

## DESENVOLVIMENTO DE FERMENTO NATURAL PARA PÃES ISENTOS DE GLÚTEN

DÉBORA K. GODINHO<sup>1\*</sup>

ELLEN N. MARÇAL<sup>1</sup>

ELIANE D. G. DANESI<sup>2</sup>

A fermentação natural é conhecida como uma forma de conferir aos pães atributos sensoriais e agregar valor nutricional. Sendo assim, buscou-se o desenvolvimento de um fermento natural isento de glúten a base de farinha de arroz (FA) em comparação ao fermento natural tradicional com farinha de trigo (FT). Os fermentos foram produzidos com farinha e água e incubados a 26°C por 10 dias, com alimentação diária. Foram realizados acompanhamentos de pH, acidez total titulável (ATT) e contagem microbiológica. Após a obtenção dos fermentos maduros realizou-se acompanhamento do pH e acidez ao longo de 24 h e teste de capacidade fermentativa. O protocolo estabelecido possibilitou a obtenção de fermentos com resultados de pH em média de 3,44 para FA e 3,64 para FT. ATT, em ml NaOH 0,1N 100g<sup>-1</sup>, foi de 13,72 para FA e 13,42 para FT. As populações de leveduras em log UFCg<sup>-1</sup> foram de 6,75 para FA e 7,02 para FT e de bactérias lácticas 7,77 e 7,75 para FA e FT respectivamente. Os resultados dos testes de capacidade fermentativa demonstraram que FA não diferiu significativamente de FT. Conclui-se que FA pode ser uma alternativa interessante para a produção de pão isento de glúten com fermentação natural.

**PALAVRAS-CHAVE:** FARINHA DE ARROZ; FARINHA DE TRIGO, BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁCTICAS; LEVEDURAS.

---

<sup>1</sup>Pós-graduação, Departamento de Engenharia de Alimentos/Universidade Estadual de Ponta Grossa

<sup>2</sup>Docente, / Departamento de Engenharia de Alimentos/Universidade Estadual de Ponta Grossa

\*E-mail para correspondência: debora.godinho@uol.com.br

## 1. INTRODUÇÃO

O fermento natural, *sourdough*, massa madre ou *levain*, consiste em uma massa fermentada de bactérias ácido-láticas e leveduras. A fermentação natural é uma técnica que pode utilizar diversos tipos de farinhas, como trigo, centeio ou outros cereais, e água para o preparo de fermentos para panificação. É o processo mais antigo que consiste na fermentação espontânea e acidificação, devido à microbiota local em uma interação complexa, principalmente bactérias ácido láticas (LAB) e leveduras (DE VUYST; COMASIO; KERREBROECK, 2023; AKAMINE, 2023).

Arora *et al.*, (2021) após a revisão de 1230 artigos de pesquisa verificaram que a fermentação natural melhora os atributos sensoriais, nutricionais, funcionais, reológicos e de vida útil de pães. Ocorre aumento da biodisponibilidade mineral, redução do índice glicêmico, melhora na digestibilidade das proteínas e diminuição do conteúdo de fatores antinutricionais, consistindo numa técnica vantajosa para indústrias e consumidores.

A farinha de trigo é a matéria-prima mais utilizada no preparo de produtos panificados, devido a presença de prolaminas, que quando misturadas à água e agitadas mecanicamente, formam o glúten. O glúten é uma rede viscoelástica responsável por dar forma às massas e reter os gases formados na fermentação (WANG *et al.*, 2017).

Entretanto, há uma grande parcela de população que possui alguma reação adversa ao glúten, a eliminação total desse componente da dieta é a única forma de evitar sintomas dessa intolerância (ALJADA; ZOHNI; ELMATARY; 2021).

Portanto, procuram-se meios de substituir a farinha de trigo em produtos de panificação. A maioria dos produtos isentos de glúten presentes no mercado são muito calóricos, de baixo valor nutricional, de custo elevado e existem relatos negativos do ponto de vista sensorial. A farinha de arroz é uma das mais utilizadas, devido sua composição e poder ser fabricada a partir de subprodutos do beneficiamento do arroz polido (SOUZA *et al.*, 2013).

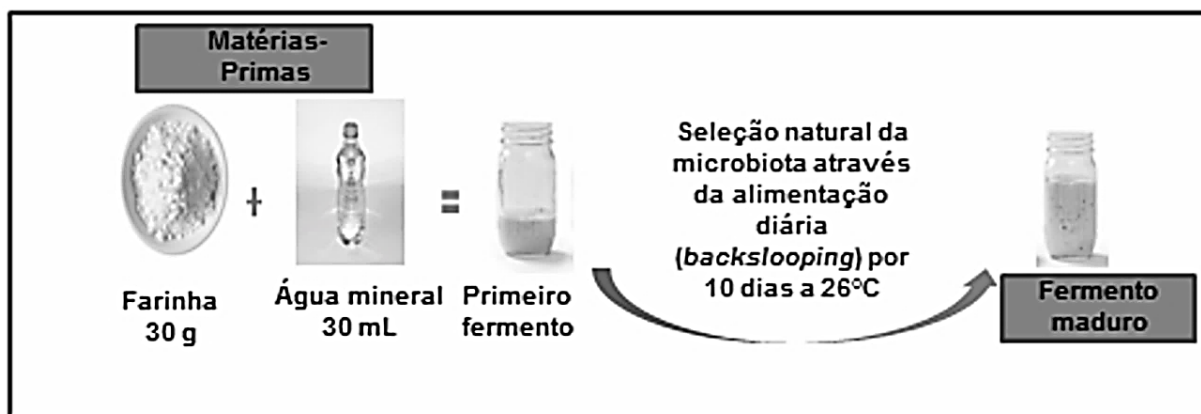
Assim sendo, objetivo deste trabalho foi desenvolver um fermento natural para elaboração de pães isentos de glúten com farinha de arroz e comparar com um fermento de trigo, avaliando parâmetros físico-químicos e microbiológicos.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

As matérias-primas para elaboração dos fermentos: farinha de arroz, farinha de trigo e água mineral foram adquiridos em comércio local (Ponta Grossa/PR). Os reagentes foram de pureza comprovada pelo fabricante.

Para a produção dos fermentos foram utilizados frascos de vidro esterilizados onde foram adicionados 30 g das farinhas e 30 ml de água, homogeneizados por 2 min e cobertos com um tecido poroso. As misturas foram acondicionadas em estufa a 26°C e alimentadas diariamente nas mesmas proporções iniciais. A partir do 3º dia uma porção de 30 g de massa

fermentada foi retirada (*backsloping*) e adicionada a mesma proporção de farinha e água. Os fermentos foram alimentados numa proporção 1:1:1 (fermento: farinha: água) por 10 dias (SIEPMANN, 2018) e o esquema está na Figura 1.



**FIGURA 1 – PRODUÇÃO DE FERMENTO NATURAL**

O pH foi determinado em potenciômetro pelas instruções do manual do fabricante. A acidez total titulável (ATT) foi determinada seguindo metodologia do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008) (expressa em ml de NaOH 0,1N consumida).

A avaliação do crescimento microbiano foi determinada pela contagem em placas ( $\log \text{UFCg}^{-1}$ ) usando o método *pour plate*. Assepticamente, 25 g do fermento natural foram misturados com 225 ml de água peptonada estéril ( $0,1 \text{ g}100\text{g}^{-1}$ ) homogeneizadas por três min a temperatura ambiente e, diluídas em série ( $10^{-1}$  a  $10^{-6}$ ) com água peptonada estéril. O isolamento por esgotamento de BAL foi realizado em meio de cultura seletivo para lactobacilos, ágar MRS (De Man, Rogosa e Sharpe, Kasvi®) a  $30^{\circ}\text{C}$  sobre aerobiose por 48 h e as leveduras cultivadas em ágar PDA (ágar *Potato Dextrose Agar*, Kasvi®) com ácido tartárico 10% em condições aeróbicas a  $25^{\circ}\text{C}$  a 72 h (SILVA *et al.*, 2017).

A capacidade fermentativa foi avaliada em tubos graduados com adição de 10 ml de fermento em cada tubo. Os tubos foram incubados em estufa a  $26^{\circ}\text{C}$ , por 13 h. Nesta avaliação foi utilizada a metodologia descrita em Aplevicz (2013) onde após o período de incubação foi medida a expansão de volume do fermento em ml.

Com a finalidade de verificar a influência da alimentação (adição de farinha e água à massa fermentada), os fermentos maduros de FA e FT foram alimentados com duas proporções diferentes e mantidos a  $26^{\circ}\text{C}$  por 8 h. A alimentação 1:1:1 consistiu na retirada de 30 g de fermento maduro, com adição de 30 ml de água e 30 g de farinha. Já na alimentação 1:2:2, foi realizada retirada de 30 g de fermento, com adição de 60 ml de água e de 60 g de farinha. Resultados de pH e ATT foram verificados após a primeira alimentação (ponto 0), após 4 h e ao final de 8h de incubação.

As análises foram realizadas em triplicata, com média e desvio padrão. Foi aplicada análise de variância nas médias e comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade através do *software* Minitab®.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição das farinhas de arroz e trigo encontra-se expressa na Tabela 1. Verifica-se que podem ser utilizadas para elaboração de fermento natural, pois apresentam nutrientes importantes para o crescimento microbiano, destacando proteínas e cinzas. As farinhas com os maiores teores de cinzas são as ideais para a produção de fermento, devido a maioria dos microrganismos encontrarem-se na casca dos cereais (APLEVICZ, 2014).

Os resultados de pH, acidez total titulável e da contagem de microrganismos - leveduras e bactérias lácticas - dos fermentos produzidos com farinhas de arroz e trigo, encontram-se expressos na Tabela 2.

**TABELA 1 – COMPOSIÇÃO DAS FARINHAS DE ARROZ E DE TRIGO**

<b>Componente (g 100 g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Farinha de arroz</b>	<b>Farinha de trigo</b>
<b>Umidade</b>	9,62	11,8
<b>Cinzas</b>	0,81	0,64
<b>Proteínas</b>	6,24	10,7
<b>Lipídios</b>	0,76	1,36
<b>Fibras alimentares</b>	0,78	2,58
<b>Carboidratos Totais</b>	82,6	75,5

Fonte: Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA-FCF-USP), 2023.

O pH dos fermentos apresentaram diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) em todos os dias de avaliação e encontraram-se próximos da faixa de trabalho encontrada na literatura. Conforme Arora *et al.* (2021) dependendo do tipo de farinha e protocolo utilizado, a média do pH de fermentos naturais é de 4,1, com a faixa mais comum entre 3,4 e 4,9. Além de BAL, um fermento maduro possui leveduras com alta capacidade de suportar uma ampla faixa de pH de 2,0 a 12,0 (MARTIN, 2022).

Os valores de acidez nos fermentos nos 3° e 6° dias do experimento diferiram de forma significativa ( $p \leq 0,05$ ). Ao final do teste, no 10° dia, não se observou diferença significativa entre os dois fermentos. Segundo a literatura estudada, o intervalo para a acidez total titulável (ATT) é de 4,0 – 25,0 ml de NaOH 0,1 N 100g<sup>-1</sup>, com um valor mediano de 11,0 ml de NaOH 0,1 N 100g<sup>-1</sup> (ARORA *et al.*, 2021).

Observa-se que a contagem de leveduras atingiu valores próximos aos descritos na literatura. Segundo Martin (2022), as primeiras comunidades microbianas, geralmente autóctones da farinha, não excedem 5,00 log UFCg<sup>-1</sup>. Já no fermento maduro as densidades celulares médias encontradas foram de 8,50 e 6,50 log UFCg<sup>-1</sup> para bactérias ácido-láticas e leveduras, respectivamente (ARORA *et al.*, 2021).

**TABELA 2 – pH, ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL (ATT) E CONTAGEM DE MICRORGANISMOS - LEVEDURAS E BACTÉRIAS LÁCTICAS DOS FERMENTOS NATURAIS PRODUZIDOS COM DIFERENTES FARINHAS**

Parâmetros	Dias	Substrato / Farinha	
		FA	FT
pH	3 <sup>o</sup>	3,29±0,007 <sup>Bb</sup>	3,44±0,014 <sup>Ba</sup>
	6 <sup>o</sup>	3,30±0,007 <sup>Bb</sup>	3,37±0,014 <sup>Ca</sup>
	10 <sup>o</sup>	3,44±0,000 <sup>Ab</sup>	3,64±0,007 <sup>Aa</sup>
Acidez (ml NaOH 0,1N 100g <sup>-1</sup> )	3 <sup>o</sup>	11,17±0,063 <sup>Bb</sup>	14,23±0,061 <sup>ABa</sup>
	6 <sup>o</sup>	12,15±0,221 <sup>Bb</sup>	15,55±0,650 <sup>Aa</sup>
	10 <sup>o</sup>	13,72±0,391 <sup>Aa</sup>	13,42±0,304 <sup>Ba</sup>
Leveduras (log UFCg <sup>-1</sup> )	3 <sup>o</sup>	4,25±0,354 <sup>Ba</sup>	< 4,00 <sup>Cb</sup>
	6 <sup>o</sup>	6,52±0,742 <sup>Aa</sup>	5,45±0,212 <sup>Ba</sup>
	10 <sup>o</sup>	6,75±0,070 <sup>Aa</sup>	7,02±0,106 <sup>Aa</sup>
Bactérias lácticas (log UFCg <sup>-1</sup> )	3 <sup>o</sup>	7,17±0,035 <sup>Ca</sup>	7,27±0,035 <sup>Ba</sup>
	6 <sup>o</sup>	7,32±0,035 <sup>Ba</sup>	6,90±0,000 <sup>Cb</sup>
	10 <sup>o</sup>	7,77±0,035 <sup>Aa</sup>	7,75±0,071 <sup>Aa</sup>

Notas: FA = farinha de arroz / FT = farinha de trigo. Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na coluna não apresentam diferença significativa a 5% no Teste de Tukey. Médias seguidas de letras minúsculas iguais na linha não apresentam diferença significativa a 5% no Teste de Tukey.

Carbó *et al.* (2020) em seus estudos com fermento natural isento de glúten encontrou populações de bactérias lácticas de 9,60±0,02 log UFCg<sup>-1</sup> e populações de leveduras entre de 7,91±0,15 e 7,52±0,10 log UFCg<sup>-1</sup>. Marti *et al.*, (2015) comparando fermentos com e sem glúten, relataram uma contagem de BAL de 8,85 a 8,90 log UFCg<sup>-1</sup> e de leveduras de 7,90 a 7,95 log UFCg<sup>-1</sup> para ambos os fermentos.

Os resultados de pH, acidez e capacidade fermentativa estão expressos na Tabela 3.

**TABELA 3 – pH, ACIDEZ TITULÁVEL E CAPACIDADE FERMENTATIVA DOS FERMENTOS DE ARROZ E TRIGO**

Parâmetros	Período (h)	Substrato / Farinha	
		FA	FT
pH	0	4,25±0,007 <sup>Aa</sup>	4,18±0,007 <sup>Ab</sup>
	4	3,85±0,007 <sup>Bb</sup>	3,91±0,014 <sup>Ba</sup>
	6	3,75±0,000 <sup>Cb</sup>	3,84±0,007 <sup>Ca</sup>
	12	3,59±0,007 <sup>Db</sup>	3,68±0,007 <sup>Da</sup>
	24	3,47±0,007 <sup>Eb</sup>	3,51±0,007 <sup>Ea</sup>
Acidez (mlNaOH 0,1N 100g <sup>-1</sup> )	0	2,14±0,076 <sup>Ca</sup>	4,00±0,782 <sup>Da</sup>
	4	4,00±0,782 <sup>Ba</sup>	6,32±0,093 <sup>Ca</sup>
	6	5,28±0,971 <sup>Ba</sup>	7,02±0,170 <sup>BCa</sup>
	12	6,19±0,575 <sup>Bb</sup>	8,31±0,171 <sup>ABa</sup>
	24	9,37±0,162 <sup>Aa</sup>	9,71±0,043 <sup>Aa</sup>
Capacidade fermentativa (ml)	-	10	10
	13	17,33±2,52 <sup>a</sup>	21,67±2,89 <sup>a</sup>

Notas: FA= farinha de arroz / FT= farinha de trigo - Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na coluna não apresentam diferença significativa a 5% no Teste de Tukey. Médias seguidas de letras minúsculas iguais na linha não apresentam diferença significativa a 5% no Teste de Tukey.

Os valores de pH foram reduzindo ao longo do período de fermentação para os dois tipos de farinhas com diferença significativa em todos os

momentos ( $p \leq 0,05$ ). Os resultados observados de redução de pH foram semelhantes aos de Aplevicz; Ogliari, Sant'anna (2013), com fermentos naturais com adição de microrganismos onde relataram um decréscimo de pH em média de 4,62 para 3,44 nas primeiras 10 h de fermentação.

Com relação a acidez, as duas farinhas apresentaram resultados semelhantes ( $p \leq 0,05$ ). A acidez foi aumentando ao longo da fermentação iniciando com o valor de 2,14 ml NaOH 0,1N  $100g^{-1}$  no início do teste para o fermento de FA e 4,00 ml NaOH 0,1N  $100g^{-1}$  para o fermento FT. Verificou-se com este experimento que o momento ideal para retirada do fermento para a produção do pão é entre 4 e 6 h após alimentação do fermento para que a acidez não interfira na qualidade sensorial do pão.

Após 13 h de incubação, a capacidade fermentativa não apresentou diferença significativa entre os fermentos de FA e FT. O volume de 10 ml se elevou em média para 17 ml com FA e 21 ml para FT. Chapieski (2021) relatou com farinha de trigo refinada o volume final de 13 ml, e farinha integral, volume final de 12 ml.

#### **4. CONCLUSÃO**

Foi possível demonstrar que a farinha de arroz é uma matéria-prima viável para a produção de fermento natural isento de glúten. Os resultados para capacidade fermentativa, ATT, contagem de BAL e leveduras não diferiram de forma significativa do fermento tradicional produzido com farinha de trigo após os 10 dias de fermentação. O pH final do fermento de FA ficou em 3,4, dentro da faixa mais comum pela literatura compreendida entre 3,4 e 3,9.

O acompanhamento dos fermentos maduros por 24 h demonstrou estarem aptos para a produção de pães entre 4 e 6 h após a renovação de nutrientes, devido faixa de resultados de pH e acidez que se encontram com atividade fermentativa comprovada.

#### **DEVELOPMENT OF NATURAL YEAST FOR GLUTEN-FREE BREADS**

The sourdough is known as a way to give breads sensory attributes and add nutritional value. Therefore, the development of a gluten-free sourdough based on rice flour (RF) was sought in comparison to the traditional with wheat flour (WF). Sourdoughs were produced with flour and water and incubated at 26°C for 10 days, with daily feeding. Monitoring of pH, total titratable acidity (TTA) and microbiological count were performed. After obtaining the mature sourdough, pH and acidity were monitored over 24 h and fermentation capacity test was performed. The established protocol made it possible to obtain ferments with pH results averaging 3.44 for RF and 3.64 for WF. TTA, in ml NaOH 0.1N  $100g^{-1}$ , was 13.72 for RF and 13.42 for WF. Yeast populations in log CFUg<sup>-1</sup> were 6.75 for RF and 7.02 for WF and lactic bacterias 7.77 and 7.75 for RF and WF respectively. The results of the fermentative capacity tests showed that RF did not differ significantly from WF. It is concluded that RF can

be an interesting alternative for the production of gluten-free bread with natural fermentation.

## REFERÊNCIAS

- AKAMINE, I.T.; MANSOLDO, F.R.P.; VERMELHO, A.B. Probiotics in the Sourdough Bread Fermentation: Current Status. **Fermentation**, v.9, n. 2, p. 90, 2023.
- ALJADA, B.; ZOHNI, A.; EL-MATARY, W. The gluten-free diet for celiac disease and beyond. **Nutrients**, v. 13, n. 11, p. 3993, 2021.
- APLEVICZ, K.S. Fermentação natural em pães: ciência ou modismo. **Aditivos & Ingredientes**, v. 105, n. 1, p. 36-38, 2014.
- APLEVICZ, K.S.; OGLIARI, P.J.; SANT'ANNA, E.S. Influence of fermentation time on characteristics of sourdough bread. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 2, p. 233-239, 2013.
- ARORA, K.; AMEUR, H.; POLO, A.; DI CAGNO, R.; RIZZELLO, C.G.; GOBBETTI, M. Thirty years of knowledge on sourdough fermentation: A systematic review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 108, p.71-83, 2021.
- CARBÓ, R.; GORDÚN, E.; FERNÁNDEZ, A.; GINOVART, M. Elaboration of a spontaneous gluten-free sourdough with a mixture of amaranth, buckwheat, and quinoa flours analyzing microbial load, acidity, and pH. **Food Science and Technology International**, v. 26, n. 4, p. 344-352, 2020.
- CHAPIESKI, G.A. **Produção de fermento natural a partir de farinha refinada e farinha integral**. 2021. 36 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa (PR), 2021. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/26600>. Acesso em: 01/08/2023.
- DE VUYST, L.; COMASIO, A.; KERREBROECK, S.V. Sourdough production: fermentation strategies, microbial ecology, and use of non-flour ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 63, n. 15, p. 2447-2479, 2023.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ, Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. V.1; **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**, São Paulo: IMESP. 2008.

- MARTI, A. BOTTEGA, G.; FRANZETTI, L.; MORANDIN, F.; QUAGLIA, L.; PAGANI, M. A. From wheat sourdough to gluten-free sourdough: a non-conventional process for producing gluten-free bread. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 5, n.5, p. 1268-1274, 2015.
- MARTIN, J. **Microbiologia de Alimentos Fermentados**. São Paulo: Édgard Blucher, 2022.
- SIEPMANN, F.B.; RAPARI, V.; WASZCZYNSKYJ, N.; SPIER, M.R. Overview of sourdough technology: From production to marketing. **Food and Bioprocess Technology**, v. 11, p. 242-270, 2018.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. São Paulo: Blucher, 2017.
- SOUZA, T.A.C. SOARES JÚNIOR; M.S.; CAMPOS, M.R.H.; SOUZA, T.S.C.; DIAS, T.; FIORDA, F.A. Bolos sem glúten a base de arroz quebrado e casca de mandioca. **Semina: Ciencias Agrárias**, v. 34, n. 2, p. 717–728, 2013.
- TBCA. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. Universidade de São Paulo (USP). Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tbca/> Acesso em: 01 ago. 2023.
- WANG, K.; LU, F.; LI, Z.; ZHAO, L.; HAN, C. Recent developments in gluten-free bread baking approaches: a review. **Food Science and Technology**, v. 37, p. 1-9, 2017.

## AGRADECIMENTOS

As autoras agradecem a CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - pelas bolsas concedidas.