermento biológico fresco é composto por um concentrado de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), organismos vivos, ativados quando entram em contato com farinha e água, produzindo gases que ajudam no crescimento das massas (Harris, 2003). Este fermento pode ser comprado em tabletes pelo padeiro amador ou em quadrados maiores, pelos profissionais.

O fermento biológico fresco é basicamente uma levedura compactada, comercializada viva e, por isso, altamente perecível (Arora et.al., 2021). Para manter os microrganismos vivos e prontos para entrarem em ação quando necessário, esse tipo de fermento precisa estar sob refrigeração constante até o momento de uso. Também é possível congelá-lo por um tempo limitado. Como é concentrado, a fermentação acontece de forma mais rápida e intensa, o que acaba comprometendo o sabor e aroma do pão (Ribeiro, 2021).

Fermento biológico seco foi inventado por Fleischmann em 1945, o fermento biológico seco foi uma criação que possibilitou aumentar em muito a duração da levedura comercial, além de eliminar a necessidade de mantê-la refrigerada (Massa Madre, 2016). Nesse tipo de fermento, a mesma levedura encontrada nos tabletes frescos é encapsulada viva em uma parede de células mortas. Para dissolver essa parede e reativá-la, é preciso misturá-la com água morna e deixá-la agir por alguns minutos, formando bolhas e espuma. Protegida dessa maneira, a levedura pode viver por até um ano dentro do pacote ou ser congelada por tempo quase indeterminado.

Existe ainda o fermento biológico seco instantâneo, que pode ser adicionado diretamente à farinha, sem precisar ser reidratado antes. A diferença é que ele é fabricado em cápsulas ainda menores e que contêm mais levedura por grão, assim como um pouquinho de ácido ascórbico como conservante (Silva e Friscio, 2021).

No que diz respeito ao fermento natural: desde há centenas de anos, os panificadores têm misturado trigo, centeio e outros grãos com água para fazer o que chamam de massa mãe, *sourdough* ou *levain* (Silva e Friscio, 2021). Por um longo tempo esse método de panificação intrigou a maioria dos padeiros. No entanto, com o desenvolvimento da ciência, em especial da microbiologia, esse processo de fermentação natural está se tornando cada vez mais compreendido. A fermentação natural na panificação é o produto da ação de microrganismos que se alimentam da mistura de farinha e água. Eles consomem os açúcares contidos no trigo e, em troca, produzem gás carbônico, álcool e ácidos (Arora et.al., 2021). Basta expor a massa de farinha e água ao ambiente e esperar que ela seja dominada por uma complexa flora microscópica, presente no ar e no trigo, composta por leveduras selvagens e bactérias. Leva de 5 a 7 dias para se desenvolver e, quando pronta, pode ser usada para fazer pão, substituindo o fermento biológico de panificação. Depois desse último passo, o padeiro reserva uma parte da cultura e perpetua o fermento ao adicionar mais farinha e água para manter a sua atividade. O fermento natural, atua sobre o trigo, sem pressa, proporcionando pães com crostas crocantes, miolos leves, e sabores inigualáveis (Calvel, 2001).

Fungos e bactérias são os dois grupos de microrganismos que compõem a flora presente no método de fermentação natural (De Vuyst & Neysens, 2005). O tipo e a quantidade de cada um deles serão afetados pelas características do fermento natural, incluindo hidratação, ingredientes, temperatura e acidez (Gonzalez et.al., 2022).

Esses dois grupos de microrganismos estão presentes em toda a parte. No ar, na água, nos equipamentos e até nos próprios manipuladores (Coultrate, 2009).

Depois dessa exposição dos diferentes tipos de fermento, vale destacar algumas características que um pão fermentado de forma natural apresenta.

O sabor costuma ser a primeira característica que é notada nos pães feitos a partir de fermentação natural, em geral, devido ao longo tempo de fermentação há um sabor a fermentado muito mais acentuado do que naqueles pães feitos com os outros tipos de fermento.

Além disso, a digestão desses pães também costuma ser muito mais fácil já que durante a fermentação longa as leveduras atuam lentamente sobre o amido do trigo, fazendo com que as moléculas grandes sejam quebradas em outras menores (Winters et.al, 2019).

Além da digestão facilitada, esse processo também contribui para que os nutrientes do pão possam ser mais facilmente absorvidos, por isso muitas pessoas dizem que esse pão tem melhor valor nutricional (Corsetti & Settanni, 2007).

A durabilidade dos pães de fermentação natural também é maior do que outros pães, já que durante a fermentação, é liberado ácido acético, que contribui para preservação dos alimentos.

O corpo humano é constituído por um complexo ecossistema, sendo que aproximadamente 90% das células não são de origem microbiana, correspondendo a 100 trilhões de células com um peso aproximado de 2 kg num indivíduo adulto. A área mais colonizada do organismo humano é o trato gastrointestinal, principalmente ao nível do cólon. Estudos mostram que o número de microrganismos presentes no trato gastrointestinal é 10 vezes maior que o número de células humanas no corpo.

Dentre as várias as funções que a microbiota intestinal desempenha no organismo humano, uma das principais é o desenvolvimento e funcionamento do sistema imune, já que cerca de 70% a 80% das células do sistema imune está no intestino. É o denominado *gut-associated lymphoid tissue* (Gonçalves, 2014). A microbiota garante uma proteção ao nosso intestino, onde estão alojadas essas células do sistema imunitário. A proteção que a microbiota oferece ao intestino se dá porque ela cria uma barreira contra a adesão e o desenvolvimento de patogênicos, diminui a inflamação da mucosa intestinal no caso de

gastrite infecciosa, induz a produção de muco intestinal protetor, pelas células da mucosa e fornece energia às células da mucosa intestinal para o seu crescimento e renovação.

Além de fortalecer a microbiota intestinal e conseqüentemente proteger o nosso sistema imunitário, a fermentação natural também se mostra como uma alternativa para redução de inflamações intestinais, segundo Gonçalves (2014), comparado com o pão convencional, o desenvolvido a partir da fermentação natural pode ter até 80% menos de hidratos de carbono desencadeadores das inflamações intestinais citadas. Enquanto um pão convencional tem alta concentração desses hidratos de carbono, o pão de fermento natural possui quantidades muito menores, podendo ser consumido sem que os sintomas das inflamações intestinais apareçam. Os hidratos e carbono conhecidos como FODMAPs (sigla do inglês *Fermentable, oligosaccharides, disaccharides, monosaccharides and polyols*) são oligossacarídeos, dissacarídeos, monossacarídeos e polióis fermentáveis que provocam problemas digestivos em determinadas pessoas (Miñarro, 2013; Lin, 2014). Estes distúrbios provocam sintomas intestinais (inchaço, mudança de hábito intestinal – diarreia ou constipação, dores abdominais) e não intestinais (dor de cabeça, cansaço, fadiga problemas de pele, entre outros) (Ribeiro, 2021).

4. Materiais e Métodos

4.1. Processo produção do fermento natural

4.1.1. Ingredientes

- farinha integral (T150) e normal (T65) dos 3 tipos de farinha utilizadas: Rodrigues,

Nacional e Paulino Horta

- água mineral em temperatura ambiente

4.1.2. Utensílios

- balança de cozinha

- pote de vidro esterilizado
- colheres esterilizadas

4.1.3. Produção de massa mãe

Na primeira etapa foi criada a massa mãe. Em cada pote de vidro foram misturadas 100 gramas de farinha T150 com 100 gramas de água até que fique uma massa homogênea. Após a mistura, os potes foram fechados, foi feita uma marca de onde estava o volume da mistura e os três potes com as misturas feitas a partir das três farinhas foram deixados por 24 horas em temperatura ambiente, (figura 3). Essa etapa foi iniciada em 7 de outubro de 2021.

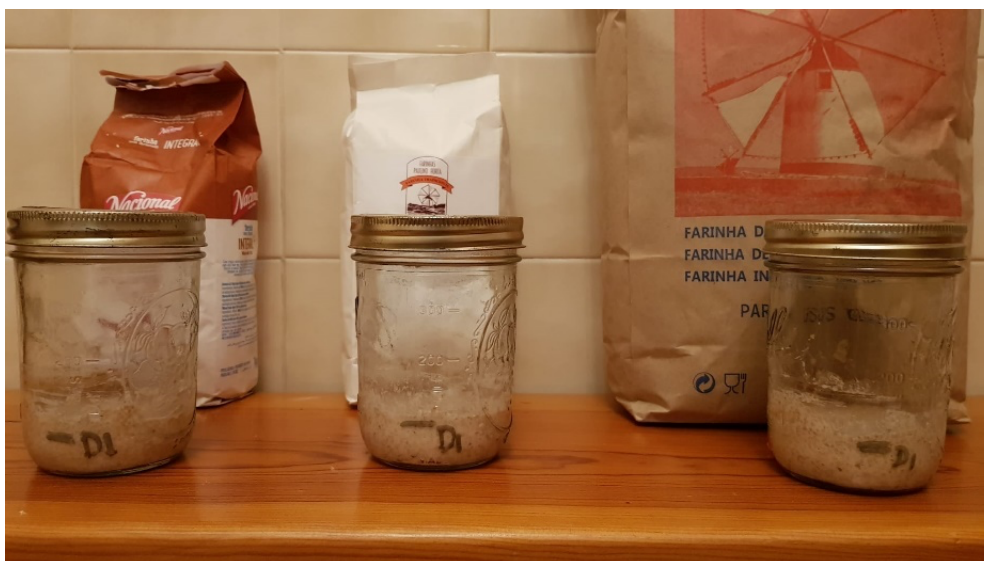


Figura 3 - Massas mães no primeiro dia do processo de produção.

Após as 24 horas em temperatura ambiente, a massa mãe começou a ser alimentada com farinha integral. O pote de massa mãe Paulino Horta foi o único que apresentou pressão de ar na abertura. Todas as massas tinham odor a mel e sabor ácido. Visualmente a massa mãe Rodrigues era a que tinha menos bolhas. Em termos de crescimento todas pareciam iguais.

Em cada pote foi retirada parte da massa de modo que ficasse apenas 30 gramas de massa mãe em cada pote, o restante foi descartado. Em cada pote foi acrescentado 60 gramas de água potável e 90 gramas da farinha integral T150 correspondente de cada pote.

Primeiramente foi adicionada a água, de modo a diluir a massa mãe e depois foi acrescentada a farinha, essa mistura foi mexida até que ficasse uniforme. O mesmo processo foi feito nos três potes conforme a figura 4.



Figura 4 - Massas mães no início da segunda etapa de seu processo de produção

Nessa etapa não houve tempo pré-determinado para a fermentação, os potes com massa mãe foram monitorizados até que a massa dobrasse de tamanho. Sempre que o volume fosse duplicado o processo deveria ser repetido em um total de quatro vezes.

A massa mãe da farinha Rodrigues apresentou crescimento mais acelerado, dobrando de volume em 7 horas (figura 5).



Figura 5 - Massas mães no meio da segunda etapa de seu processo de produção

Na tabela 1, podemos ver os tempos que cada massa mãe levou para duplicar de volume nas quatro alimentações feitas nessa etapa de produção.

Tabela 1 - Tempo que massas mãe levaram para dobrar de volume na primeira etapa

| | Primeira alimentação | Segunda alimentação | Terceira alimentação | Quarta alimentação |
|-----------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| Farinha Paulino Horta | 11 horas | 10 horas | 15 horas | 12 horas |
| Farinha Rodrigues | 7 horas | 6 horas | 8 horas | 6 horas |
| Farinha Nacional | 11 horas | 10 horas | 10 horas | 10 horas |

A próxima etapa consistiu em seguir no processo de alimentação da massa mãe, mas agora com farinha branca T65. De cada pote foi retirada parte da massa de modo que ficasse apenas 30 gramas de massa mãe em cada pote, o restante foi descartado. Em cada pote foi acrescentado 60 gramas de água potável e 90 gramas da farinha branca T65 correspondente de cada pote. Primeiramente foi adicionada a água, de modo a diluir a massa mãe e depois foi acrescentada a farinha, essa mistura foi mexida até que ficasse uniforme. O mesmo processo foi feito nos três potes.

Nessa etapa não houve tempo pré-determinado para a fermentação, os potes com massa mãe foram monitorizados até que a massa dobrasse de tamanho. Sempre que o volume fosse duplicado o processo deveria ser repetido em um total de duas vezes. Abaixo, na tabela 2 é possível ver os tempos de evolução da massa mãe.

Tabela 2 - *Tempo que massas mãe levaram para dobrar de volume na segunda etapa*

| | Primeira alimentação | Segunda alimentação |
|-----------------------|-----------------------------|----------------------------|
| Farinha Paulino Horta | 12 horas | 7 horas |
| Farinha Rodrigues | 9 horas | 7 horas |
| Farinha Nacional | 10 horas | 7 horas |

Por fim, na última etapa a massa mãe foi alimentada em uma proporção diferente e agora após duplicar de tamanho foi pela primeira vez a geladeira.

De cada pote foi retirada parte da massa de modo que ficasse apenas 40 gramas de massa mãe em cada pote, o restante foi descartado. Em cada pote foi acrescentado 80 gramas de água potável e 80 gramas da farinha integral correspondente de cada pote. Primeiramente foi adicionada a água, de modo a diluir a massa mãe e depois foi acrescentada a farinha, essa mistura foi mexida até que ficasse uniforme. O mesmo processo foi feito nos três potes.

Nessa etapa também não houve tempo pré-determinado para a fermentação, os potes com massa mãe foram monitorizados até que a massa dobrasse de tamanho (tabela 1). Sempre que o volume fosse duplicado o pote voltava a geladeira e esse processo foi repetido por três dias seguidos.

Tabela 3 - Tempo que massas mãe levaram para dobrar de volume na última etapa

| | Massa Paulino Horta | Massa Rodrigues | Massa Nacional |
|--------------|--------------------------------|------------------------|-----------------------|
| Dia 1 | 6 horas | 6 horas | 5 horas |
| Dia 2 | 5 horas | 5 horas | 5 horas |
| Dia 3 | 5 horas | 4 horas | 4 horas |

Após todas essas etapas, a massa mãe ficou pronta, daí em diante ela foi alimentada a cada duas semanas por 16 vezes até julho de 2022, quando os pães foram produzidos para a análise sensorial.

4.2. Processo de produção do pão

A receita do pão foi uma adaptação de receitas utilizadas por especialistas em pães de fermentação natural. Foi realizada uma pesquisa sobre receitas desse tipo de pão, feitos testes e ajustes necessários até chegar na receita ideal para as temperaturas de Portugal e farinhas utilizadas no trabalho (Cauvain,1998; Collister & Blake, 2000; Lillard, 1998).

4.2.1. Ingredientes

- 400 gramas de farinha T65 dos três tipos de farinha utilizadas: Rodrigues, Nacional e Paulino Horta
- 250 gramas de água mineral em temperatura ambiente para cada pão
- 8 gramas de sal para cada pão
- 250 gramas de massa mãe dos três tipos de farinha utilizadas

4.2.2. Utensílios

- balança de cozinha
- 3 taças
- 3 cestos de fermentação

- Balança
- 3 panos limpos
- Espátula para descolar massa das laterais das taças
- Lâmina para cortar pão
- Borrifador de água
- Tigela com água para molhar as mãos durante as dobras
- Manta antiaderente
- Panela de ferro

4.2.3 Produção do pão

Alimentação da massa mãe: Todos as três massas mãe foram alimentados na proporção 1 de massa mãe para 1,2 de água e 2 de farinha e apenas foram utilizados depois de dobrarem de tamanho, o que levou aproximadamente 4 horas.

Autólise: A farinha foi misturada com a água em um bowl até que ficasse uma massa homogênea e essa preparação descansou por 45 minutos.

Batimento da massa: A massa mãe foi incorporada a mistura e foi feita uma sova de sete minutos até que a massa ficasse homogênea. A massa descansou por 5 minutos. Foi incorporado o sal e feita uma sova de cinco minutos até que todo o sal se dissolvesse.

Fermentação primária e dobras: A massa ficou fermentando por 30 minutos e depois começou a etapa de dobras, foram 4 dobras feitas a cada 30 minutos, totalizando 2 horas de dobras. As dobras foram feitas levantando o meio da massa e dobrando a ponta da frente para dentro, em cada dobra esse processo é feito 4 vezes de modo a dobras todas as extremidades para dentro. Ao terminar esse processo, a massa fica por mais 2 horas fermentando em temperatura ambiente.

Modelagem: Uma mesa foi limpa e polvilhada com farinha, a massa foi colocada sobre a mesa e foi feita a modelagem da massa. As massas moldadas foram colocadas nos cestos de fermentação.

Segunda fermentação: As massas nos cestos ficaram duas horas em temperatura ambiente e 18h na geladeira.

Cocção: O forno e a panela foram pré aquecidos a 230°C por 30 minutos. As massas foram retiradas da geladeira, despejadas do cesto sobre manta antiaderente, foi feito um corte na massa. A panela quente foi retirada do forno, a massa foi colocada dentro dela, borrifou-se água na tampa quente da panela. A panela foi fechada e levada ao forno pré aquecido. A cocção durou no total 45 minutos, sendo 25 com tampa e 20 sem tampa. O mesmo processo foi repetido para as 3 massas.

Arrefecimento: Os pães prontos foram deixados em temperatura ambiente sob uma grade para que pudessem arrefecer por 45 minutos.

Na figura 6, podemos ver o resultado da produção dos pães feitos a partir das três diferentes farinhas e respectivas massas mães.





N

R

PH



N

R

PH



R

PH

N

Figura 6 - Pães produzidos a partir de fermentação natural com as farinhas Rodrigues (R), Paulino Horta (PH) e Nacional (N)

Nas figuras 7, 8 e 9 abaixo podemos ver através de um programa de edição de fotos os alvéolos em cada pão.

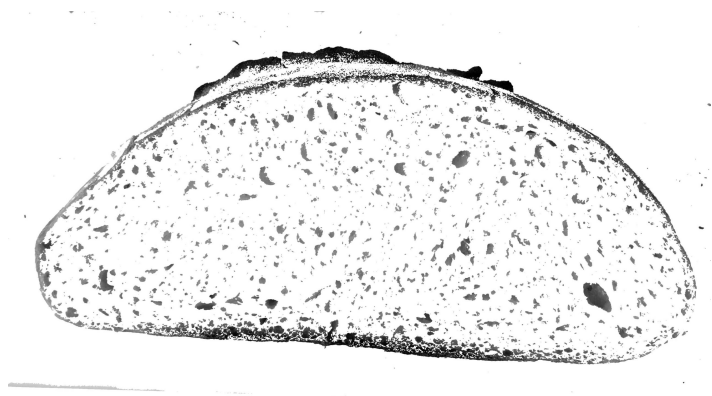


Figura 7 - *Scan de Alvéolos pão farinha Nacional*

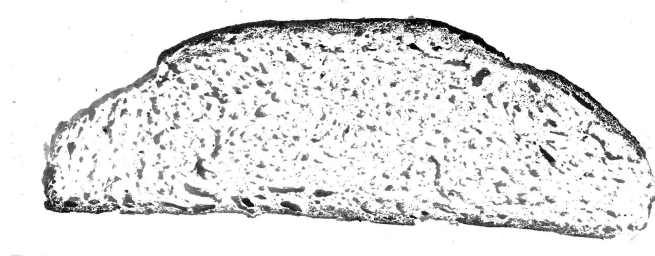


Figura 8 - *Scan de Alvéolos pão farinha Rodrigues*



Figura 9 - *Scan de Alvéolos pão farinha Paulino Horta*

4.3. Isolamento de microrganismo das massas mãe

As massas mãe foram diluídas (1:10) em solução salina a 0,8% (m/v) e plaqueadas (100 mL) por espalhamento em meio sólido yeast patoto destrose (YPD), para isolamento de leveduras, meio sólido deMan, Rogasa, Sharpe para isolamento de bactérias lácticas e meio sólido *Lactobacillus* Selection Agar (LBS). A incubação ocorreu a 28°C para o isolamento de leveduras e a 30°C para o isolamento de bactérias lácticas e lactobacilos, durante 24h.

4.4. Identificação dos microrganismos das massas mãe

Os isolados obtidos, nos meio MRS e LBS, da análise em placa das diferentes “massas mães”, foram identificados através da amplificação e sequenciação do gene *house keeping*: 16s DNA (Hossain et.al., 2014). Não se procedeu à identificação das leveduras.

Para esta pesquisa foi realizada uma reação PCR com as seguintes condições: 1 ciclo inicial de desnaturação a 95°C por 5 minutos, seguido de 35 ciclos de desnaturação a 95°C por 30 segundos, emparelhamento a 55°C por 30 segundos, extensão a 72°C por 15 a 45 segundos e um ciclo de extensão final a 72°C por 5 minutos. As misturas de PCR foram preparadas para um volume final de 50 µL com a Taq polimerase (NZT taq polimerase II de marca Nzytech) e 5 µL de DNA de cada isolado.

Após o término das reações de PCR, os produtos resultantes foram analisados através de eletroforese em gel de agarose a 1% a 80 V/h, sendo depois observados através de um sistema de aquisição de imagem Gel DOC EZ Imager (Bio Rad).

Os produtos de PCR obtidos nestas reações, foram purificados usando um kit de extração da marca GeneJET PCR da Thermo Scientific, de acordo com instruções fornecidas pelo fabricante.

De forma a enviar os produtos ampliados para sequenciação, nas condições exigidas pela empresa responsável (StabVida, Costa da Caparica), a concentração de DNA foi avaliada

por espectroscopia UV-Vis (Thermo Scientific, Nanodrop 2000). A sequenciação foi feita usando o primer forward.

Após a obtenção dos resultados de sequenciação, as sequencias foram analisadas recorrendo à base de dados National Center for Biotechnology information (NCBI), com ajuda da ferramenta bioinformática Basic Local Alignment Search Tool (Blast).

4.5. Análise sensorial

Nesse trabalho, foi adotado o método de Análise Descritiva Quantitativa, que caracteriza as propriedades sensoriais de uma amostra e tem como produto final uma descrição sensorial precisa e objetiva dessa amostra. Basicamente foram avaliadas aparência, textura, odor e sabor. Para cada um desses foram definidos 3 a 4 atributos, tendo sido criada a descrição e as âncoras para caracterizar desde pouco intenso a muito intenso com notas de 1 a 5, de acordo com os anexos 1, 2, 3 e 4

No dia 22 de julho de 2022 foi realizada a análise sensorial dos pães no Instituto Politécnico de Leiria – Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar em Peniche. Foram selecionadas 20 pessoas e todos receberam um briefing explicativo antes de se iniciar a prova.

As provas foram preparadas com uma fatia de 1,5 cm de largura por aproximadamente 8 cm de comprimento de modo que todos os pedaços tivessem còdea e miolo de acordo com a Figura 10.



Figura 10 - Pães ofertados aos provadores na análise sensorial

As provas foram realizadas na sala de análise sensorial entre 10h e 11h30. Cada provador recebeu uma folha de atributo e 3 folhas de prova, uma para cada amostra e um copo de água (figura 11)



Figura 11 - Sala de prova durante o decorrer da prova sensorial dos pães produzidos

5. Resultados

5.1. Resultados Análise sensorial

Nessa seção serão apresentados e analisados os resultados da análise sensorial e laboratorial dos pães. Na análise sensorial pretende-se observar e comparar características dos pães, nomeadamente aparência, odor, textura e sabor. Na análise laboratorial, o objetivo é identificar a presença e tipificação de bactérias e leveduras nas massas mães produzidas a partir das três diferentes farinhas.

A figura 12 mostra os resultados obtidos no quesito aparência.

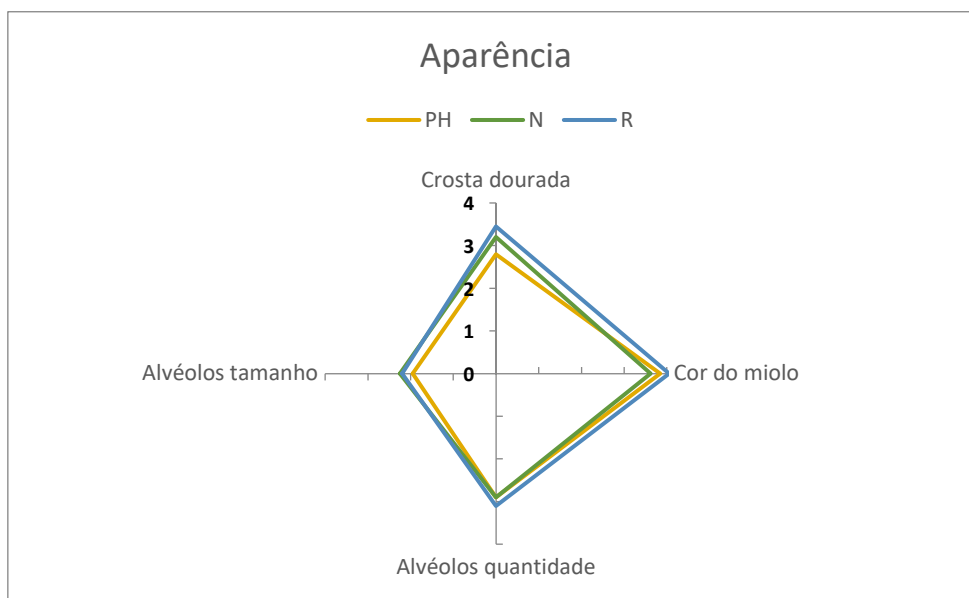


Figura 12 - Resultado análise sensorial no quesito aparência

No que tange a aparência, foram avaliados coloração de crosta, de miolo e quantidade e tamanho dos alvéolos. Com relação a crosta dourada, a escala ia de uma crosta mais clara como castanha de caju até a mais escura como a parte exterior de uma avelã. Nesse atributo, o pão feito com a farinha Rodrigues teve a nota mais alta, 3,45, seguido do pão feito com a farinha nacional com 3,20 e por fim o pão da farinha Paulino Horta com 2,80. A percepção dos avaliadores vai de encontro com o visual dos pães, de fato o pão da farinha Rodrigues ficou com crosta mais escura e caramelizada que os outros. Apesar de todos os pães terem passada pelo mesmo tempo de cocção, o pão da farinha Rodrigues foi o último a ser assado, portanto assumo a hipótese da temperatura do forno estar mais alta. As crostas dos pães da farinha Nacional e Paulino Horta visivelmente tinham tonalidades muito semelhantes, mas essa diferença nas pontuações atribuídas pelos provadores pode se dar por terem pegado pedaços da crosta com tonalidades diferentes, uma vez que a tonalidade não é uniforme e há partes com tostadas que outras.

Sobre a cor do miolo a escala ia do miolo mais claro, como leite até o mais escuro como um arroz integral. Nesse quesito, o pão da farinha Rodrigues foi considerado o que tinha miolo

mais escuro, com pontuação 4,05, seguido do pão da farinha Paulino Horta com 3,84 e por fim o pão da farinha Nacional com 3,62. Essa análise coincide com a percepção visual dos pães e pode estar relacionada com o nível de industrialização das farinhas. Apesar de todas as farinhas serem 65, a Rodrigues é a que passa por processamento mais natural, moída em moinho de pedra, portanto os grãos visivelmente são mais escuros e isso se reflete na cor do miolo. Já a farinha Nacional é a que apresenta um processo mais industrial de tratamento do grão de trigo, portanto é esperado que o maior refinamento resulte em uma farinha mais clara e, portanto, um miolo mais branco.

Com relação aos alvéolos, avaliamos quantidade e tamanho. No que diz respeito a quantidade, os três pães tiveram pontuação próxima, Paulino Horta e Nacional com 2,90 e Rodrigues com 3,10, numa escala que ia de 30% a 80% da massa preenchida com alvéolos, portanto as notas na faixa de 3 indicam uma percepção de 50% de presença de alvéolos, o que coincide com os visuais dos pães de acordo com figura 6. Já sobre o tamanho dos alvéolos, o pão da farinha Rodrigues teve a nota mais alta, 2,25, enquanto Rodrigues e Paulino Horta obtiveram 2,20 e 1,95 respectivamente. Como podemos ver, as pontuações estiveram na faixa da nota 2, o que reflete um tamanho de alvéolo entre um grão de pimenta preta e uma drageia de M&M. O pão da farinha Nacional tinha alvéolos visivelmente maiores comparado aos outros pães e acredito que essa diferença possa ter acontecido porque a farinha Nacional por ser mais industrializado e mais refinada fica mais leve, o que facilita a fermentação e expansão das bolhas de ar dentro do pão no momento da cocção.

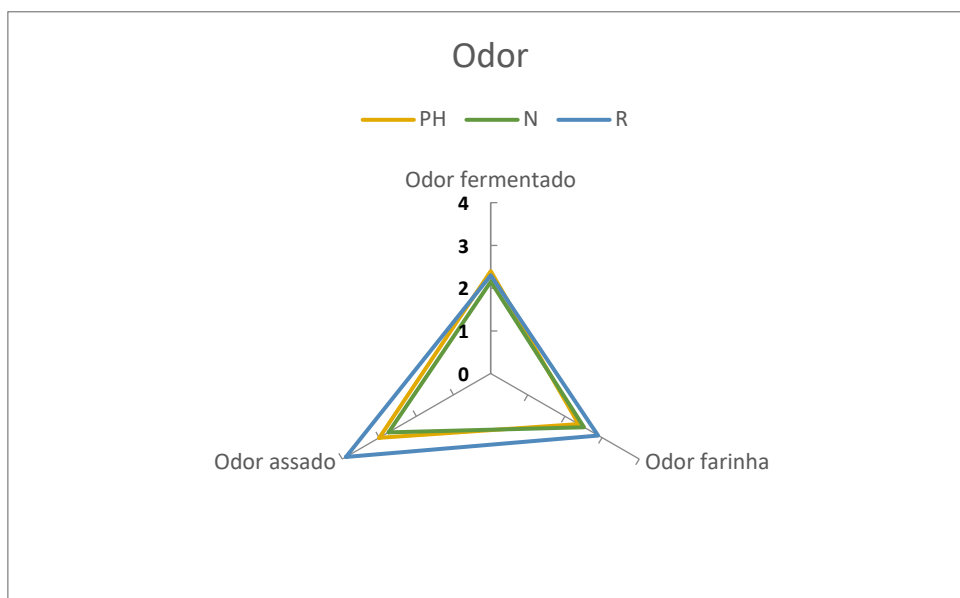


Figura 13 - Resultado análise sensorial no quesito odor

Quando analisamos o odor, foram verificados atributos de odor a assado, a fermentado e a farinha. O odor a assado foi o que mais se sobressaiu segundo os avaliadores. O pão da farinha Rodrigues foi o que apresentou maior nota com 3,90 seguido do pão Paulino Horta com 3 e o Nacional com 2,75. A crosta do pão Rodrigues de facto estava mais tostada, apesar do mesmo tempo de forno, por isso é natural que o odor a assado tenha se destacado nesse pão, assim como a leitura visual da crosta tostada pode interferir na percepção do odor. No odor fermentado, o pão da farinha Paulino Horta obteve pontuação 2,40, seguido de 2,30 do pão Rodrigues e 2,15 do pão Nacional. As notas foram bastante semelhantes e indicam odor moderado a fermentado, no entanto durante a prova, o comentário de que o odor a fermento era acentuado foi recorrente entre os avaliadores. Sobre o odor a farinha, o pão Rodrigues obteve 2,89, seguido do pão Nacional com 2,52 e pão Paulino Horta com 2,37.

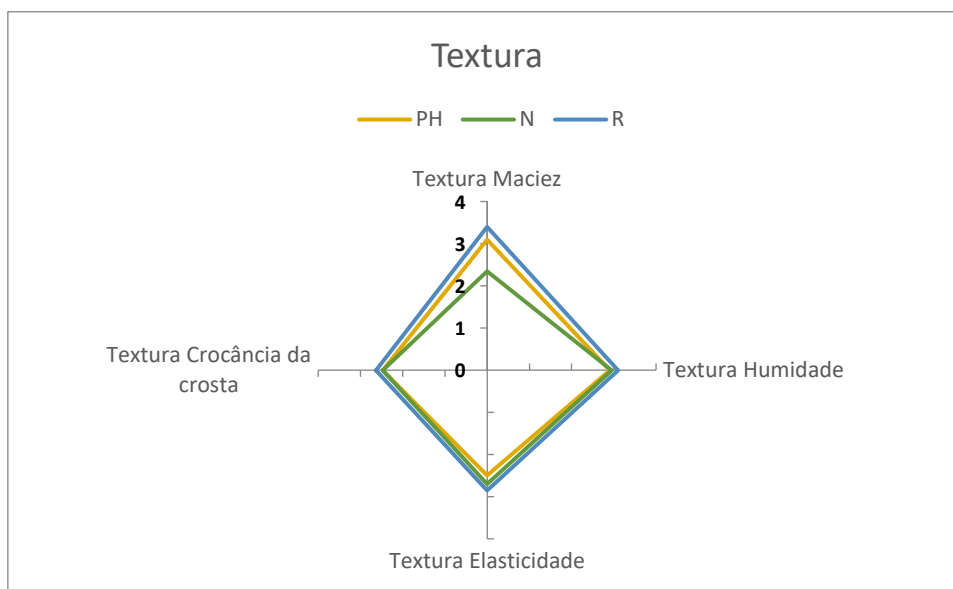


Figura 14 - Resultado análise sensorial no quesito textura

Dentro da textura foram analisadas maciez, elasticidade, humidade e crocância da crosta, de acordo com figura 14. Relativo a maciez, a escala ia do mais macio ao menos macio, sendo que o pão Nacional teve a nota que indica maior maciez, com 2,35, o que é natural uma vez que era o pão com farinha mais industrializada, portanto mais refinada, mais leve e com maiores alvéolos, o que confere mais leveza e maciez a massa. Os outros pães apresentaram notas que indicam maior densidade e menor maciez, sendo Rodrigues com 3,40 e Paulino Horta com 3,10.

Na humidade, a escala ia do pão mais seco ao mais húmido, sendo que todos apresentaram notas na faixa de 3, mostrando uma humidade média. Houve uma pequena diferença no pão Rodrigues com 3,10, seguido do Pão Nacional com 2,95 e pão Paulino Horta com 2,90.

A elasticidades que ia da menos elástica a mais também foi percebida de maneira similar pelos provadores, mostrando percepção de elasticidade média, com 2,85 para Rodrigues, 2,70 para Nacional e 2,50 para Paulino Horta.

No que se refere a crocância da crosta, todos obtiveram nota parecida que também indica crocância média de crosta, sendo Rodrigues levemente mais crocante com 2,63 e Nacional e Paulino Horta ambas com 2,47.

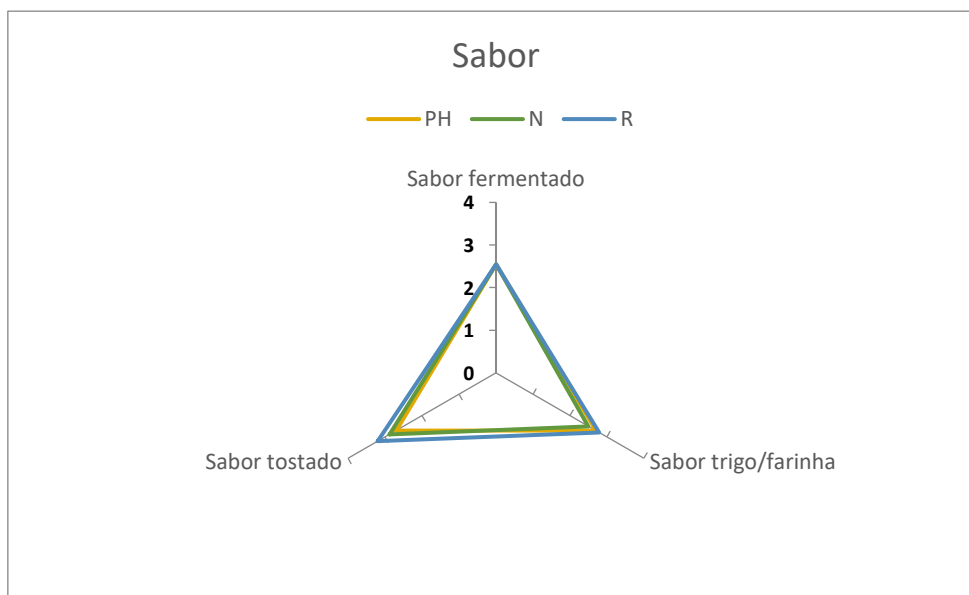


Figura 15 - Resultado análise sensorial no quesito sabor

Sobre o sabor, avaliamos junto aos provadores o sabor a fermentado, a farinha e a tostado, de acordo com figura 15. O sabor a tostado foi o mais presente de acordo com os avaliadores, nesse quesito se destacou o pão Rodrigues com 3,20, seguido de Nacional com 2,88 e Paulino Horta 2,70. Os outros sabores tiveram percepção parecida em todos os pães, sempre em uma faixa mediana. O sabor fermentado teve nota idêntica para todos, 2,55. Já no sabor a farinha, o pão Rodrigues teve 2,79, o Paulino Horta 2,70 e o Nacional 2,50.

Podemos perceber que odor e sabor tiveram performances bem parecidas, mostrando uma linearidade entre esses dois aspectos.

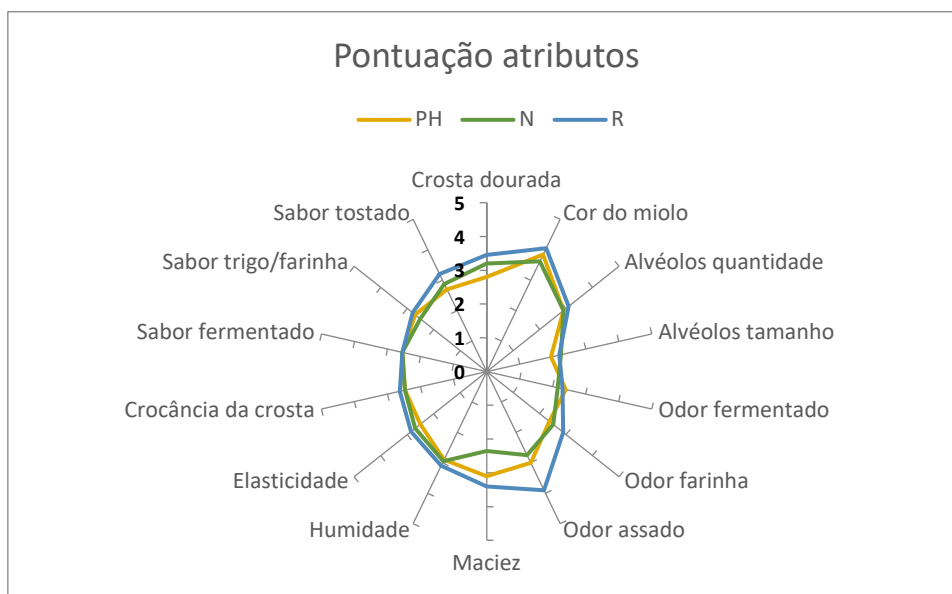


Figura 16 - *Compilado de resultados análise sensorial*

Na figura acima, podemos ver um quadro geral de como os diferentes atributos foram percebidos nos três pães. Percebe-se que o pão Rodrigues teve de maneira geral um destaque perante os outros com características mais marcantes. Já no que se refere aos atributos, aqueles que ganharam destaque na avaliação dos provadores foi o odor a assado e a cor do miolo.

5.2. Resultados isolamento e identificação dos microrganismos

As massas-mãe são ecossistemas onde ocorrem interações entre bactérias lácticas (LAB) e leveduras. Os microrganismos que predominam são as bactérias lácticas, havendo, no entanto, um elevado número de células de levedura (Vogel et.al., 1999). Resultados semelhantes foram obtidos no trabalho realizado. A maioria das amostras recolhidas das massa-mãe geradas pelas três farinhas experimentadas, continham LAB e células de levedura.

Após uma triagem morfológica inicial, foram isoladas cerca de 25 colónias, com morfologia distinta, nos diferentes meios de cultura usados conforme tabela 4.

Tabela 4 - Nomenclatura atribuídas às diferentes colónias isoladas, das distintas massa-mãe

| FARINHA | ISOLADOS OBTIDOS |
|----------------------|---|
| <i>Nacional</i> | N1L, N2L, N3L, N4L, N1M, N2M, N1Y, N2Y |
| <i>Paulino Horta</i> | PH1L, PH2L, PH3L, PH1M, PH2M, PH1Y, PH2Y, PH3Y |
| <i>Rodrigues</i> | R1L, R2L, R3L, R1M, R2M, R3M, R1Y (R1YA + R1YB), R2Y, R3Y |

Dos isolados obtidos, fez-se a amplificação do gene 16S DNA, embora a mesma não tenha sido possível obtida uma identificação para todos os isolados obtidos.

Na tabela 5 apresentam-se os resultados relativos ao sucesso de amplificação por PCR, bem como a identificação das espécies bacterianas, quando tal foi possível.

Tabela 5 - Resultados amplificação por PCR

| ISOLADOS | SUCESSO DE AMPLIFICAÇÃO | IDENTIFICAÇÃO |
|-----------------|--------------------------------|---|
| N1L | Sim | <i>Pediococcus pentosaceus</i> |
| N1M | Sim | <i>Lactobacillus curvatus</i> |
| N2L | Sim | <i>Pediococcus pentosaceus</i> |
| N2M | Não | - |
| N2Y | Não | - |
| N3L | Sim | <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> |
| N4L | Sim | <i>Staphylococcus pasteurii</i> ou <i>Staphylococcus warneri</i> |
| PH1M | Sim | <i>Lactobacillus brevis</i> |
| PH2LA | Sim | <i>Lactobacillus brevis</i> |
| PH2LB | Sim | <i>Lactobacillus brevis</i> |

| | | |
|------|-----|--------------------------------------|
| PH2Y | Não | - |
| PH3L | Não | - |
| PH3Y | Não | - |
| R1L | Sim | <i>Lactiplantibacillus pentosus</i> |
| R1YA | Não | - |
| R2L | Sim | <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> |
| R2Y | Sim | <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> |
| R3L | Não | - |
| R3YA | Não | - |

Pode-se constatar que na farinha Nacional houve um maior número de isolados com características morfológicas diferentes, mas resultou em um menor número de diversidade microbiana (sete isolados, seis ampliações positivas e quatro microrganismos distintos). Na farinha Paulino Horta, verificou-se que dos seis isolados obtidos, foi possível amplificar três sendo estes pertencentes ao mesmo gênero e espécie. Relativamente à farinha Rodrigues, a mais artesanal, de seis isolados, amplificaram-se três, sendo estes correspondentes a duas espécies diferentes dentro do mesmo gênero. Proporcionalmente ao número de isolado em que foi possível amplificar o gene do RNA 16S e proceder à sua identificação genética através da base de dados NCBI, verifica-se que farinha Nacional e a Rodrigues apresentam uma maior diversidade de organismos por comparação com a farinha Paulino Horta.

Conclusão

Com relação a produção da massa mãe, apesar de todas terem sido feitas sob as mesmas condições, potes de vidro com o mesmo formato e tamanho, esterilizados da mesma forma e submetidas a mesma temperatura durante sua alimentação, foi notável a diferença entre elas, as massas mãe feitas a partir da farinha Rodrigues e Nacional mostraram crescimento mais

acelerado que a farinha Paulino Horta, que na identificação de microrganismos, apresentou menor diversidade de bactérias que as duas primeiras.

Além disso, na produção do pão, feitos com a mesma receita, mesmo método de sova, sob a mesmo tempo e temperatura durante a fermentação cocção, também mostram características diferentes desde a textura da massa sentido no manuseio durante a produção até grau de fermentação e visual após cozidos, como é possível ver na figura 6.

Agora analisando possíveis relações entre a identificação de microrganismos e análise sensorial, destaco os resultados do pão produzido a partir da farinha Nacional. A massa mãe produzida a partir dessa farinha foi a que apresentou maior número de isolados com características morfológicas diferentes e o pão feito com essa massa mãe foi o que cresceu mais, apresentou alvéolos maiores e textura mais macia.

Também vale destacar que apesar de as três massas mães terem apresentado resultados diferentes na identificação de microrganismos, seja na quantidade quanto na tipificação, na análise sensorial dos atributos odor a fermento e sabor fermentado, os três pães foram percebidos pelos provadores como muito semelhantes, portanto não houve impacto em seu sabor e odor.

Referências

- Alais, C., & G. Linden. (1991). Cereals — bread. In *Food Biochemistry* (pp. 19–29). Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4615-2119-8_10.
- Arora, K., Ameer, H., Polo, A., Di Cagno, R., Rizzello, C. G., & Gobbetti, M. (2021). Thirty years of knowledge on sourdough fermentation: A systematic review. *Trends in Food Science & Technology*, 108, 71–83. (<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.12.008>).
- Balestra F., Pinnavaia, G.G., Romani S. (2015). Evaluation of the Effects of Different Fermentation Methods on Dough Characteristics. *Journal of Texture Studies*, 46(4), 262-271.
- Calvel, R. (2001). Bread Crust. In *The Taste of Bread* (pp. 67–77). Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4757-6809-1_7.
- Cauvain, S.P. (1998). Breadmaking processes. In: Cauvain, S.P., Young, L.S. (Ed.), *Technology of Breadmaking*. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2199-0_2.
- Chamberlain, N. (1985). Dough formation and development. In J. Brown (Eds.) *The Master Bakers Book of Breadmaking*, (pp. 47–57).
- Collister L, & Blake A. (2000). *The Bread Book* (2nd ed.). USA: The Lyons Press.
- Corsetti, A. & Settanni, L. (2007) Lactobacilli in Sourdough Fermentation. *Food Research International*, 40, 539-558. (<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2006.11.001>)
- Coulter, T. P. (2009). *Food: the chemistry of its components*. Royal Society of Chemistry.
- Damodaran, S., Parkin, K. L., & Fennema, O. R. (Eds.). (2007). *Fennema's food chemistry*. CRC press.
- De Vuyst, L. & Neysens, P. (2005). The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions. *Trends in Food Science and Technology*, 16(1), 43-56.
- Easterbrook-Smith, G. (2021) By Bread Alone: Baking as Leisure, Performance, Sustenance, During the COVID-19 Crisis. *Leisure Sciences*, 43, 36-42. (DOI: 10.1080/01490400.2020.1773980).
- FAO, IFAD, UNICEF, WFP and WHO. (2022). *The State of Food Security and Nutrition in the World 2022. Repurposing food and agricultural policies to make healthy diets more affordable*. Rome. (<https://doi.org/10.4060/cc0639en>).

- FAO. (2021). *World Food and Agriculture – Statistical Yearbook 2021*. Rome. (<https://doi.org/10.4060/cb4477en>).
- Gonçalves, M. (2014) *Microbiota – implicações na imunidade e no metabolismo*. (Dissertação de Mestrado não editada, Ciências Farmacêuticas) Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde, Lisboa. (https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/4516/1/PPG_21951.pdf)
- Gonzalez, Viejo C., Harris, N.M. & Fuentes, S. (2022). Quality Traits of Sourdough Bread Obtained by Novel Digital Technologies and Machine Learning Modelling. *Fermentation*. 8(10), 516. (<https://doi.org/10.3390/fermentation8100516>).
- Harris, L. (2003). Sourdough culture. *Gastronomica*, 3(3): 76-79. (<https://doi.org/10.1525/gfc.2003.3.3.76>)
- Hensperger B. (1999). *The Bread Bible*. USA: Chronicle Books.
- Hossain, M., Saliha, R., Weli, A., Qasim, A., Al-Sabahi, J. (2014). Comparison of chemical constituents and *in vitro* antimicrobial activities of three brands clove essential oils from Gulf region. *Asian Pac J Trop Dis*, 4 (4), 262-268. ([https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60570-3](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60570-3)).
- Lillard D. (1998). *Secrets To Making Whole Wheat Bread*. Provo: Utah State University Cooperative Extension.
- Lin, Rebecca Y. (2014). *Gluten-free bread: characterization and development of pre- and post-baked gluten free bread*. (Tese de Doutoramento não editada, Massachusetts Institute of Technology). Massachusetts, USA. (<http://hdl.handle.net/1721.1/89971>).
- Miñarro, VB. (2013). *Development of gluten-free bread formulations*. (Tese de Doutoramento não editada, Universitat Autònoma de Barcelona) Barcelona, Espanha. (<http://hdl.handle.net/10803/116216>).
- Nionelli L & Rizzello CG. (2016). Sourdough-Based Biotechnologies for the Production of Gluten-Free Foods. *Foods*, 5(3), 65. (doi: 10.3390/foods5030065).
- Pollan, M. (2014). *Cooked: A Natural History of Transformation*. Penguin

- Rosell C.M. (2012). *Nutritionally enhanced wheat flours and breads*. In *Breadmaking: Improving Quality*. (2nd ed.). USA: Woodhead Publishing.
- Sachs, J., Schmidt-Traub, G., Kroll, C., Lafortune, G. (2021). *Sustainable Development Report 2021 – The decade of action for the Sustainable Development Goals*. (DOI 10.1017/978110)
- Silva, A. & Friscio, F. (2021). A química do pão de fermentação natural e as transformações na nossa relação com o preparo desse alimento. *Quím. nova esc.*, 43(3), 232-243.
- Sofo, A., Galluzzi, A. & Zito, F. (2021). A Modest Suggestion: Baking Using Sourdough - a Sustainable, Slow-Paced, Traditional and Beneficial Remedy against Stress during the Covid-19 Lockdown. *Hum Ecol*, 49, 99–105. (<https://doi.org/10.1007/s10745-021-00219-y>)
- Song, Dongseob. (2011) Bread. *Anthropology and Humanism* 36 (2), 274. (<http://dx.doi.org/10.1111/j.1548-1409.2011.01103.x>).
- Sponagle, J. (2020). *Sourdough baking sees rise in popularity during COVID-19 pandemic*. CBC News. Consultado em 22 de Dezembro de 2020. (<https://www.cbc.ca/news/canada/north/sourdough-popular-covid-19-1.5529649>).
- Suas, M. (2011). *Panificação e Viennoiserie*. São Paulo, Cengage Learning.
- Trinh, L. (2013). Gas cells in bread dough. (Tese não editada, University of Manchester). Manchester, UK. ([https://www.research.manchester.ac.uk/portal/en/theses/gas-cells-in-bread-dough\(617b6c1d-273a-4223-a3f3-090d75ed7d0e\).html](https://www.research.manchester.ac.uk/portal/en/theses/gas-cells-in-bread-dough(617b6c1d-273a-4223-a3f3-090d75ed7d0e).html)).
- Vogel, R., Knorr, R., Mueller, M., Steudel, U., Gaenzle, M. & Ehrmann, M. (199). Non-dairy lactic fermentations: the cereal world. *Anatonie van Leeuwenhoek* 76, 403-411.
- Whunsch, N.G., (2020, dezembro 9). *Bread and Bakery products – Statistics and facts*. Statista. [Bread and bakery products - Statistics & Facts | Statista](#)
- Winters, M., Panayotides, D., Bayrak, M., Rémont, G., Viejo, C. G., Liu, D., & Howell, K. (2019). Defined co-cultures of yeast and bacteria modify the aroma, crumb and sensory properties of bread. *Journal of Applied Microbiology*, 127(3), 778-793.

Young J. (2020). A Return to Tradition: The Significance of Baking During COVID-19. *Bread for the World*. Vol. 8 No. 1/2 (2021): 2021 Double Issue: Food in Hard Times.

WEBGRAFIA

BREAD.ORG: <https://www.bread.org/what-causes-hunger/>

Deram, S. (2021). *Fermentação Natural melhora qualidade de pães com ou sem glúten*. Uol. Consultado em 25 de junho de 2021. Disponível em <https://www.uol.com.br/vivabem/colunas/sophie-deram/2021/06/25/fermentacao-natural-melhora-qualidade-de-paes-com-ou-sem-gluten.htm>.

Diniz, J.N., (2016). Origem e classificação do trigo. Massa Madre Blog. Consultado em julho 2022. Disponível em <https://massamadreblog.com.br/know-how/info-tecnicas/origem-e-classificacao-do-trigo/>

Federation of Bakers Ltd FOD (s.d.). Wheat and flour production and usage. Consultado em junho 2022. Disponível em <https://www.fob.uk.com/about-the-bread-industry/industry-facts/other-industry-data/>

Leote, R. (2022). *Pandemia, fome e conflito: uma tríade que mais uma vez ameaça o mundo*. Público. Consultado em 24 de julho 2022. Disponível em <https://www.publico.pt/2022/07/24/opiniao/opiniao/pandemia-fome-conflito-triade-ameaca-mundo-2014729>

Marques, A.D, (2020). *A pandemia acelerou-lhes o negócio e pão fresco voltou a ser entregue de porta em porta*. Observador. Consultado em 29 de outubro 2020. Disponível em <https://observador.pt/2020/10/29/a-pandemia-acelerou-lhes-o-negocio-e-o-pao-fresco-voltou-a-ser-entregue-de-porta-em-porta/>

Massa Madre Blog, (2016). *Fermento Natural para pão: o que é e por que é importante, como fazer e mais*. Consultado em 16 de dezembro. Disponível em <https://massamadreblog.com.br/know->

[how/curiosidades/fermento-natural-para-pao-o-que-e-por-que-e-importante-como-fazer-e-mais/](#)).

Massa Madre Blog, (2018, março 18). *Entenda a importância do pão e como ele mudou ao longo da história*. Consultado em 18 de março. Disponível em <https://massamadreblog.com.br/know-how/curiosidades/entenda-importancia-do-pao-e-como-ele-mudou-ao-longo-da-historia/>

Nacional, (s.d.). *A nacional*. <https://nacional.pt/a-nacional/>

Nunes, F., (2020). *Nova moda da pandemia é (tentar) fazer pão em casa*. Sapo. Consultado em agosto 2020. Disponível em <https://eco.sapo.pt/2020/08/16/nova-moda-da-pandemia-e-tentar-fazer-pao-em-casa/>

O Alcoa. (2017). *Turquel, um moinho de vento candidato a patrimônio imaterial da UNESCO*. Consultado em julho 2022. Disponível em <https://www.oalcoa.com/turquel-um-moinho-de-vento-candidato-a-patrimonio-imaterial-da-unesco/>

Pais, (s.d). *Farinhas Paulino Horta*. Projecto Matéria. Consultado em setembro 2022. Disponível em https://www.projectomateria.pt/pt/produtores/farinhas-paulino-horta_29

Ribeiro, A.D. (2021). *Levain: Da origem ao pão*. Padoca do Alex – Escola de Panificação e Padaria.

SindiTrigo. (s.d.). *História do trigo*. Sindicato das Indústrias de Trigo nos Estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo. <http://sinditrigo.com.br/historia-do-trigo/>

Stelzer, M. (2020). Em meio ao isolamento causado pelo coronavírus, farinha e fermento viram a tábua de salvação (e de ostentação). Gama Revista. Consultado em 17 de maio 2020. Disponível em <https://gamarevista.uol.com.br/estilo-de-vida/comida-bebida/paodemia/>

Super Interessante, (2020). *Quais são os alimentos mais consumidos do mundo*. Consultado em junho 2022. Disponível em <https://super.abril.com.br/mundo-estranho/quais-sao-os-alimentos-mais-consumidos-no-mundo/>

UNICEF, (2022), Relatório da ONU: Números globais de fome subiram para cerca de 828 milhões em 2021. Consultado em junho 2022. Disponível em

<https://www.unicef.org/brazil/comunicados-de-imprensa/relatorio-da-onu-numeros-globais-de-fome-subiram-para-cerca-de-828-milhoes-em-2021>

Anexos

Anexo 1 - Atributos e Âncoras para prova sensorial

Mestrado de Gastronomia

Dissertação de conclusão de curso

Aluna: Gabriela Guida de Freitas

Ano letivo 21/22

Análise de pães de fermentação natural

Atributos e Âncoras para prova sensorial



| Aspecto sensorial | Atributo | Descrição | Intensidade | | | | |
|-------------------|----------------------------|--|-----------------------------|---|---------------------------|---|---------------------------|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Aparência | Crosta dourada | Tonalidade castanha e dourada da parte externa do pão | Castanha de caju | | Filé de frango grelhado | | Avelã |
| | Cor do miolo | Tonalidade da parte interna do pão | Leite | | Chocolate branco | | Arroz integral |
| | Alvéolos quantidade | Presença de buracos no interior da massa resultante da fermentação | 30% da massa com alvéolos | | 50% da massa com alvéolos | | 80% da massa com alvéolos |
| | Alvéolos tamanho | Tamanho dos buracos no interior da massa | Pimenta preta | | M&M | | Berlindes |
| Odor | Odor fermentado | Presença de odor a fermento | Odor a fermento baixo | | Odor a fermento moderado | | Odor a fermento intenso |
| | Odor farinha | Presença de odor a farinha | Odor a farinha baixo | | Odor a farinha moderado | | Odor a farinha intenso |
| | Odor assado | Presença de odor a tostado | Odor a pão de ló | | Odor a batata a murro | | Odor a forno a lenha |
| Textura | Maciez | Fofura e densidade da massa | Pão de forma | | Pão de trigo | | Broa de milho |
| | Humidade | Presença de humidade no pão | Pão seco que deixa migalhas | | Bolo | | Brownie |
| | Elasticidade | Resistência elástica oferecida ao mastigar o pão cozido | Massa | | Lula | | Pastilha |
| | Crocância da crosta | Parte externa levemente caramelizada e crocante | Torrada | | Panados | | Batata frita de pacote |
| Sabor | Sabor fermentado | Presença do sabor fermentado levemente azedo | Cheese cake | | Queijo de cabra | | Pickles |
| | Sabor trigo/farinha | Presença de sabor salgado | Sabor a farinha baixo | | Sabor a farinha moderado | | Sabor a farinha intenso |
| | Sabor tostado | Presença de sabor de orégão | Bolo | | Torrada | | Carne grelhada |

Anexo 2 - Ficha de prova sensorial – farinha Paulino Horta

Mestrado de Gastronomia

Dissertação de conclusão de curso

Aluna: Gabriela Guida de Freitas

Ano letivo 21/22

Análise de pães de fermentação natural

Ficha de prova sensorial

Farinha PH



| Aspecto sensorial | Atributo | Intensidade | | | | |
|-------------------|---------------------|-------------|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Aparência | Crosta dourada | | | | | |
| | Cor do miolo | | | | | |
| | Alvéolos quantidade | | | | | |
| | Alvéolos tamanho | | | | | |
| Odor | Odor fermentado | | | | | |
| | Odor farinha | | | | | |
| | Odor assado | | | | | |
| Textura | Maciez | | | | | |
| | Humidade | | | | | |
| | Elasticidade | | | | | |
| | Crocância da crosta | | | | | |
| Sabor | Sabor fermentado | | | | | |
| | Sabor trigo/farinha | | | | | |
| | Sabor tostado | | | | | |

Anexo 3 - Ficha de prova sensorial – farinha Rodrigues

Mestrado de Gastronomia

Dissertação de conclusão de curso

Aluna: Gabriela Guida de Freitas

Ano letivo 21/22

Análise de pães de fermentação natural

Ficha de prova sensorial

Farinha R



| Aspecto sensorial | Atributo | Intensidade | | | | |
|-------------------|---------------------|-------------|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Aparência | Crosta dourada | | | | | |
| | Cor do miolo | | | | | |
| | Alvéolos quantidade | | | | | |
| | Alvéolos tamanho | | | | | |
| Odor | Odor fermentado | | | | | |
| | Odor farinha | | | | | |
| | Odor assado | | | | | |
| Textura | Maciez | | | | | |
| | Humidade | | | | | |
| | Elasticidade | | | | | |
| | Crocância da crosta | | | | | |
| Sabor | Sabor fermentado | | | | | |
| | Sabor trigo/farinha | | | | | |
| | Sabor tostado | | | | | |

Anexo 4 - Ficha de prova sensorial – farinha Nacional

Mestrado de Gastronomia

Dissertação de conclusão de curso

Aluna: Gabriela Guida de Freitas

Ano letivo 21/22

Análise de pães de fermentação natural

Ficha de prova sensorial

Farinha N



| Aspecto sensorial | Atributo | Intensidade | | | | |
|-------------------|---------------------|-------------|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Aparência | Crosta dourada | | | | | |
| | Cor do miolo | | | | | |
| | Alvéolos quantidade | | | | | |
| | Alvéolos tamanho | | | | | |
| Odor | Odor fermentado | | | | | |
| | Odor farinha | | | | | |
| | Odor assado | | | | | |
| Textura | Maciez | | | | | |
| | Humidade | | | | | |
| | Elasticidade | | | | | |
| | Crocância da crosta | | | | | |
| Sabor | Sabor fermentado | | | | | |
| | Sabor trigo/farinha | | | | | |
| | Sabor tostado | | | | | |

