

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DOS
ALIMENTOS

Tatiane Codem Tonetto

**MELHORIA NAS CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS DE PÃO ISENTO
DE GLÚTEN A PARTIR DA FERMENTAÇÃO NATURAL**

Santa Maria, RS

2018

Tatiane Codem Tonetto

**MELHORIA NAS CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS DE PÃO ISENTO DE
GLÚTEN A PARTIR DA FERMENTAÇÃO NATURAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia dos Alimentos, área de concentração em Qualidade de Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências e Tecnologia dos Alimentos**.

Orientadora: Prof^a Dr^a Leadir Lucy Martins Fries

Coorientadora: Prof^a Dr^a Gilberti Helena Hubscher Lopes

Santa Maria, RS

2018

Tonetto, Tatiane
MELHORIA NAS CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS DE PÃO ISENTO
DE GLÚTEN A PARTIR DA FERMENTAÇÃO NATURAL / Tatiane
Tonetto.- 2018.
91 p.; 30 cm

Orientador: Leadir Lucy Martins Fries
Coorientador: Gilberti Helena Hubscher Lopes
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2018


1. Pães isentos de glúten 2. Fermentação natural I.
Martins Fries, Leadir Lucy II. Hubscher Lopes, Gilberti
Helena III. Título.

Tatiane Codem Tonetto


**MELHORIA NAS CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS DE PÃO ISENTO DE
GLÚTEN A PARTIR DA FERMENTAÇÃO NATURAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia dos Alimentos, área de concentração em Qualidade de Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências e Tecnologia dos Alimentos**.

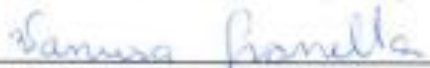
Aprovada em 28 de março de 2018:



Leadir Lucy Martins Fries, PhD. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)



Pablo Teixeira da Silva, Dr. (UFSM)



Vanusa Granella, Dra. (IFF-SVS)

Santa Maria, RS
2018

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, Renato e Elenita, meu esposo André e ao nosso filho Lucas, com carinho,
dedico esse trabalho.*

AGRADECIMENTOS

- Primeiramente agradeço a Deus pelo dom da vida, saúde e força para perseverar a cada dia;
- À Prof^a Dr^a Leadir Lucy Martins Fries e Prof^a Dr^a Gilberti Helena Hubscher pelas orientações, ensinamentos, amizade e revisão crítica desta dissertação;
- Aos meus pais, Renato e Elenita, pela educação que recebi, pelo amor que me ofertaram, pelo grande exemplo de luta e por abdicarem de muitas coisas em prol da minha educação e de meus irmãos;
- Um agradecimento especial à minha mãezinha, por cuidar de nós, mas principalmente do Lucas. Se não fosse ela eu não teria chegado até aqui.
- Ao meu esposo André, pelo amor, companheirismo, incentivo e apoio;
- Ao meu amado filho Lucas, pelos dois anos que “cuidou” da mamãe e que suportou minha ausência;
- Aos meus irmãos, minha família e meus amigos pelo incentivo, momentos de descontração e simplesmente por existirem em minha vida;
- Aos colegas de PPG Daiane, Felipe e Giane, pelo auxílio, pelas trocas de experiências e pelos momentos gastronômicos que deixaram nossos fardos mais leves;
- Às bolsistas, Aline, Caroline e Vanuza, pelo auxílio com as análises;
- Aos colegas do Colégio Politécnico que dividiram comigo a correia destes dois anos e me substituíram quando necessário;
- Ao Colégio Politécnico da UFSM, na pessoa do Diretor Prof. Dr. Valmir Aita, pela liberação do espaço físico e equipamentos para realização de grande parte deste trabalho;
- Aos professores e funcionários do Departamento de Tecnologia dos Alimentos e do Colégio Politécnico da UFSM pelos ensinamentos, auxílio e incentivo;
- À UFSM, que possibilitou a execução deste trabalho;

Enfim, a todos que de alguma maneira contribuíram para concretização desse trabalho.

“A persistência é o caminho do êxito”.
(Charles Chaplin)

RESUMO

MELHORIA NAS CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS DE PÃO ISENTO DE GLÚTEN A PARTIR DA FERMENTAÇÃO NATURAL

AUTORA: Tatiane CodemTonetto

ORIENTADORA: Leadir Lucy Martins Fries

CO-ORIENTADORA: Gilberti Helena Hubscher Lopes

Em virtude do aumento nos diagnósticos de doença celíaca e de outros distúrbios provocados pelo glúten, e ainda de pessoas que seguem uma dieta alternativa, tem aumentado o consumo e a busca por panificados isentos de glúten, principalmente por pão. No entanto, a panificação isenta de glúten tem se mostrado como o principal desafio tecnológico, pois na ausência dessa proteína os pães são caracterizados como pouco atrativos ao consumo, em função de diferirem muito sensorialmente do pão tradicional. Portanto, o objetivo deste estudo foi elaborar pães isentos de glúten, utilizando fermento natural produzido a partir de farinha de arroz na busca de melhorias nas características tecnológicas, sensoriais e vida de prateleira. O fermento foi desenvolvido pela fermentação espontânea de farinha de arroz e teve os parâmetros físico-químicos (pH e acidez titulável) e microbiológicos (contagem de bactérias ácido lácticas e bolores e leveduras) monitorados durante sua fabricação. Posteriormente, foram elaborados pães com três diferentes concentrações do fermento natural: 10, 20 e 30g para cada 100g de fonte de amido, que foram comparados com tratamento controle desenvolvido com fermento comercial. Foram realizadas análises de volume específico, atividade de água, umidade, textura e cor da crosta e do miolo e firmeza a fim de determinar a qualidade tecnológica dos pães. Para acompanhar a vida de prateleira dos pães, a contagem de bolores e leveduras e de microrganismos aeróbios mesófilos, além da atividade de água, umidade e análise da firmeza do miolo foram realizadas nos dias 1, 3 e 5 após a elaboração dos pães. Ainda, a segurança microbiológica dos pães foi garantida conforme legislação vigente, através da contagem de Coliformes a 45°C, *Salmonella sp* e *Bacillus cereus*, para serem avaliados sensorialmente por um painel de provadores não treinados, através dos testes afetivos de aceitação e intenção de compra e afetivo de ordenação de preferência. Os resultados demonstraram diferenças ($p < 0,05$) para o volume e a cor entre os tratamentos desenvolvidos com fermento natural e com fermento comercial, mas que visualmente são imperceptíveis. Houve uma inibição no crescimento de fungos e uma redução na velocidade de endurecimento do miolo, sendo estas proporcionais à concentração de fermento natural utilizada. Esse estudo evidencia o fermento natural, desenvolvido com farinha de arroz, como uma ferramenta capaz de agregar benefícios a pães isentos de glúten, principalmente quanto ao aumento na vida de prateleira sem a utilização de aditivos químicos.

Palavras-chave: aeróbios mesófilos; bolores e leveduras; bactérias ácido lácticas; sensorial.

ABSTRACT

IMPROVEMENT IN SENSORY CHARACTERISTICS OF GLUTEN-FREE BREAD FROM NATURAL FERMENTATION

AUTHOR: TatianeCodemTonetto
ADVISOR: Leadir Lucy Martins Fries
CO-ADVISOR: Gilberti Helena Hubscher Lopes

Due to the increase in the diagnosis of celiac disease and other disorders caused by gluten, as well as people who follow an alternative diet, consumption and the search for gluten-free bread products have increased, especially for bread. However, gluten-free baking has been shown to be the main technological challenge, since in the absence of this protein, bread is characterized as unattractive to consumption, because of the very sensorial difference of traditional bread. Therefore, the objective of this study was to prepare gluten-free breads, using natural yeast produced from rice flour in search of improvements in technological, sensory and shelf life characteristics. The yeast was developed by the spontaneous fermentation of rice flour and had the physical-chemical parameters (pH and titratable acidity) and microbiological parameters (counting of lactic acid bacteria and molds and yeasts) monitored during its manufacture. Subsequently, breads were prepared with three different concentrations of natural yeast: 10, 20 and 30g for each 100g of starch source, which were compared with control treatment developed with commercial yeast. Analyses of specific volume, water activity, moisture, texture and color of the crust and crumb and firmness were carried out in order to determine the technological quality of the breads. To follow the shelf life of the loaves, the counts of mold and yeast and aerobic mesophiles, water activity, moisture and analysis of the firmness of the crumb were performed on days 1, 3 and 5 after brewing. In addition, the microbiological safety of breads was guaranteed according to current legislation, by counting Coliformes at 45°C, Salmonella sp and Bacillus cereus, to be sensorially evaluated by a panel of untrained tasters, through affective acceptance and purchase intention tests and affective of order of preference. The results showed differences ($p < 0.05$) for volume and color between treatments developed with natural yeast and with commercial yeast, but which are visually imperceptible. There was an inhibition on fungal growth and a reduction in the rate of hardening of the kernel, these being proportional to the concentration of natural yeast used. This study evidences the natural yeast, developed with rice flour, as a tool capable of adding benefits to gluten-free breads, mainly regarding the increase in shelf life without the use of chemical additives.

Keywords: aerobic mesophiles; molds and yeasts; lactic acid bacteria; sensory.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Aspecto da mucosa de um intestino delgado normal e outro portador da doença celíaca.18
- Figura 2. Imagem representativa das proteínas presentes na farinha de trigo e da rede formada por elas. 20

MANUSCRITO 1

- Figura 1. Fluxograma de preparo dos pães isentos de glúten com fermento natural e com fermento comercial através do método direto de mistura. 32
- Figura 2. pH (a) e acidez titulável (ATT) (b) a temperatura de 30°C e contagem microbiológica de bactérias ácido lácticas (BAL) e de leveduras (LEV) (c) durante o período de desenvolvimento do fermento natural. 35

MANUSCRITO 2

- Figura 1. Contagens de bolores e leveduras (a) e de microrganismos aeróbios mesófilos (b) realizadas nos pães isentos de glúten desenvolvidos com fermento comercial e com diferentes concentrações de fermento natural durante 7 dias de estocagem. 52
- Figura 2. Alterações causadas por bolores e leveduras nos pães isentos de glúten desenvolvidos com fermento comercial e com diferentes concentrações de fermento natural após 7 dias de armazenamento em temperatura ambiente. 53
- Figura 3. Intenção de compra obtida através da análise sensorial para as amostras de pães isentos de glúten desenvolvidos com fermento comercial e com diferentes concentrações de fermento natural. 56

LISTA DE TABELAS

MANUSCRITO 1

- Tabela 1. Formulações utilizadas para a produção de pães isentos de glúten, utilizando fermento natural (10, 20 e 30%) e fermento comercial. 32
- Tabela 2. Cor da crosta e do miolo dos pães isentos de glúten elaborados com fermento natural e fermento comercial..... 39

MANUSCRITO 2

- Tabela 1. Formulações utilizadas para elaboração de pães isentos de glúten, utilizando fermento comercial (FC) e 10, 20 e 30% de fermento natural..... 46
- Tabela 2. Umidade e atividade de água dos pães isentos de glúten desenvolvidos com fermento comercial e com diferentes concentrações de fermento natural nos dias 1, 3 e 5 de estocagem. 50
- Tabela 3. Contagens de microrganismos aeróbios mesófilos e de bolores e leveduras realizadas nos pães isentos de glúten desenvolvidos com fermento comercial e com diferentes concentrações de fermento natural durante 7 dias de estocagem..... 52
- Tabela 4. Textura das fatias de pães isentos de glúten desenvolvidos com fermento comercial e com diferentes concentrações de fermento natural. 54
- Tabela 5. Médias das notas atribuídas no teste de aceitação para as características de cor, aroma, sabor, textura e avaliação global das amostras de pães isentos de glúten desenvolvidos com fermento comercial e com diferentes concentrações de fermento natural. 55
- Tabela 6. Avaliação sensorial por ordenação de preferência quanto a maciez e sabor dos pães isentos de glúten desenvolvidos com fermento comercial e com diferentes concentrações de fermento natural..... 56

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A – FLUXOGRAMA DE DESENVOLVIMENTO DO FERMENTO NATURAL A PARTIR DA FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA DE FARINHA DE ARROZ.	74
APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	75
APÊNDICE C – INSTRUMENTO PARA AVALIAÇÃO SENSORIAL.....	77
APÊNDICE D – INSTRUMENTO PARA AVALIAÇÃO SENSORIAL	78

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A – NORMAS PARA FORMATAÇÃO E SUBMISSÃO DA REVISTA ACTA SCIENTIARUM TECHNOLOGY.....	79
ANEXO B – NORMAS PARA FORMATAÇÃO E SUBMISSÃO DA REVISTA FOOD SCIENSE TECHNOLOGY	82

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a*	Variação entre a cor vermelha (+a*) e a cor verde (-a*)
ACELBRA	Associação dos celíacos do Brasil
ANOVA	Análise de variância
Aw	Atividade de água
b*	Variação entre a cor amarela (+b*) e a cor azul (-b*)
BAL	Bactérias ácido lácticas
DC	Doença celíaca
FC	Pão isento de glúten desenvolvido com fermento comercial
FN10	Pão isento de glúten desenvolvido com 10% de fermento natural
FN20	Pão isento de glúten desenvolvido com 20% de fermento natural
FN30	Pão isento de glúten desenvolvido com 30% de fermento natural
L*	Luminosidade, variando de 0 (preto) até 100 (branco)
LEV	Bolores e leveduras
UFC	Unidade formadora de colônias

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
3	REVISÃO DA LITERATURA	18
3.1	DOENÇA CELÍACA.....	18
3.2	GLÚTEN	19
3.3	PANIFICADOS ISENTOS DE GLÚTEN.....	20
3.4	FERMENTO NATURAL.....	22
4	MANUSCRITOS CIENTÍFICOS.....	26
4.1	MANUSCRITO1 - PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DE PÃO ISENTO DE GLÚTEN DESENVOLVIDO COM FERMENTO NATURAL DE FARINHA DE ARROZ	28
4.2	MANUSCRITO2 - EFEITO DA FERMENTAÇÃO NATURAL NA VIDA DE PRATELEIRA E NA RESPOSTA SENSORIAL DE PÃES ISENTOS DE GLÚTEN.....	40
5	DISCUSSÃO GERAL	63
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	67
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
	APÊNDICES	74
	ANEXOS	79

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A busca por produtos isentos de glúten tem aumentado nos últimos anos, principalmente por pão. Esse crescimento no consumo se justifica pelo aumento no número de pessoas com doença celíaca ou com distúrbios relacionados ao glúten, como dermatite herpetiforme, ataxia de glúten, alergia ao trigo e sensibilidade ao glúten não celíaco, ou ainda, pessoas que optam por seguir uma dieta isenta de glúten por estilo de vida (SAPONE et al., 2011). Uma dieta isenta de glúten é o único tratamento efetivo para todos os distúrbios relacionados ao glúten, já que com uma reexposição a doença é reativada.

O glúten, proteína presente no trigo, possui características viscoelásticas únicas, sendo responsável pela retenção de água no miolo do produto panificado e ainda, pelo aprisionamento do dióxido de carbono oriundo do processo fermentativo. Assim, o glúten é de fundamental importância para a aparência global e propriedades de textura de produtos panificados desenvolvidos principalmente com farinha de trigo (KHAN; NYGARD, 2006).

A panificação isenta de glúten tem alcançado inúmeras melhorias nos últimos anos, no entanto, panificar sem glúten ainda tem sido um desafio para o seguimento, uma vez que a maioria dos pães isentos de glúten é caracterizada por possuírem pouco sabor, baixo volume e vida de prateleira curta. Muitas destas características estão sendo minimizadas pelo uso de uma gama de aditivos, incluindo proteínas, hidrocolóides e enzimas, que melhoram a qualidade dos panificados. Em contrapartida, a inserção destes aditivos eleva o custo de produção, inviabilizando a dieta para muitos consumidores, e ainda, podem conferir sabores que descaracterizam o produto final (CAPRILES e ARÊAS, 2011).

Segundo ROSELL e MATOS (2015) os pães isentos de glúten podem ser descritos como uma mistura de ingredientes alimentares refinados ou quimicamente aditivados que traduzem sabores artificiais e por vezes desagradáveis. Além disso, a crescente demanda por produtos com reduzida carga de conservantes e aditivos, muitas vezes, resulta na obtenção de produtos com reduzida vida de prateleira.

Sabidamente a fermentação natural desempenha um papel importante no desenvolvimento de pães tradicionais com glúten, sendo este um dos mais antigos processos biotecnológicos na produção de alimentos cerealíferos. Características como aumento do volume, devido à maior retenção do dióxido de carbono (ARENDRT; RYAN e DAL BELLO, 2007); melhoria na textura do pão, em função do miolo tornar-se mais macio (KATINA *et al.*, 2006); prolongamento da vida de prateleira do pão, ao gerar substâncias que previnem a

deterioração microbiana, como as bacteriocinas (ARENDR; RYAN e DAL BELLO, 2007; MORONI; DAL BELLO e ARENDR, 2009); elevação da qualidade nutricional, ao aumentar a biodisponibilidade mineral, em função da atividade da fitase, e pela redução do índice glicêmico, e ainda, melhoria no perfil sensorial (KATINA *et al.*, 2006). A maior parte dessas vantagens reológicas, nutricionais e sensoriais, bem como o prolongamento da vida de prateleira, deriva principalmente de atividades metabólicas microbianas, como fermentação, proteólise, síntese de compostos voláteis e atividade antifúngica (PLESSAS *et al.*, 2011; HAMMES e GÄNZLE, 1998). Na panificação isenta de glúten, alguns destes efeitos já foram descritos quando o fermento natural foi utilizado (APONTE *et al.*, 2013; ARENDR; RYAN e DAL BELLO, 2007; KATINA *et al.*, 2005). No entanto, ainda existe a necessidade do desenvolvimento de um fermento natural que propicie um maior número de benefícios em conjunto, para obtenção de um pão isento de glúten com as características almeçadas pelo consumidor.

O desenvolvimento de um fermento natural se baseia em uma mistura de farinha e água fermentada por bactérias ácidas lácticas e leveduras presentes naturalmente na farinha e/ou no ambiente ou ainda por culturas *starters* adicionados a essa mistura (APONTE *et al.*, 2013; MORONI; DAL BELLO e ARENDR, 2009). Pretende-se com a utilização da fermentação natural no fabrico de pães isentos de glúten reduzir a necessidade da utilização de aditivos caros, fato que reduziria o custo final do produto, facilitando o acesso e a qualidade de vida dos consumidores.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver pães isentos de glúten utilizando a fermentação natural para melhoria nas características tecnológicas e sensoriais e na vida de prateleira.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Elaborar fermento natural isento de glúten, utilizando farinha de arroz;
- Avaliar os parâmetros físico-químicos (pH e acidez titulável) e microbiológicos (contagem de bactérias ácido lácticas e bolores e leveduras) durante a fabricação do fermento natural;
- Desenvolver formulações de pães isentos de glúten utilizando diferentes concentrações de fermento natural (10, 20 e 30%) como agente fermentador;
- Avaliar o volume específico e a cor da crosta e do miolo dos pães isentos de glúten logo após o resfriamento dos mesmos;
- Avaliar a vida de prateleira dos pães isentos de glúten ao longo de 5 dias de estocagem através da análise de textura (firmeza do miolo) e análises microbiológicas (microrganismos aeróbios mesófilos e bolores e leveduras) e ainda, atividade de água e umidade do miolo.
- Realizar análises microbiológicas nos pães, previstas na legislação vigente, para detecção de Coliformes a 45°C, *Bacillus cereus* e *Salmonella sp.*;
- Avaliar os pães isentos de glúten através dos testes sensoriais afetivo de aceitação e intenção de compra e afetivo de ordenação de preferência.

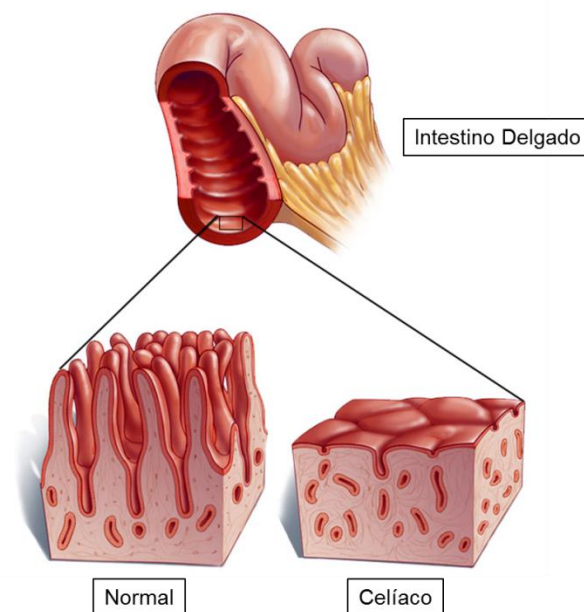
REVISÃO DA LITERATURA

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 DOENÇA CELÍACA

A doença celíaca ou enteropatia por glúten se traduz como uma doença autoimune, na qual os indivíduos predispostos apresentam uma intolerância às proteínas presentes em alguns cereais, tais como trigo, cevada e centeio que provoca uma perda das vilosidades intestinais, levando a uma absorção de nutrientes reduzida (SHAN *et al.*, 2002). Essa doença provoca uma reação inflamatória ao intestino delgado, desencadeada pela exposição ao glúten, e que pode levar a uma redução ou até destruição das vilosidades do intestino (Figura 1). Dessa forma, o indivíduo portador passa a ter sérias dificuldades na absorção de nutrientes, como o ferro, cálcio e vitaminas (BOTERO-LÓPEZ *et al.*, 2011; JNAWALI; KUMAR e TANWAR, 2016).

Figura 1 - Aspecto da mucosa de um intestino delgado normal e outro portador da doença celíaca.



Fonte: <http://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/celiac-disease/multimedia/celiac-disease/img-20008072>

A doença celíaca é considerada a intolerância alimentar mais comum da atualidade. Recentemente estudos mostram que 1% da população mundial sofre deste distúrbio (STEPNIAK e KONING, 2006; GUJRAL; FREEMAN e THOMSON, 2012).

Geralmente diagnosticada na primeira infância, a doença celíaca apresenta sintomas como diarreia e déficit de crescimento. No entanto, os sintomas também podem se

desenvolver tardiamente, quando além da diarreia podem estar presentes: fadiga, perda de peso e anemia, sendo essa devido à má absorção de nutrientes (VILPPULA *et al.*, 2011). Em função das novas e avançadas tecnologias tem aumentado o número de diagnósticos tanto para doença celíaca como para outros desequilíbrios correlacionados (FOSCHIA *et al.*, 2016), dentre eles a alergia ao glúten, dermatite herpetiforme, sensibilidade ao glúten não celíaco e ataxia ao glúten. O único tratamento para todos esses "transtornos relacionados ao glúten" é uma adesão permanente e rigorosa ao longo da vida a uma dieta livre de glúten. Contudo, uma reexposição ao glúten reativa a doença, mesmo após muitos anos sem sintomas (WIESER; KOEHLER e KONITZER, 2014)

Algumas das barreiras que os portadores da doença celíaca enfrentam para manutenção da dieta são a falta de produtos panificados isentos de glúten, a má qualidade (cor pálida, textura farelenta e pobre em sabor) e o alto custo dos disponíveis no mercado (ARENDRT *et al.*, 2008). Ainda, necessitam de uma vigia constante frente aos produtos que consomem e sofrem de exclusão social, particularmente em situações como confraternizações coletivas e restaurantes (SIMSEK *et al.*, 2015) ou devido à baixa oferta de produtos dessa natureza (JNAWALI; KUMAR e ANWAR, 2016). Assim, a melhoria da qualidade e aumento na oferta de produtos panificados isentos de glúten é um desafio tecnológico aos pesquisadores deste segmento. Visto que, de um lado, se busca a redução da existência de qualquer condição geradora da doença e de outro, se origina produtos com baixa qualidade (NAQASH *et al.* 2017).

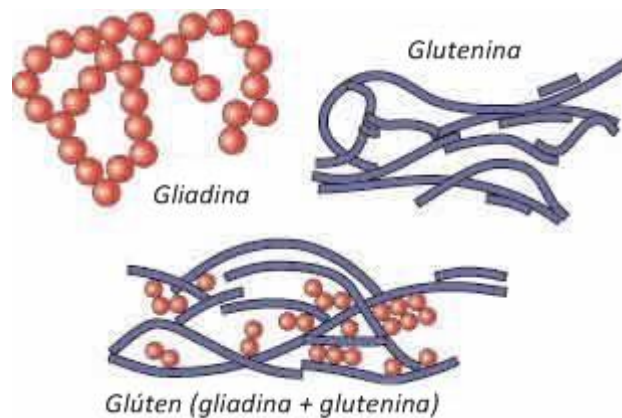
3.2 GLÚTEN

O glúten é um complexo proteico insolúvel, formado por duas proteínas: uma pertencente ao grupo das prolaminas e a outra das gluteninas, ambas insolúveis em água. As prolaminas são subclassificadas em: gliadina, no trigo; avelina, na aveia; secalina, no centeio e hordeína, na cevada; já a glutenina está presente em todos os cereais citados. Dessa forma, o glúten do trigo se traduz na união da gliadina (responsável pela extensibilidade da massa) e da glutenina (responsável pela elasticidade da massa), que ao entrarem em contato com a água inflam e se atraem, dando origem à uma massa coesa chamada glúten (SUAS, 2012).

Quando submetido ao amasse mecânico o glúten se organiza formando uma estrutura de rede tridimensional (Figura 2) capaz de aprisionar o dióxido de carbono produzido pelo fermento em massas levedadas. Em função de suas propriedades únicas de extensibilidade e elasticidade essa rede no decorrer do processo fermentativo viabiliza que o produto panificado

tome corpo e volume. Por essa razão é tão delicado e trabalhoso o desenvolvimento de produtos isentos de glúten com qualidade similar àqueles que possuem esse complexo proteico.

Figura 2 - Imagem representativa das proteínas presentes na farinha de trigo e da rede formada por elas.



Fonte: <https://lafond.com.br/2013/06/03/a-magica-do-gluten/>

3.3 PANIFICADOS ISENTOS DE GLÚTEN

Diversos ingredientes são utilizados em formulações de pães para fornecer as características desejadas ao produto acabado. Antigamente, apenas dois ingredientes eram necessários para fazer um pão palatável: farinha de trigo e água. Com tempo, o homem descobriu que o sal e o fermento adicionam sabor e leveza a seu pão. E hoje, vários outros ingredientes são adicionados para atender as demandas do consumidor atual, como: maior vida de prateleira, melhor sabor, textura mais suave e outras e características sensoriais peculiares a determinada região ou cultura (PLESSAS *et al.*, 2005).

Em função do aumento nos casos de doença celíaca, associado ao progresso no diagnóstico da doença e demais transtornos associados ao glúten, o consumo de panificados isento de glúten tem aumentado nos últimos tempos. Além disso, tendências de mercado tais como, mudanças de hábitos alimentares em busca de saúde e benefícios estéticos tem elevado a procura por alimentos isento de glúten principalmente de pães (HOUBEN; HOCHSTOTTER e BECKER, 2012).

Para satisfazer essa demanda por produtos panificados de alta qualidade, os pães devem apresentar características semelhantes ao do pão de farinha de trigo (O'SHEA; ARENDT e GALLAGHER; 2014). Pães isentos de glúten estão associados a produtos de baixa qualidade que possuem sabor pobre, miolo quebradiço e sensação farelenta na boca,

além de estarem associados com o endurecimento rápido (MASURE; FIERENS e DELCOUR, 2016). Dessa forma, desenvolver pães isentos de glúten com alta qualidade é um grande desafio, devido à ausência do glúten, responsável pelas propriedades viscoelásticas que conferem forma e volume ao pão. Por isso, o desenvolvimento de pão isento de glúten exige a utilização de diversos ingredientes e aditivos que simulem o efeito do glúten e aumentem a qualidade do produto obtido.

Segundo HOUBEN; HÖCHSTÖTTER e BECKER (2012) a melhor maneira de produzir um pão isento de glúten com características próximas ao desenvolvido com farinha de trigo é fazer uso de uma combinação de ingredientes.

Segundo a Organização Mundial da Saúde e a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura, produtos isentos de glúten são: I) fabricados apenas por ingredientes que não contenham prolaminas de trigo ou de todas as espécies *Triticum*, como o trigo de espelta, kamut ou trigo duro, centeio, cevada, aveia ou suas variedades cruzadas com um teor de glúten não superior a 20 g/Kg; II) constituídos de trigo, centeio, cevada, aveia, espelta e suas variedades mistas, que tenham sido desglutinizadas, com um teor de glúten não superior a 200 g/Kg; e III) qualquer mistura de (I) e (II) com níveis de glúten que não excedam 200 g/Kg (GALLAGHER; GORMLEY e ARENDT, 2004).

Dentre os ingredientes utilizados para panificar isento de glúten estão as farinhas isentas de glúten (arroz, milho, sorgo), pseudocereais (quinoa, amaranto, trigo sarraceno), farinhas de leguminosas (soja, grão de bico), amidos (milho, batata, mandioca), além dos aditivos utilizados para simular o efeito do glúten, tais como hidrocolóides, gomas e emulsificantes, que auxiliam na formação de uma estrutura, devido ao seu potencial para formar uma rede polimérica tridimensional em soluções aquosas, capaz de aprisionar o dióxido de carbono oriundo da fermentação e aumentar a qualidade tecnológica do pão (BEMILLER, 2008; DEMIRKESEN; SUMNU e SAHIN, 2013). Essa qualidade tecnológica pode ser traduzida como um pão com bom volume, textura interna macia e miolo com alvéolos regulares (KALANTY, 2012).

Além destes ingredientes e aditivos, a adição de proteínas, por exemplo, leite e ovos, demonstra uma melhora significativa para a qualidade de panificados isentos de glúten. Ingredientes lácteos podem ser utilizados com apelo nutricional, em função de aumentarem o teor de cálcio e proteínas do produto, e melhorarem as características sensoriais, como: sabor, cor e textura, e ainda, estenderem a vida de prateleira (KENNY *et al.*, 2001). No entanto, a utilização de proteínas do leite e do ovo possuem limitações, já que, pacientes com doença

celíaca comumente são intolerantes à lactose (OJETTI *et al.*, 2005) e apresentam reações alérgicas ao ovo, sendo que ambos estão entre as causas mais frequentes em alergias alimentares (POULSEN *et al.*, 2001).

A utilização de enzimas para melhorar a qualidade de pão isento de glúten também tem sido objeto de estudo, pois são adicionadas como forma de melhorar a estrutura interna e o volume específico desse tipo de pão (GUJRAL; FREEMAN e THOMSON, 2012). Todavia, a incorporação de diferentes aditivos para elaboração de pão isento de glúten apresenta algumas desvantagens. Dentre elas, a elevação no custo de produção, o que torna o produto inacessível a muitos consumidores e ainda, não contemplam o desejo dos consumidores que buscam produtos com rótulos mais limpos (MORONI; DAL BELLO e ARENDT, 2009).

3.4 FERMENTO NATURAL

Recentemente, as novas demandas dos consumidores surgiram para produtos alimentares com valor nutricional melhorado ou benefícios para a saúde, apresentando novos desafios também para a indústria de panificação, principalmente para panificados isento de glúten.

Assim, um mercado em crescente ascensão surge para novos produtos panificados produzidos com cereais alternativos como arroz, milho, sorgo e milheto, ou pseudocereais como o trigo mourisco, amaranto e quinoa e féculas, como a de batata e de mandioca. Estes cereais não contêm glúten, o agente causador da doença celíaca e de tantos outros transtornos causados por esse complexo proteico. No entanto, o uso de tais farinhas alternativas é restrito, em função de proporcionarem produtos panificados com baixa qualidade sensorial (GALLAGHE; GORMLEY e ARENDT, 2003). Por isso, em virtude da superior qualidade sensorial e da vida de prateleira prolongada dos produtos panificados resultantes, a fermentação natural têm demonstrado sua importância na panificação moderna (STOLZ *et al.*, 1995; VOGELMANN *et al.*, 2009). Assim, a fermentação natural de tais farinhas isento de glúten pode melhorar as qualidades sensoriais e nutricionais desse nicho de mercado.

Fermento natural consiste de uma mistura de farinha e água fermentada por leveduras e bactérias ácido lácticas (VUYST e NEYSENS, 2005; CORSETTI e SETTANNI, 2007; VUYST e VANCANNEYT, 2007; VUYST *et al.*, 2009). Também chamado de *Levain* ou *sourdough*, essa mistura utiliza os microrganismos naturalmente presentes no ambiente, na água e na farinha ou que são inoculados como culturas de arranque. Esses microrganismos são

capazes de formar uma simbiose entre leveduras e lactobacilos e assim metabolizar diversos compostos, que dão origem à uma fermentação alcoólica e láctica.

Em síntese, as leveduras atuam principalmente como agentes de fermentação, enquanto as bactérias ácido lácticas contribuem para os compostos responsáveis pelo aroma e sabor.

Segundo QUAGLIA (1991), a etapa mais importante da panificação é a fermentação, sendo esta que definirá a consistência, a aeração e a leveza da massa. Este processo depende basicamente da ação das leveduras do gênero *Sacharomyces cerevisiae*, que decompõe os açúcares disponíveis na massa em álcool e gás carbônico, sendo este último o responsável por seu crescimento.

As bactérias ácido lácticas há muito atuam na fermentação cerealífera, principalmente no desenvolvimento de produtos panificados, por sua capacidade de produzir metabólitos, como exopolissacarídeos e enzimas (GOBBETTI *et al.*, 2005). São amplamente utilizadas na indústria de alimentos, pois atuam como *starters* ou como produtoras de diversas moléculas bioativas, como bacteriocinas, ácidos orgânicos, ácidos graxos e peróxido de hidrogênio (HASSAN e BULLERMAN, 2008).

Todos esses metabólitos e moléculas geradas, tanto pelas leveduras quanto pelas bactérias ácido lácticas, fazem da fermentação natural uma das biotecnologias de alimentos mais antigas, amplamente estudada por seus efeitos sobre as características sensoriais, estruturais, nutricionais e da vida de prateleira de produtos panificados tradicionais com glúten. No entanto, os panificados isento de glúten são hoje os mais necessitados desses benefícios, visto que são panificados geralmente de baixa qualidade sensorial e valor nutricional deficiente.

Os primeiros fermentos de farinha de arroz já estão no mercado, mas são fermentadas pela aplicação de culturas starter de trigo e centeio. MEROTH; HAMMES e HERTEL (2004) demonstraram que, durante a fermentação dos carboidratos do arroz, as espécies de bactérias ácido lácticas e de leveduras são específicas desse substrato, sendo diferentes da microbiota comum para fermentos naturais de trigo e centeio, amplamente explorada na panificação tradicional.

A microbiota do fermento natural constitui-se de um sistema complexo, visto que, abriga uma diversidade de microrganismos, na qual a abundância e o número de espécies presentes estão intimamente relacionados com o cereal (farinha) utilizado como fonte de carboidrato, as condições internas (como pH e composição microbiológica) e as condições

externas (como a temperatura e higiene do ambiente). E ainda, parâmetros como adição de sal, tempo de fermentação, número de “refrescos” dados ao fermento e a atividade de água, já que, fermentos com maior atividade de água favorecem o crescimento de bactérias ácido lácticas e com menor o crescimento de leveduras (VUYST e NEYSENS, 2005). Dessa forma, a seleção da diversidade microbiológica do fermento se dará em função da combinação destes parâmetros, muitos deles sendo decisivos ao impedimento no crescimento de microrganismos indesejáveis.

HAMMES e GÄNZLE (1998) descreveram os fatores endógenos e exógenos que afetam a microbiota do fermento natural. Os fatores endógenos contemplam a composição do cereal (fonte de amido) utilizado, como carboidratos fermentescíveis, fontes de Nitrogênio, minerais, vitaminas, lipídios, atividades enzimáticas, e a microbiota original dos grãos. Já os fatores exógenos são os parâmetros aplicados no processo, tais como: temperatura, oxigênio, quantidade de massa para refresco, adição de cloreto de sódio, tempo de fermentação, número de passos de propagação e as culturas *starters* utilizadas, quando for o caso.

Os fermentos tipo I são caracterizados por temperaturas de fermentação abaixo de 30°C e por refrescos regulares (a cada 24 horas) para manter os microrganismos permanentemente ativos (BRANDT, 2007). É utilizado tanto para acidificação quanto para fermentação da massa, sendo neste último caso a levedura de padeiro dispensável. A microbiota é constituída por leveduras e bactérias ácido lácticas (BAL), que poderão se manter ativos durante muitos anos, desde que essa massa seja refrescada para manter seus parâmetros constantes.

Os fermentos tipo II são usados principalmente como acidificantes para massa de pão e, portanto, são caracterizados por temperaturas de processo acima de 30°C, às vezes acima de 40°C, além de apresentarem um rendimento de massa e períodos de fermentação longos (até 5 dias) (STOLZ *et al.*, 1995).

Já os fermentos tipo III são massas secas/liofilizadas (principalmente tipo II) que são usadas como acidificantes de massa, portadores de aromas ou como fermentos para fermentação em padarias. A microbiota consiste principalmente em BAL que são resistentes à secagem e armazenamento. As leveduras raramente são encontradas, em função das altas temperaturas de fermentação. Os ácidos orgânicos produzidos pelas BAL, especialmente ácido láctico e ácido acético, são responsáveis pela redução do pH, influenciam o sabor do pão e reduzem a deterioração causada por bactérias e bolores. MOORE; DAL BELLO e ARENDT (2008) também relataram atividade antifúngica de uma linhagem de *L. plantarum* e

RYAN *et al.* (2011) de uma estirpe de *L. amylovorus*. A proteção contra micotoxinas também é reportada para estirpes BAL (EL-NEZAMI *et al.*, 2002; FUCHS *et al.*, 2008; PIOTROWSKA e ZAKOWSKA, 2005). Além disso, os aminoácidos e péptidos são gerados pela atividade proteolítica de BAL e leveduras bem como por enzimas de cereais presentes na farinha (HAMMES e VOGEL, 1995; THIELE; GÄNZLE e VOGEL, 2002). THIELE; GÄNZLE e VOGEL (2003) mostraram que a proteólise na massa é causada principalmente por enzimas de cereais e apenas em pequena parte por atividades proteolíticas de BAL e leveduras pelo baixo pH. Especialmente os aminoácidos ornitina, leucina, fenilalanina e metionina atuam como precursores de aroma característico para o sabor dos pães (SCHIEBERLE, 1996). CZERNY e SCHIEBERLE (2002) relataram que diferentes espécies de BAL e leveduras produzem concentrações específicas de compostos aromáticos e precursores aromáticos, de modo que o sabor do pão depende da microbiota presente no processo fermentativo.

Quanto mais firme for o fermento natural desenvolvido, mais ácido acético será produzido e menos ácido láctico. Assim, possuirá uma acidez acentuada, sendo imediatamente identificado. Do contrário, quanto mais líquido o fermento, maior a produção de ácido láctico, que por ser mais suave colabora de maneira menos agressiva ao sabor do produto que dará origem (DECOCK e CAPPELLE, 2005).

A fermentação de cereais isentos de glúten é aplicada em todo o mundo. Especialmente arroz, milho, sorgo, milho e mandioca são fermentados para obtenção de uma enorme variedade de produtos, que muitas vezes constituem uma parte importante da dieta do povo, como a fermentação em grande escala do arroz para produção de saquê, bebida tradicional do Japão.

Estudos microbiológicos revelaram que o fermento natural possui mais de 50 espécies ativas, principalmente do gênero *Lactobacillus*, e mais de 20 espécies de leveduras, especialmente as dos gêneros *Saccharomyces* e *Candida*, formando associações estáveis, principalmente em função das interações metabólicas entre eles (VUYST e NEYSENS, 2005).

A continuidade e manutenção da microflora do fermento natural são asseguradas pelos consecutivos “refrescos” dados à massa mãe, sendo esses os responsáveis pela constante renovação do meio adequado aos microrganismos, permitindo assim que alguns fermentos se mantenham vivos por séculos (VUYST *et al.*, 2009).

4 MANUSCRITOS CIENTÍFICOS

4.1 MANUSCRITO1

PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DE PÃO ISENTO DE GLÚTEN DESENVOLVIDO COM FERMENTO NATURAL DE FARINHA DE ARROZ

*Artigo em fase final de revisão. Após as considerações da comissão examinadora, o artigo será traduzido para o inglês e submetido à revista *Acta Scientiarum Technology*. Configuração e formatação segundo as normas da revista (Anexo A).

1 **PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DE PÃO ISENTO DE GLÚTEN**
2 **DESENVOLVIDO COM FERMENTO NATURAL DE FARINHA DE ARROZ**

3

4 **Resumo**

5 O presente estudo buscou desenvolver pães isentos de glúten com fermento natural a
6 partir da fermentação espontânea de farinha de arroz, a fim de melhorar as características
7 tecnológicas desse tipo de pão. Foram monitorados os aspectos tecnológicos e
8 microbiológicos ao longo do processo de desenvolvimento do fermento. Após a estabilidade
9 da microbiota, o fermento foi utilizado como agente fermentativo em três diferentes
10 concentrações (10, 20 e 30g/100g de fonte amilácea) em uma formulação de pão isento de
11 glúten e comparadas ao controle desenvolvido com levedura comercial (*Saccharomyces*
12 *cerevisiae*). As características físico-químicas das massas (pH e acidez titulável, no início e no
13 final do processo fermentativo) e dos pães (volume e cor da crosta e do miolo) foram
14 determinadas. As massas com fermento natural apresentaram menor pH e maior acidez
15 titulável. Observou-se que o fermento natural foi eficiente para o desenvolvimento de pães
16 isentos de glúten, não havendo diferenças significativas nas características tecnológicas
17 avaliadas. Portanto, a utilização de fermentos naturais na produção de pães isentos de glúten
18 apresentam uma alternativa interessante para a indústria de panificação.

19

20 **PALAVRAS CHAVE:** leveduras; bactérias ácido lácticas; físico-químicas

21

22

23 **Introdução**

24 A busca por produtos isentos de glúten tem aumentado, principalmente por pão,
25 proporcionalmente ao aumento de pacientes celíacos ou de outros distúrbios relacionados ao
26 glúten. A doença celíaca trata-se de desordem sistêmica autoimune, desencadeada pela
27 ingestão de glúten. É caracterizada pela inflamação crônica da mucosa do intestino delgado
28 que pode resultar na atrofia das vilosidades intestinais, com conseqüente má absorção
29 intestinal e outras manifestações clínicas (Fasano, 2006; Green e Cellier, 2007; Fasano e
30 Catassi, 2012). Esta incompatibilidade ao glúten pode ser ocasionada por condições genéticas,
31 imunológicas ou ambientais, entre as ambientais se incluem a frequência e carga de consumo
32 do glúten.

33 As intervenções de tratamento se incluem uma dieta isenta de glúten e melhora da
34 permeabilidade intestinal, sendo que a ingestão de qualquer fração de glúten reativa os
35 sintomas, por ativar a Zonulina (ZON) que é uma proteína eucariótica e age como mediador
36 fisiológico nas junções intercelulares, também denominadas de “tight junctions” (TJ). Estas
37 são estruturas dinâmicas envolvidas no transporte de água e eletrólitos através do epitélio
38 intestinal, sendo o principal determinante da permeabilidade intestinal (Hollon *et al.*, 2015).
39 Dessa forma, portadores de qualquer transtorno relacionado ao glúten não toleram a ingestão
40 de frações de gliadina do trigo e as prolaminas de centeio, cevada e aveia. No entanto, o
41 glúten é o responsável pela retenção do gás oriundo da fermentação em produtos panificados,
42 permitindo a obtenção de volume e textura desejáveis nos produtos dessa natureza.

43 Os produtos isentos de glúten são conhecidos pelo sabor não apreciável, aparência
44 plana, textura farelenta e vida de prateleira curta. Em busca de melhoria nas características
45 sensoriais desses produtos, várias ações têm sido investigadas. Pesquisas evidenciam a
46 utilização favorável de aditivos em formulações de pães isentos de glúten, como por exemplo,
47 diferentes gomas e hidrocolóides, enzimas e fibras alimentares que buscam “imitar” o efeito
48 tecnológico do glúten. No entanto, apesar de muitos progressos terem sido alcançados, ainda
49 existem lacunas a serem preenchidas, como uma extensão na vida de prateleira sem a
50 utilização de aditivos. Esse fato vai ao encontro daqueles que buscam alimentos não
51 aditivados quimicamente, a chamada teoria dos “rótulos limpos”, que muitos consumidores
52 priorizam em suas dietas (Axel *et al.*, 2016).

53 O fermento natural, também conhecido por *levain* ou *sourdough*, que se trata de uma
54 combinação de farinha e água, fermentada por leveduras e bactérias ácidas lácticas que
55 convivem em simbiose, há tempos utilizado na panificação tradicional, tem tido seus

56 benefícios investigados também em panificados isentos de glúten (Ogunsakin *et al.*, 2017;
57 Marti *et al.*, 2017)). Algumas características como textura e sabor, além do valor nutricional de
58 pães isentos de glúten apresentaram melhorias consideráveis ao serem elaborados com este
59 tipo de fermento (Di Cagno *et al.*, 2002). Dentre essas melhorias estão a redução no uso de
60 aditivos caros e uma maior aceitação por parte dos consumidores (Moroni, Dal Belloand e
61 Arendt, 2009). Ainda, as propriedades tecnológicas dos pães isentos de glúten podem ser
62 beneficiadas pela produção dos exopolissacarídeos, que são polissacarídeos formados pelo
63 processo fermentativo do fermento natural e potencialmente podem substituir ou reduzir o uso
64 de hidrocolóides (Galleet *et al.*, 2012).

65 Nesse contexto, esse estudo teve como objetivo desenvolver pães isentos de glúten
66 com fermento natural obtido pela fermentação espontânea de farinha de arroz, na busca de
67 melhorias nas características tecnológicas desse tipo de pão.

68 **Material e Métodos**

69 **Matéria-prima**

70 As farinhas, féculas e amidos, bem como todos os demais ingredientes utilizados,
71 foram adquiridos no comércio local (Santa Maria, RS, Brasil).

72 A farinha de arroz, utilizada no desenvolvimento do fermento natural foi porcionada
73 em embalagens individuais e foram conservadas em freezer (-20°C) com o intuito de retardar
74 as reações enzimáticas e manter as características microbiológicas durante o desenvolvimento
75 da pesquisa.

76 A composição centesimal (Lutz, 2008) da farinha de arroz foi determinada assim
77 como a contagem de bactérias ácido lácticas (BAL) e de bolores e leveduras (LEV). A
78 contagem de BAL foi realizada com ágar MRS e as placas incubadas em condições de
79 anaerobiose durante 48 horas a 30°C (Rizzello *et al.*, 2016), e a contagem de LEV, foi
80 utilizado ágar batata dextrose acidificado com solução de ácido tartárico a 10% até pH 3.
81 Após a semeadura por espalhamento, as placas foram incubadas por 24 a 72 horas a 25°C
82 (CODA *et al.*, 2011).

83 **Preparação do fermento natural por fermentação espontânea**

84 O fermento natural foi desenvolvido utilizando farinha de arroz como fonte de amido
85 através de fermentação espontânea, conforme metodologia modificada de Minervini *et al.*

86 (2012). Foi misturado 50g de farinha de arroz com 50g de água e deixado fermentar
87 espontaneamente em um copo de Becker, previamente esterilizado, por 3 dias (72 horas) a 25
88 °C (FI). Em seguida foi realizada a primeira mistura com a adição de 100 % da fermentação
89 inicial (FI), 100 % de farinha de arroz, 100 % de água e 1% de sal (cloreto de sódio),
90 permanecendo por 24 horas a temperatura ambiente (aproximadamente 28 °C) originando o
91 pré-fermento. Seguindo intervalos de 24 horas, foram realizadas misturas, usando 50 % do
92 pré-fermento, 100 % de farinha de arroz, 100 % de água e 1% de sal, até se estabelecer uma
93 microbiota estável, sendo esse o fermento maduro. O fermento obtido foi mantido durante um
94 ano sob refrigeração e alimentado semanalmente. Retirava-se 50% do lote anterior e a essa
95 porção adicionava-se 50g de farinha de arroz, 50mL de água e 1g de sal, sendo esse
96 denominado o refresco do fermento. Após cada refresco a massa era deixada durante 8 horas a
97 temperatura ambiente para depois ser encaminhada ao refrigerador.

98 **Determinação do pH e da acidez titulável e análises microbiológicas no fermento natural**

99 Durante o desenvolvimento do fermento natural, nos dias 1, 3, 5, 7, 9 e 11, amostras
100 de 10g do fermento maduro eram retiradas antes do refresco e dissolvidas em 90 mL de água
101 destilada para determinação da acidez titulável e do pH. A acidez titulável (ATT) determinada
102 com 0,1N de NaOH e expressa em mL 0,1N NaOH/ 100 g (Lutz, 2008) e a análise de pH
103 realizada com potenciômetro digital (Digimed ® , DM 20, SP, Brasil).

104 Foram realizadas as contagens de bolores e leveduras (Coda *et al.*, 2011) e de
105 bactérias ácido lácticas (Rizzello *et al.*, 2016) nos dias 1, 3, 5, 7, 9 e 11 de desenvolvimento do
106 fermento.

107 **Desenvolvimento da formulação de pão isento de glúten**

108 Para otimizar a formulação base foram realizados pré-testes com intuito de equilibrar
109 os ingredientes e obter melhores respostas tecnológicas e sensoriais. A otimização foi baseada
110 nos melhores efeitos para volume específico, firmeza do miolo e aparência global.
111 Posteriormente, foram aplicadas as dosagens de fermento natural (10, 20 e 30%) e a de
112 fermento comercial seco (1%), sendo esses percentuais calculados sobre o total de farinhas
113 utilizadas e obtendo-se quatro tratamentos. Em virtude de o fermento natural apresentar em
114 sua composição 50% de farinha de arroz e 50% de água, esses percentuais foram suprimidos
115 proporcionalmente na formulação final do pão proporcional a quantidade de fermento. As
116 formulações utilizadas estão apresentadas na Tabela 1.

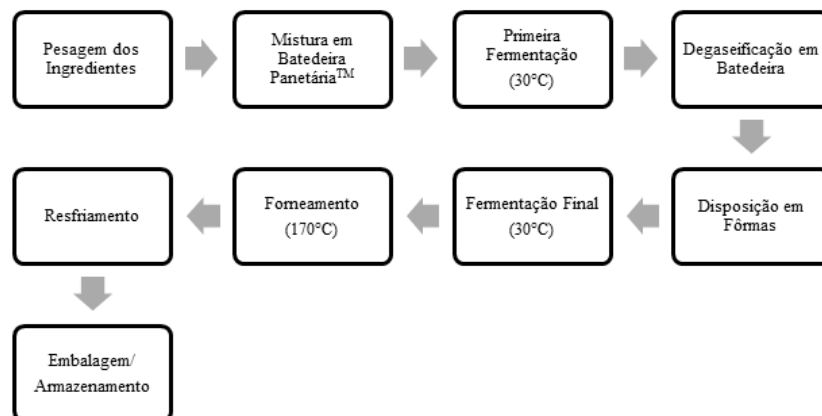
117

118 Tabela 1. Formulações utilizadas para a produção de pães isentos de glúten, utilizando
 119 fermento natural (10, 20 e 30%) e fermento comercial.

INGREDIENTES (g/100g de base amilácea)	QUANTIDADE (%)			
	FC	FN10	FN20	FN30
Farinha de arroz	37,5	33,5	29,5	25,5
Fécula de batata	37,5	37,5	37,5	37,5
Polvilho doce	25	25	25	25
Água	75	69	63	57
Açúcar	5	5	5	5
Sal	1,5	1,5	1,5	1,5
Ovo	25	25	25	25
Manteiga	5	5	5	5
Goma xantana	1	1	1	1
Fermento comercial seco	1	-	-	-
Fermento natural	-	10	20	30

120 FC (Controle) = formulação desenvolvida com fermento comercial seco; FN10 =
 121 formulação desenvolvida com fermento natural numa concentração de 10g por
 122 100g de base amilácea; FN20 = formulação desenvolvida com fermento natural
 123 numa concentração de 20g por 100g de base amilácea; FN30 = formulação
 124 desenvolvida com fermento natural numa concentração de 30g por 100g de base
 125 amilácea.

126 Os pães foram elaborados seguindo as boas práticas de fabricação através do método
 127 direto de mistura, que consiste na mistura de todos os ingredientes em uma única etapa até
 128 obtenção de massa homogênea, cremosa e lisa, similar à de um bolo, conforme Figura 1.



129

130 Figura 1. Fluxograma de preparo dos pães isentos de glúten com fermento natural e com
 131 fermento comercial através do método direto de mistura.

132 **Caracterização dos pães isentos de glúten**

133 Imediatamente após a finalização do preparo das massas (t_0) e no tempo final (t_f) de
134 fermentação foram retiradas 10g das amostras dos quatro tratamentos e dissolvidas em 10 mL
135 de água destilada para análise de pH (potenciômetro Digimed®, DM 20, SP, Brasil) e
136 acidez titulável (ATT). A acidez foi determinada com 0,1N de NaOH e expressa em
137 mLNaOH 0,1N / 100 g (Lutz, 2008).

138 Os pães foram pesados antes do forneamento e após 1 hora, quando resfriados, para
139 análise de perda de peso (%) e determinação de volume específico (mL.g^{-1}). Seus volumes
140 foram avaliados pelo método de deslocamento de sementes de painço (Método AACC 10-
141 05.01, AACC, 2000). O resultado da razão entre o volume das sementes deslocadas e o peso
142 dos pães após o forneamento foi expresso em volume específico (mL.g^{-1}) (Método Padrão
143 Oficial 44-15A, AACC, 2000).

144 A cor da crosta e do miolo dos pães foi determinada utilizando colorímetro Minolta
145 Chroma Meter (CM600, Konica Minolta, Osaka, Japão), ajustado para operar com D65 de luz
146 e 10° de ângulo de observação. A escala de cor CIELAB foi usada para medir os parâmetros
147 L^* , a^* e b^* .

148 **Análise estatística**

149 O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo cada determinação
150 realizada em triplicata e os resultados expressos como média (\pm desvio-padrão) sendo
151 submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas entre si através do teste
152 de Tukey, considerando o nível de significância de 95% ($p < 0,05$). Os resultados foram
153 analisados através do programa SPSS Statistics 20.0.

154 **Resultados e Discussão**

155 **Desenvolvimento do fermento natural por fermentação espontânea**

156 A farinha de arroz utilizada neste estudo apresentou em sua composição centesimal
157 uma umidade de 11,46% ($\pm 0,15$); teor de cinzas da matéria seca 0,82% ($\pm 0,03$); proteínas
158 10,34% ($\pm 0,12$); fibra bruta 0,76% ($\pm 0,12$); extrato etéreo $1,41\% \pm (0,03)$ e carboidratos
159 75,21% ($\pm 0,22$). Além de uma carga microbiológica de bactérias ácido lácticas (BAL) de 3,8
160 ($\pm 0,12$) $\log \text{UFC.g}^{-1}$ e de leveduras (LEV) de 3,5 ($\pm 0,26$) $\log \text{UFC.g}^{-1}$.

161 O tipo de farinha, sua composição centesimal, as condições do processo, do ambiente
162 e de preparo do fermento, determinam a diversidade microbiológica e singularidade do
163 fermento obtido (Hammes *et al.*, 2005).

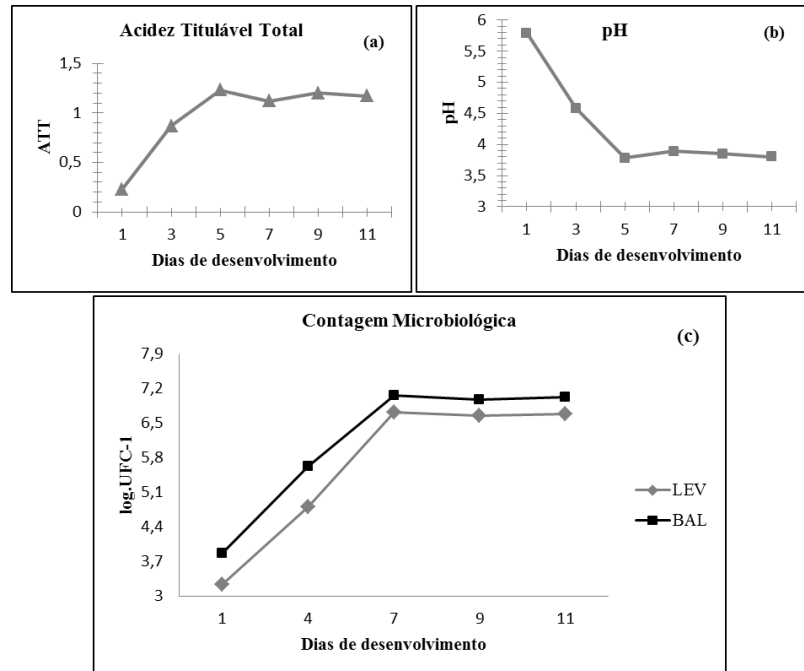
164 A conversão enzimática e atividade microbiológica dos componentes da farinha
165 afetam as características do fermento e posteriormente do pão. Várias características do
166 sistema se modificam ao longo do processo, onde LEV e BAL se desenvolvem gerando um
167 ecossistema específico e diretamente correlacionado com a matéria-prima que o originou. A
168 ação enzimática é a responsável pelo fornecimento de substratos para o crescimento
169 microbiano, através da transformação dos carboidratos em moléculas menores, como,
170 sacarose, maltose e glicose. Esses açúcares servem de combustível para os microrganismos
171 produzirem ácidos orgânicos, exopolissacarídeos e açúcares redutores que fornecerão
172 benefícios ao pão desenvolvido através da fermentação natural (Gobbetti *et al.*, 2016).

173 Em função principalmente do metabolismo das BAL e LEV que compõe o meio,
174 ácidos orgânicos são produzidos, sendo principalmente pelas BAL, enquanto as LEV
175 produzem dióxido de carbono e etanol (Gobbetti e Gänzle, 2007). Neste estudo observou-se
176 uma redução do pH do fermento de 5,8 para 3,8 e um aumento na acidez titulável (ATT) de
177 0,2 no primeiro dia de desenvolvimento para 1,1 no último dia (Figura 2a e 2b). Esses
178 resultados foram semelhantes aos obtidos por Paramithiotis; Tsiasiotou e Drosinos (2010) em
179 fermentos naturais oriundos da Grécia, o qual variou de 3,6 a 3,7. Já, a acidez titulável total
180 (ATT) foi inferior ao obtido pelos referidos autores.

181 Quanto ao crescimento de BAL, os valores ficaram entre 3,9 log UFC.g⁻¹ no primeiro
182 dia e 7,0 log UFC.g⁻¹ no décimo primeiro, enquanto que as LEV oscilaram entre 3,2 log
183 UFC.g⁻¹ e 6,7 log UFC.g⁻¹ (Figura 2c). Esses resultados corroboram com o estudo em
184 fermento natural de milho de Edema e Sanni (2008), no qual as contagens para de BAL
185 aumentou de 4,62 log UFC.g⁻¹ para 6,45 logUFC.g⁻¹ e a contagem de LEV aumentou de 4,18
186 log UFC.g⁻¹ para 6,64 log UFC.g⁻¹ no mesmo período.

187 O desenvolvimento do fermento poderia ter sido cessado no sétimo dia, já que a partir
188 desse período não houve diferença significativa nas contagens de LEV e BAL, o que
189 evidencia o estabelecimento da microbiota no produto. Dado relevante em virtude da redução
190 de custos com matéria-prima e maximização do tempo, que se tornam ainda mais importantes
191 se praticados em escala industrial.

192



193

194 Figura 2. pH (a) e acidez titulável (ATT) (b) a temperatura de 30°C e contagem
 195 microbiológica de bactérias ácido lácticas (BAL) e de leveduras (LEV) (c) durante o período
 196 de desenvolvimento do fermento natural.

197

198 **Caracterização dos pães isentos de glúten**

199

200 Segundo Corsetti (2013) fermentos naturais denominados Tipo I, os desenvolvidos por
 201 fermentação espontânea, ou seja, sem a inoculação de microrganismos específicos ou de
 202 culturas *starters*, são capazes de substituir o fermento comercial. Nesse estudo a levedura
 203 comercial foi substituída por três diferentes concentrações do fermento natural, as quais foram
 204 determinadas já nas características das massas dos pães, como os parâmetros pH e acidez
 205 titulável (ATT), Tabela 2, que foram determinados a fim de acompanhar a acidificação do
 206 meio ao longo do processo fermentativo de desenvolvimento das massas.

207

208

209

210

211

212

213

214

215 Tabela 2. Valores de pH e ATT das massas de pão isento de glúten com diferentes
 216 concentrações de fermento natural e com fermento comercial logo após a mistura dos
 217 ingredientes (t_0) e antes do forneamento (t_f).

TRATAMENTO	t_0		t_f	
	pH	ATT	pH	ATT
FC (Controle)	7,55±0,025 ^a	2,61±0,021 ^d	5,86±0,036 ^a	6,54±0,025 ^d
FN10	6,57±0,061 ^b	5,30±0,025 ^c	4,81±0,035 ^b	8,62±0,030 ^c
FN20	6,38±0,040 ^c	5,85±0,025 ^b	4,39±0,046 ^c	9,37±0,040 ^b
FN30	6,20±0,051 ^d	6,85±0,015 ^a	3,92±0,055 ^d	10,60±0,053 ^a

218 Resultados como média±desviopadrão^{a-c}. Letras diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam
 219 diferença significativa entre os tratamentos (Teste de Tukey, $P<0,05$). ATT expressa em mL de
 220 NaOH 0,1N/100g de amostra. FC = formulação com fermento comercial FN10 = formulação com
 221 10% de fermento natural; FN20 = formulação com 20% de fermento natural; FN30 = formulação
 222 com 30% de fermento natural. Todos os percentuais referem-se ao total de fonte amilácea utilizada
 223 na formulação.

224
 225 Ácidos orgânicos produzidos pelas BAL, especialmente ácido lático e ácido acético,
 226 são os responsáveis pela redução do pH nas massas dos pães, que influenciam diretamente no
 227 sabor do pão e ainda, reduzem a deterioração causada por fungos e bactérias (Gänzle,
 228 Loponen e Gobbetti, 2008). Os valores para pH e ATT encontrados neste estudo diferiram
 229 ($p<0,05$) entre si para todos os tratamentos e vão ao encontro do preconizado por Torrieri *et*
 230 *al.* (2014), que o aumento gradativo nas concentrações de fermento natural ocasionam uma
 231 proporcional redução nos valores de pH e aumento da ATT das massas.

232 Sanz-Penella, Tamayo-Ramos e Haros (2012) utilizaram *Bifidobacterium*
 233 *pseudocatenulatum* como *starter* para a fermentação natural e relataram que a massa
 234 fermentada com 20% deste *sourdough* produziu valores de ATT de 9,23 mL de NaOH
 235 0,1N/100g e pH de 4,57; valores semelhantes aos obtidos neste estudo.

236 Segundo Quaglia (1991), durante a fermentação as leveduras apresentam condições
 237 ótimas para o desenvolvimento com valores de pH em torno de 5,0. Quando esse parâmetro
 238 está acima de 6,0 a fermentação pode ficar prejudicada, sendo favorecida a produção
 239 excessiva de glicerina, ácido acético e álcool etílico. Como consequência, a qualidade
 240 sensorial, como sabor desagradável e volume reduzido, nos pães pode ser prejudicada,
 241 interferindo diretamente na textura do produto do produto final.

242 Os dados obtidos para volume específico (Tabela 3) demonstram que os pães
 243 produzidos com fermento comercial apresentaram volume específico maior ($p<0,05$) que os

244 desenvolvidos com fermento natural. Já, entre os pães produzidos com diferentes
 245 concentrações de fermento natural, não houve diferença ($p < 0,05$) entre os tratamentos.
 246 Contudo, essa diferença não foi percebida visualmente, demonstrando que as fatias dos quatro
 247 pães desenvolvidos apresentaram alturas e distribuição dos alvéolos semelhantes. Segundo
 248 Torrieri et al. (2014), em geral, a adição de fermento natural em pães de trigo segue a
 249 proporção entre 7,5 e 10%, sendo que uma maior acidez na massa, provocada pelo aumento
 250 na concentração de ácidos presentes no fermento, provoca uma diminuição no volume do pão.
 251

252 Tabela 3. Média dos valores de volume específico para os pães desenvolvidos com fermento
 253 comercial e diferentes concentrações de fermento natural.

TRATAMENTOS	VOLUME ESPECÍFICO ($\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$)
FC (Controle)	2,65±0,04 ^a
FN10	2,44±0,03 ^b
FN20	2,38±0,01 ^b
FN30	2,39±0,05 ^b

254 Resultados como média±desviopadrão^{a-c}. Letras diferentes sobrescritas na
 255 mesma coluna indicam diferença significativa entre os tratamentos (Teste de
 256 Tukey, $P < 0,05$).
 257

258 Os dados obtidos nesse estudo corroboram com o estudo de Sanz-Penella, Tamayo-
 259 Ramos e Haros (2012) que ao aplicar 20 % de fermento natural preparado com cultura, em
 260 pão desenvolvido com farinha de trigo, obteve um volume específico menor que o controle,
 261 desenvolvido com levedura comercial, e também com Collar, Martinez-Anaya e Debarber,
 262 (1994) que desenvolveram pães com menor volume ao utilizar de 15 a 20% de fermento
 263 natural, utilizando *L. plantarum* e *L. brevis* como *starters*.

264 Durante o processo de panificação inúmeras transformações físico-químicas e
 265 biológicas ocorrem, como a formação de CO_2 e consequente expansão do volume, a
 266 gelatinização do amido e a evaporação da água (Chhanwal e Anandharamakrishnan, 2014).
 267 Especificamente em pães com fermento natural, ocorrem alterações bioquímicas nos
 268 carboidratos e nas proteínas da farinha devido à ação das enzimas endógenas e microbianas
 269 (Rollán et al., 2005). Assim, essa redução no volume dos pães, com diferentes concentrações
 270 de fermento natural, pode ter sido causada pelo metabolismo homofermentativo das bactérias
 271 ácido lácticas presentes no fermento produzido, pois produzem apenas ácido láctico, reduzindo
 272 a produção de gás carbônico, responsável pelo crescimento da massa (Gobbetti et al., 2005).
 273 Os valores representativos para as análises de cor da crosta e do miolo nos quatro tratamentos

274 (Tabela 4) evidenciam que os pães desenvolvidos com fermento natural diferiram ($p < 0,05$)
275 para cor em relação às coordenadas L^* , a^* e b^* da crosta e a^* e b^* do miolo. Com relação aos
276 valores de L^* para crosta, quando mais altos traduzem pães com coloração mais clara (Esteller
277 e Silva, 2006).

278 Os pães com fermento natural necessitam de um tempo de fermentação mais longo
279 reduzindo assim o nível de açúcares residuais disponíveis para participar das reações de
280 escurecimento, Maillard e caramelização e também o baixo pH que prejudicam essas reações,
281 colaborando para pães com crosta mais clara, ou seja, com valores de L^* mais altos (Quaglia,
282 1991). O valor de a^* caracteriza o equilíbrio entre verde (negativo) e vermelho (positivo). A
283 amostra de controle apresentou o maior valor de a^* , que indica uma coloração mais escura na
284 crosta. Observou-se tendência semelhante para b^* , devido à prevalência de amarelo sobre o
285 azul. Altos valores de b^* são revelados para amostras com forte coloração amarelada, que
286 geralmente surge em pães ricos em proteínas, açúcares redutores e ovos (carotenóides)
287 (Esteller e Silva, 2006), sendo que foi obtido o mesmo valor no tratamento com levedura
288 comercial (FC) e com 20% de fermento natural (FN20), para tal coordenada. No entanto,
289 apesar das diferenças encontradas na cor dos pães, visualmente essas não são relevantes.

290 Tabela 2. Cor da crosta e do miolo dos pães isentos de glúten elaborados com fermento natural e fermento comercial.

TRATAMENTOS	CROSTA			MIOLO		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
FC (Controle)	59,1±0,82 ^b	14,73±0,57 ^a	38,84±0,82 ^a	68,07±1,02 ^a	1,37±0,18 ^b	30,26±1,37 ^b
FN10	62,21±0,46 ^a	13,02±0,66 ^{bc}	35,99±0,89 ^b	70,78±1,97 ^a	0,43±1,97 ^c	25,77±2,42 ^c
FN20	63,19±1,42 ^a	12,04±0,52 ^c	36,42±0,33 ^b	70,99±1,02 ^a	1,37±0,18 ^b	30,26±1,37 ^b
FN30	61,9±1,13 ^a	13,55±0,22 ^{ab}	39,24±0,85 ^a	69,59±2,13 ^a	2,06±0,19 ^a	35,56±0,81 ^a

291 ^{a,.....c}Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente ($p < 0,05$) pelo teste de tukey dentro da mesma coluna. FC = formulação desenvolvida
 292 com fermento comercial. FN10 = formulação com 10% de fermento natural; FN20 = formulação com 20% de fermento natural; FN30 = formulação com
 293 30% de fermento natural. Todos os percentuais referem-se ao total de fonte amilácea utilizada na formulação.

Os resultados estão de acordo com os obtidos por Komlenić *et al.* (2010) que observaram uma redução na luminosidade e aumento na tendência ao amarelo e ao vermelho no miolo ao desenvolver pães com fermento natural seco.

Segundo Pepe *et al.* (2003) as características de coloração do pão são proporcionais às condições em que foram fabricados, aos microrganismos participantes da acidificação e da proteólise, sendo que esses fatores podem afetar direta ou indiretamente a concentração de açúcares e aminoácidos que participam das reações de Maillard. Ainda, a redução do pH, provocada pela fermentação natural, induz a produção de compostos antioxidantes (Lindenmeier e Hofmann, 2004), que podem exercer um efeito significativo na cor da crosta, ou seja, este efeito se torna mais claro com o aumento da concentração de fermento natural adicionado à massa.

As reações de Maillard e de caramelização são aceleradas em função dos açúcares presentes nas formulações, sendo as principais razões para o escurecimento ao longo do processo de forneamento, tanto na crosta quanto no miolo dos pães (Esteller e Silva, 2006). No entanto, pães isentos de glúten, por apresentarem uma cor da crosta pálida, ainda são tidos como artificiais, em virtude de diferirem de seus análogos desenvolvidos com farinha de trigo (Gallagher, Gormley e Arendt, 2003).

Considerações Finais

Através deste estudo, foi possível desenvolver pães sem glúten com 10, 20 e 30% de fermento natural, obtido pela fermentação espontânea de farinha de arroz, em substituição ao uso de levedura comercial. Essa substituição não proporcionou melhorias no volume e na cor dos pães, sugerindo assim a continuidade das pesquisas, visto que, o fermento natural desenvolvido pode ser utilizado como uma ferramenta capaz de agregar sabor, melhorar o aroma e aumentar a vida de prateleira desse tipo de pão.

Referências

4.2 MANUSCRITO2

EFEITO DA FERMENTAÇÃO NATURAL NA VIDA DE PRATELEIRA E NA RESPOSTA SENSORIAL DE PÃES ISENTOS DE GLÚTEN

*Artigo em fase final de revisão. Após as considerações da comissão examinadora, o artigo será traduzido para o inglês e submetido à revista Food Science and Technology. Configuração e formatação segundo as normas da revista (Anexo B).

EFEITO DA FERMENTAÇÃO NATURAL NA VIDA DE PRATELEIRA E NA RESPOSTA SENSORIAL DE PÃES ISENTOS DE GLÚTEN

RESUMO

O objetivo deste estudo foi estudar o efeito do fermento natural, obtido pela fermentação espontânea de farinha de arroz, sobre a qualidade sensorial e vida de prateleira de pão isento de glúten. Foram elaborados pães isentos de glúten com três diferentes concentrações de fermento natural e comparados à mesma formulação desenvolvida com fermento comercial (*Saccharomyces cerevisiae*). O acompanhamento da vida de prateleira foi realizado através de análises de atividade de água, umidade, análises microbiológicas e de firmeza do miolo. Os pães foram submetidos à análise sensorial, com utilização de painel não-treinado, através dos testes afetivo de aceitação e intenção de compra e afetivo de ordenação de preferência. Os resultados demonstraram que o fermento natural desempenhou um papel positivo sobre a vida de prateleira, reduzindo a velocidade de crescimento de microrganismos aeróbios mesófilos e de bolores e leveduras e a velocidade de endurecimento do miolo. Já na avaliação sensorial os pães isentos de glúten obtiveram uma boa aceitação e intenção de compra. O teste de ordenação demonstrou a preferência dos provadores pelos pães desenvolvidos com fermento comercial, provavelmente em virtude dos provadores não estarem habituados às peculiaridades do produto isento de glúten. Assim, diante dos benefícios alcançados com este estudo, o uso da fermentação natural para o desenvolvimento de pães isentos de glúten é recomendado, principalmente em virtude do aumento na vida de prateleira sem a utilização de aditivos químicos.

PALAVRAS-CHAVE: fermento natural; farinha de arroz; bolores e leveduras; aeróbios mesófilos

INTRODUÇÃO

Apesar do aumento nas pesquisas relacionadas ao tema “isento de glúten”, ainda existe a dificuldade de adquirir pães com essa característica que contenham atributos sensoriais

aceitáveis e próximos aos seus análogos desenvolvidos com farinha de trigo (Capriles et al., 2014).

As necessidades proeminentes para pães isentos de glúten se baseiam na redução dos custos operacionais e no aumento da qualidade sensorial e da vida de prateleira. Segundo a Associação dos Celíacos do Brasil (ACELBRA, 2015), pão é o produto que cerca de 50% dos celíacos e demais portadores de transtornos relacionados ao glúten gostariam de encontrar com maior facilidade para seu consumo. Além disso, o custo deste tipo de pão costuma ser superior aos desenvolvidos com farinha de trigo em virtude principalmente da grande gama de aditivos que precisam ser adicionados para imitar o efeito do glúten.

Segundo (Capriles e Arêas, 2011) o consumo de produtos específicos isento de glúten é indispensável para melhoria na qualidade de vida de pacientes celíacos e de outros acometidos pelos transtornos relacionados ao glúten, já que o único tratamento eficaz é uma dieta restrita durante toda vida.

A restrição alimentar para esse grupo se traduz na impossibilidade de consumir alimentos que grande parte da população consome fato que afeta negativamente o convívio social, já que produtos isentos de glúten são geralmente escassos, caros e pobres em sabor. Dessa forma, a dieta se torna difícil de ser mantida e por consequência, afeta diretamente a saúde e a qualidade de vida (Capriles et al., 2014).

Os produtos isentos de glúten, principalmente pão, são mais apreciados quando consumidos frescos, pois geralmente possuem propriedades sensoriais e vida de prateleira deficientes (Hamer, 2005).

Dentre os aspectos mais importantes para controlar a vida de prateleira de um produto panificado estão: reduzir a perda de água através de uma boa embalagem, monitorar os parâmetros do processo e os ingredientes utilizados para garantir a qualidade microbiológica e um envelhecimento lento, e manter os parâmetros microbiológicos sob controle (Fennema & Tannenbaum, 2010).

Durante o período de estocagem, os pães sofrem alterações físico-químicas que levam a um miolo mais firme, além de mudanças no sabor, aroma e perda de umidade. Essas alterações decorrentes do envelhecimento do pão estão diretamente ligadas à retrogradação do amido, sendo que a retrogradação da amilose acontece logo após a primeira hora do forneamento enquanto a retrogradação da amilopectina é o principal motivo para a firmeza do pão (Ribotta & Le Bail, 2007). No entanto, pães isentos de glúten apresentam um prazo de validade ainda mais curto que os pães tradicionais, pois, além da retrogradação do amido a

ausência da rede de glúten reduz a retenção de umidade no interior do miolo, em virtude de ser ela a responsável por aprisionar as moléculas de água e diminuir a velocidade de migração para a crosta (Toufeili et al., 2002). Com isso, a estrutura do miolo torna-se seca e farelenta em função de aumento da firmeza.

A fermentação natural, uma metodologia antiga muito utilizada na panificação tradicional e que confere uma gama de benefícios, tem sido explorada para produção de panificados isento de glúten. Esta se baseia na mistura de farinha e água fermentada por leveduras e bactérias ácido lácticas, que pode ocorrer de maneira espontânea ou pela inoculação de *starters* (Diowksz & Ambroziak, 2006). Em virtude de alguns ácidos orgânicos e outros metabólitos serem gerados durante esse tipo de fermentação, alguns benefícios importantes são alcançados. Dentre eles a extensão da vida de prateleira, através da geração de compostos antifúngicos e aumento da acidez, o que também acarreta uma maior retenção de umidade e, por conseguinte, uma redução na firmeza do miolo (Plessas et al., 2011).

O uso da fermentação natural em pães isentos de glúten foi relatado como sendo uma alternativa para redução no uso de aditivos e uma consequente maior aceitação por parte dos consumidores (Moroni et al., 2009).

Ogunsakin *et al.* (2017) inocularam estirpes de bactérias ácido lácticas e leveduras (*P. pentosaceus* SA8, *W. confusa* SD8, *P. pentosaceus* LD7 e *S. cerevisiae* YC1) em farinha de sorgo com o intuito de investigar sua aplicação em pães isentos de glúten. Os autores concluíram que o fermento obtido apresentou uma taxa de produção de CO₂ apreciável e ótima tolerância dos microrganismos ao pH baixo.

Marti *et al.* (2017) testaram o comportamento de fermento natural à base de farinha de *teff*, fermentado por *Lactobacillus helveticus*, no desenvolvimento de pães isentos de glúten e alcançaram uma melhora no perfil sensorial e maior elasticidade nos pães.

Rinaldi *et al.* (2017) investigaram a adição de 20% de fermento natural, baseado na combinação de farinha de arroz e mel, somado a adição de 40% de farinha de castanha, os quais obtiveram pães com miolo com porosidade mais homogênea e mais firme.

Diante do exposto, a presente pesquisa investigou a vida de prateleira e aceitação sensorial de pães isentos de glúten, produzidos com fermento natural, desenvolvido pela fermentação espontânea de farinha de arroz.

MATERIAIS E MÉTODOS

Desenvolvimento da formulação de pão isento de glúten

O fermento natural utilizado no desenvolvimento dos pães com esse tratamento foi obtido pela fermentação espontânea de farinha de arroz, conforme metodologia modificada de Minervini *et al.* (2012), APÊNDICE A.

Para otimizar a formulação base foram realizados pré-testes com intuito de equilibrar os ingredientes e obter melhores respostas tecnológica e sensorial. A otimização foi baseada nos melhores efeitos para volume específico, dureza do miolo e aparência global. Posteriormente foram aplicadas as dosagens de fermento natural (10, 20 e 30g por 100g de base amilácea) e a de fermento comercial seco (1g por 100g de base amilácea), sendo esses percentuais calculados sobre o total de base farinácea utilizada, obtendo-se quatro tratamentos. Em virtude de o fermento natural utilizado apresentar em sua composição 50% de farinha de arroz e 50% de água, esses percentuais foram suprimidos proporcionalmente na formulação final do pão conforme a quantidade de fermento. As formulações utilizadas estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Formulações utilizadas para elaboração de pães isentos de glúten, utilizando fermento comercial (FC) e 10, 20 e 30% de fermento natural.

INGREDIENTES (g/100g de base amilácea)	QUANTIDADE (%)			
	FC	FN10	FN20	FN30
Farinha de arroz	37,5	33,5	29,5	25,5
Fécula de batata	37,5	37,5	37,5	37,5
Polvilho doce	25	25	25	25
Água	75	69	63	57
Açúcar	5	5	5	5
Sal	1,5	1,5	1,5	1,5
Ovo	25	25	25	25
Manteiga	5	5	5	5
Goma xantana	1	1	1	1
Fermento comercial seco	1	-	-	-
Fermento natural	-	10	20	30

FC (Controle) = formulação desenvolvida com fermento comercial seco; FN10 = formulação desenvolvida com fermento natural numa concentração de 10g por 100g de base amilácea; FN20 = formulação desenvolvida com fermento natural numa concentração de 20g por 100g de base amilácea; FN30 = formulação desenvolvida com fermento natural numa concentração de 30g por 100g de base amilácea.

Processamento dos pães

Os pães foram elaborados, seguindo as boas práticas de fabricação, através do método direto de mistura, que consiste na mistura de todos os ingredientes em uma única etapa até obtenção de massa homogênea, cremosa e lisa, similar à de um bolo. Concomitantemente, com auxílio de batedeira planetária (marca Arno[®]) com batedor tipo raquete, realizou-se a mistura dos ingredientes (Tabela 1) para obtenção das massas dos 4 tratamentos: com fermento comercial (FC) e com as três concentrações de fermento natural (FN10, FN20 e FN30), calculadas em base farinácea. Os tempos de fermentação foram diferentes, de 8 a 12 horas para os tratamentos com fermento natural (dependendo da concentração) e de cerca de 1 hora para o tratamento com fermento comercial. No próprio recipiente da batedeira, a massa foi encaminhada para câmara de fermentação (marca Venâncio[®] modelo AC20T) a 30°C. A

fermentação foi considerada concluída quando alcançou o dobro do volume. Obtido este ponto, novamente a massa foi misturada com auxílio da batedeira a fim de degaseificá-la e as bolhas de dióxido de carbono contidas no interior da mesma serem distribuídas uniformemente. Foram pesadas 200g da massa de cada pão e acondicionadas em formas de igual tamanho, previamente preparadas, e então encaminhadas à câmara de fermentação a 30°C até novamente dobrarem de volume. O forneamento foi feito em forno combinado (marca Hobart® modelo FEMD023) com aspersão de vapor e temperatura de 170°C por aproximadamente 20 minutos. Após resfriamento, os pães foram embalados em embalagens de polietileno com intuito de reduzir as trocas de umidade e estocados à temperatura ambiente durante 7 dias.

Análises microbiológicas

De acordo com os padrões microbiológicos estabelecidos para pães (BRASIL, 2001), os diferentes tratamentos foram submetidos às análises de Coliformes a 45°C pelo método oficial nº 966.24 da AOAC (2000), *Bacillus cereus* conforme metodologia descrita em BRASIL (2003) e *Salmonella sp.* de acordo com o método nº 967.26 da AOAC (2000). Todas as análises foram realizadas em triplicata, 12 horas após o forneamento dos pães, sendo esse considerado o dia 1 de estocagem.

Realizou-se a contagem de bolores e leveduras no fermento comercial utilizado no tratamento controle (fermento biológico Mauri®) e também no fermento natural desenvolvido por fermentação espontânea a partir de farinha de arroz, segundo BRASIL (2003).

Com intuito de acompanhar a vida de prateleira dos pães desenvolvidos com fermento comercial e com as três diferentes concentrações de fermento natural foram realizadas as contagens de bolores e leveduras e de microrganismos aeróbios mesófilos, segundo BRASIL (2003). As análises microbiológicas foram realizadas 12 horas após o forneamento dos pães, sendo esse considerado o dia 1 de estocagem, e nos dias 3 e 5, em triplicata, e os valores expressos em log UFC.g⁻¹.

Análise da textura do miolo

A textura foi determinada através da análise de firmeza do miolo, medida 12 h após o forneamento dos pães e determinada como a força de compressão máxima (40 % compressão) usando um texturômetro modelo TA-XT plus (Stable Micro Systems, Texture Exponent software, Surrey, UK) e um probe cilíndrico com 36 mm de diâmetro, de acordo com a

metodologia da AACC (2000), método 74-09.01. A medida de cada fatia foi de 2,5 cm, e as bordas das fatias foram cortadas antes das medições (adaptado de Katina *et al.*, 2006). O pico máximo de força (g) foi medido através da curva de penetração, resultando na firmeza do miolo. Assim, a textura foi determinada nos dias 1, 3 e 5 de estocagem, considerado o primeiro dia 12 horas após o forneamento e repetida cinco vezes para cada tratamento. Os resultados foram expressos em Newton (N).

Análise da umidade e atividade de água (Aa) do miolo

O teor de umidade do miolo dos pães foi analisado de acordo com (IAL, 2008) e a atividade de água (Aa) foi determinada utilizando o analisador de atividade de água Decagon-Aqualab, ambas realizadas nos dias 1, 3 e 5 de estocagem.

Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo cada determinação realizada em triplicata e os resultados expressos como média (\pm desvio-padrão) sendo submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas entre si através do teste de Tukey, considerando o nível de significância de 95% ($p < 0,05$). Os resultados foram analisados através do programa SPSS Statistics 20.0.

No teste de aceitação e intenção de compra, os resultados foram analisados por médias e desvio padrão utilizando o programa Excel®.

Os dados do teste afetivo de ordenação de preferência foram analisados utilizando o teste de Friedman, utilizando-se a tabela Newell e Mac Farlane que indica a diferença crítica entre as somas totais de ordenação de acordo com o número de amostras e o número de julgamentos obtidos, ao nível de 5% de significância (ABNT, 1994).

Avaliação sensorial

Os pães desenvolvidos com fermento comercial e com as três diferentes concentrações de fermento natural foram submetidos ao teste afetivo de aceitação e intenção de compra e afetivo de ordenação de preferência (IAL, 2008). Esses testes foram conduzidos com um grupo de adultos não treinados, de ambos os sexos.

Posterior à autorização do comitê de ética em pesquisa (CEP), todos os provadores receberam informações a respeito dos objetivos e riscos da pesquisa, conforme os procedimentos éticos preconizados pela Resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de

Saúde e puderam aderir livremente à pesquisa por meio de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE B).

Foram incluídos nos testes provadores, consumidores habituais de pão, não treinados de ambos os sexos, com idade acima de 18 anos. Tomou-se cuidado para excluir do estudo indivíduos com predisposição a quadros alérgicos como intolerância ou hipersensibilidade a algum ingrediente do produto avaliado. Os provadores foram selecionados entre docentes, funcionários e estudantes que frequentam regularmente o Colégio Politécnico e receberam orientação quanto às características sensoriais que foram avaliadas, antes de receberem as amostras.

No teste afetivo de aceitação, o grupo de provadores, avaliou cada amostra separadamente, quanto aos atributos aparência, aroma, sabor e textura (sensação na boca) utilizando-se metodologia de diferença do controle com escala estruturada de sete pontos, sendo 7 para gostei muitíssimo e 1 para desgostei muitíssimo. Concomitantemente, os provadores realizaram o teste de intenção de compra através de escala estruturada de 5 pontos, oscilando entre 1 para certamente compraria e 5 para certamente não compraria (APÊNDICE C). Em ambos os testes houve a participação de um total de 51 provadores.

O teste afetivo de ordenação de preferência, contou com a participação de 59 provadores e teve o intuito de conduzir o provador a indicar se havia diferença ou preferência entre as amostras. Dessa forma, o provador foi convidado a expressar, em ordem crescente, as respostas sensoriais para os quatro tratamentos: o tratamento controle (pão desenvolvido com levedura comercial) e os tratamentos com fermento natural (mesmas formulações desenvolvidas com três diferentes concentrações de fermento natural). Foram apresentadas simultaneamente as quatro amostras codificadas, uma em cada prato com a numeração indicativa, e foi pedido que fosse marcada na ficha (APÊNDICE D) a ordem crescente em relação às preferências: quanto ao sabor e quanto a maciez, ou seja, do menos preferido para o mais preferido.

COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA

Este estudo foi aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos no Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria - RS, reconhecida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa/Ministério da Saúde, em 14/06/2017 através do Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) número 69311417.0.0000.5346.

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Umidade dos pães

Em razão da inexistência de um referencial de umidade para pão isento de glúten na legislação brasileira, utilizamos como comparativo o padrão de qualidade e identidade estabelecido pela legislação vigente para pães de forma tradicionais com glúten, que estabelece valor máximo de 38g de umidade por 100g de pão. Assim, os pães desenvolvidos neste estudo apresentaram valores de umidade (Tabela 2) superiores a este limite, sendo que não houve diferença ($p < 0,05$) entre os tratamentos ao longo de 5 dias de estocagem.

Tabela 2 - Umidade e atividade de água dos pães isentos de glúten desenvolvidos com fermento comercial e com diferentes concentrações de fermento natural nos dias 1, 3 e 5 de estocagem.

TRATAMENTO	UMIDADE (%)			ATIVIDADE DE ÁGUA (Aa)		
	DIA 1	DIA 3	DIA 5	DIA 1	DIA 3	DIA 5
FC (Controle)	47,78± 0,47 ^a	46,04± 1,01 ^a	43,07± 5,24 ^a	0,978± 0,001 ^a	0,975± 0,001 ^a	0,975± 0,003 ^a
FN10	46,81± 0,08 ^a	45,58± 0,57 ^a	45,34± 1,07 ^a	0,977± 0,001 ^{ab}	0,975± 0,001 ^a	0,978± 0,001 ^a
FN20	44,60± 1,63 ^a	44,04± 1,63 ^a	43,11± 0,38 ^a	0,976± 0,001 ^{ab}	0,974± 0,004 ^a	0,977± 0,001 ^a
FN30	46,49± 0,54 ^a	45,63± 1,62 ^a	45,02± 0,72 ^a	0,976± 0,0003 ^b	0,975± 0,0003 ^a	0,977± 0,002 ^a

Resultados como média ± desvio padrão^{a-b}. Letras diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferença significativa entre os tratamentos (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

As quantidades de líquidos utilizadas no desenvolvimento de formulações de pães isentos de glúten ficam entre 70 e 110%, sob a quantidade total de base amilácea (Matos & Rosell, 2013), nos pães elaborados desse estudo utilizou 75%. Já para pães tradicionais com glúten, esses valores são de aproximadamente 55 - 60%, também sob o percentual de farinha (Kalanty, 2012). Dessa forma, em função da necessidade de um maior percentual de líquidos para desenvolvimento de pães isentos de glúten, pois as formulações são basicamente constituídas de amido, é esperado que os valores para umidade desses produtos sejam superiores aos dos pães tradicionais, desenvolvidos com farinha de trigo. Além disso, a

necessidade do uso de hidrocolóides (goma xantana no caso dessa pesquisa) aumenta a umidade do miolo deste tipo de produto (Naik & Zargar, 2016).

Outra tendência é a redução nos níveis de umidade do miolo dos pães ao longo do período de estocagem, já que com ausência do glúten os pães tendem a perder umidade com mais facilidade do miolo para a crosta.

Resultados semelhantes foram obtidos por (Rinaldi et al., 2017) que ao investigar durante 5 dias em pães isentos de glúten com fermento natural e adição de farinha de castanha, perceberam uma manutenção na umidade dos mesmos ao longo do período avaliado.

Atividade de água (Aa) dos pães

Pães isentos de glúten são produtos com alta atividade de água (Aa), provavelmente, em função de muitas formulações utilizarem hidrocolóides para imitar o efeito do glúten e esses ingredientes apresentam alta capacidade higroscópica. Sendo assim, pães isentos de glúten são produtos com curto período de estocagem, quando não aditivados quimicamente, pois são susceptíveis ao desenvolvimento de bolores e leveduras. Os resultados apresentados na Tabela 2 comprovam esse fato, onde todos os tratamentos apresentaram valores de Aa superiores a 0,97, não havendo diferença ($p < 0,05$) entre os pães analisados. Segundo Fennema (2000), produtos com Aa entre 0,80 e 0,88 favorecem o desenvolvimento de bolores e leveduras, fato que colocaria todos os pães obtidos nessa pesquisa em uma instabilidade microbiológica. Estes valores de Aa são semelhantes aos obtidos por Silva (2006) e Gragnani (2010), cujos valores para os pães de forma foram superiores a 0,90 desenvolvidos.

Análises microbiológicas

Para verificar a qualidade microbiológica dos pães elaborados, a contagem de Coliformes a 45°C, *Salmonella sp* e *Bacillus cereus* foram analisadas. Em função de todas as contagens estarem dentro dos padrões microbiológicos, os pães desenvolvidos com diferentes concentrações de fermento natural (FN) e com fermento comercial (FC) apresentaram características microbiológicas apropriadas ao consumo, conforme determina a legislação brasileira para pães (BRASIL, 2001).

A fermentação natural é capaz de melhorar a qualidade do pão, principalmente ao prolongar a vida útil e retardar o envelhecimento, além de melhorar o sabor e as propriedades

nutricionais (Thiele *et al.*, 2004). Devido principalmente ao decréscimo do pH, o ambiente torna-se desfavorável ao desenvolvimento de microrganismos deteriorantes e/ou patogênicos. Ainda, as bacteriocinas formadas pelo catabolismo celular das bactérias ácido lácticas do fermento, são as principais responsáveis pela atividade antimicrobiana nos pães, oferecendo ação bactericida e bacteriostática (Gálvez *et al.*, 2007; Martinis *et al.*, 2002).

Os resultados deste estudo (Tabela 3) demonstram a evidente redução no número de microrganismos deteriorantes nos pães desenvolvidos com fermento natural. Sendo que, se observa uma relação direta entre essa redução e o aumento na concentração de fermento natural utilizado no fabrico dos pães.

Tabela 3 - Contagens de microrganismos aeróbios mesófilos e de bolores e leveduras realizadas nos pães isentos de glúten desenvolvidos com fermento comercial e com diferentes concentrações de fermento natural durante 7 dias de estocagem.

Microrganismos Aeróbios Mesófilos (log UFC.g⁻¹)				
	DIA 1	DIA 3	DIA 5	DIA 7
FC (Controle)	4,74 ± (0,030) ^a	4,31 ± (0,025) ^a	5,00 ± (0,040) ^a	6,30 ± (0,080) ^a
FN10	3,52 ± (0,030) ^b	3,37 ± (0,040) ^b	3,79 ± (0,015) ^b	4,55 ± (0,070) ^b
FN20	0 ^c	3,24 ± (0,025) ^c	3,34 ± (0,040) ^c	4,43 ± (0,057) ^b
FN30	0 ^c	0 ^d	0 ^d	2,54 ± (0,036) ^c
Bolores e Leveduras (log UFC.g⁻¹)				
	DIA 1	DIA 3	DIA 5	DIA 7
FC (Controle)	2,8 ± (0,010) ^a	4,82 ± (0,556) ^a	4,97 ± (0,026) ^a	6,39 ± (0,087) ^a
FN10	2,65 ± (0,024) ^b	3,86 ± (0,058) ^b	3,59 ± (0,088) ^b	4,51 ± (0,027) ^b
FN20	1,79 ± (0,047) ^c	3,67 ± (0,038) ^b	3,54 ± (0,020) ^b	4,33 ± (0,028) ^c
FN30	0 ^d	0 ^c	1,42 ± (0,025) ^c	2,54 ± (0,027) ^d

^{a.....d}Médias seguidas por letras diferentes diferem estatisticamente ($p < 0,05$) pelo teste de tukey dentro da mesma coluna. FN10 = formulação com 10% de fermento natural; FN20 = formulação com 20% de fermento natural; FN30 = formulação com 30% de fermento natural. Todos os percentuais referem-se ao total de fonte amilácea utilizada na formulação.

Aos sete dias de estocagem foi observado que quanto maior a concentração de fermento natural utilizado na elaboração dos pães sem glúten, menor foi o nível de proliferação de bolores e leveduras (Figura 2).

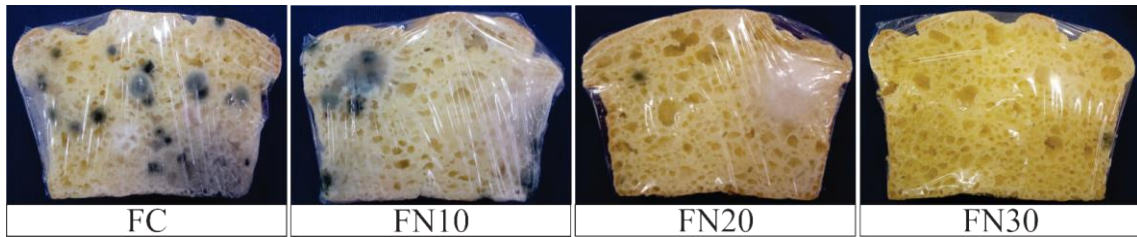


Figura 2 - Alterações causadas por bolores e leveduras nos pães isentos de glúten desenvolvidos com fermento comercial e com diferentes concentrações de fermento natural após 7 dias de armazenamento em temperatura ambiente.

Os dados obtidos estão de acordo com Hammes *et al.* (2005) que obtiveram pães de centeio a partir da fermentação natural, com um período de estocagem aumentado, em virtude do atraso na germinação de esporos microbianos. As diferenças observadas entre os pães isentos de glúten desenvolvidos com fermento comercial e com fermento natural podem ser atribuídas a uma diversidade de fatores intrinsecamente relacionados, dentre eles variações nas quantidades e nos tipos de ácidos produzidos e nas espécies de bactérias presentes no meio durante a fermentação natural, provavelmente produtoras de bacteriocinas (Clarke *et al.*, 2002).

Textura do miolo

A textura foi determinada para os quatro tratamentos considerando o parâmetro firmeza como indicador, com o intuito de avaliar a taxa de endurecimento do pão e a deterioração da maciez do miolo. Quando avaliada por métodos instrumentais (texturômetros), a textura é proporcional à força necessária para realizar a deformação ou rompimento após a compressão do produto e está correlacionada com a mordida humana durante a ingestão dos alimentos (Hibberd & Parker, 1985). No caso de pães, a textura apresenta-se como um importante indicador de frescor e qualidade para o consumidor, que está relacionada tanto com a porosidade da migalha quanto com as características alveolares do miolo.

A partir dos dados obtidos nesse estudo para textura das fatias de pães isentos de glúten (Tabela 4) se entende que a fermentação natural no primeiro dia de estocagem ocasionou um aumento na firmeza das fatias, sendo que os tratamentos diferiram ($p < 0,05$) entre si. No terceiro dia, apesar de haver também uma diferença ($p < 0,05$), esta foi menos expressiva, fazendo com que, no quinto dia de armazenamento, os pães apresentassem valores para firmeza equivalentes, ou seja, todos os tratamentos não apresentarem diferença ($p < 0,05$). Esse fato demonstra que o fermento natural utilizado desacelerou o endurecimento durante a

estocagem, já que o tratamento controle teve sua firmeza aumentada mais rapidamente ao longo do período analisado.

Tabela 4 - Textura das fatias de pães isentos de glúten desenvolvidos com fermento comercial e com diferentes concentrações de fermento natural.

TRATAMENTO	FIRMEZA DO MIOLO DOS PÃES		
	DIA 1	DIA 3	DIA 5
FC (Controle)	963,11±108,6 ^c	1309,50±208,3 ^b	2065,65±211,6 ^a
FN10	1560,42±26,7 ^{ab}	1865,77±137,9 ^{ab}	1873,1±225,8 ^a
FN20	1719,31±86,6 ^a	1955,93±241,3 ^a	2236,91±489,1 ^a
FN30	1430,99±33,6 ^b	1866,36±356,0 ^{ab}	2092,58±197,6 ^a

Resultados como média ± desvio padrão^{a-c}. Letras diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferença significativa entre os tratamentos (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

Resultados semelhantes foram obtidos por Novotni *et al.* (2013), que obtiveram pães elaborados com a fermentação natural com miolos ligeiramente mais firmes que os fermentados com levedura comercial no primeiro dia de estocagem, enquanto após 96 horas esse dado inverteu-se.

O aumento da firmeza do miolo com a adição do fermento natural nesta pesquisa durante 3 dias de armazenamento corrobora também com Galle *et al.* (2012) que observou uma redução na retenção de água e um aumento na firmeza do miolo de pães isentos de glúten induzidos por ácidos orgânicos e enzimas liberadas durante a fermentação natural. Provavelmente, estas mudanças não estão somente relacionadas à retrogradação do amido, mas também à redistribuição da água interna, que hidrata o amido e os ingredientes responsáveis pela coesão das massas, ou seja, os hidrocolóides no caso de pães isentos de glúten (Matos & Rosell, 2012) e o glúten no caso de pães de trigo (Hathorn *et al.*, 2008).

A firmeza/dureza do miolo está diretamente relacionada com o volume do pão, pois quanto mais bolhas de gás retidas em seu interior, maior volume e conseqüentemente mais maciez. Contudo, Burešová *et al.* (2014), ao desenvolverem pães isentos de glúten, com farinhas de amaranto, de grão de bico, de milho, de quinoa e de arroz, concluíram que o pão com maior volume apresentou uma menor extensibilidade e a exigência de uma maior pressão no momento da compressão do miolo resultando em uma maior firmeza (Hibberd & Parker, 1985).

Ainda, segundo Corsetti *et al.* (2008) a acidificação ocasionada pelo metabolismo de bactérias ácido lácticas, a hidrólise do amido e a proteólise provocam mudanças físico-

químicas em todo período de estocagem do pão, incluindo os benefícios de retardar a firmeza e a proliferação microbiana em pães isentos de glúten.

Análise sensorial

Os pães isentos de glúten desenvolvidos com fermento comercial e com diferentes concentrações de fermento natural foram avaliados quanto à aceitabilidade de acordo com os atributos cor, aroma, sabor, textura e aparência global e quanto à intenção de compra e, em outro momento, quanto à ordenação de preferência. Os provadores recrutados para essa pesquisa incluíram consumidores potenciais de pão, no entanto poucos destes estavam habituados ao consumo de pão isento de glúten.

Os resultados indicam que os provadores no teste de aceitação (Tabela 5) valiam a maioria dos atributos com notas entre 4 e 5, escores classificados como “indiferente” e “gostei” na escala hedônica estruturada de sete pontos, para os 4 tratamentos.

Tabela 5 - Médias das notas atribuídas no teste de aceitação para as características de cor, aroma, sabor, textura e avaliação global das amostras de pães isentos de glúten desenvolvidos com fermento comercial e com diferentes concentrações de fermento natural.

ATRIBUTOS	FC (Controle)	FN10	FN20	FN30
Cor	5,10±1,12	5,24±1,09	5,20±0,98	5,24±1,19
Sabor	4,67±1,38	5,08±1,13	4,74±1,15	4,92±1,15
Aroma	5,10±1,12	5,16±1,19	5,31±0,99	5,24±1,01
Textura	4,84±1,60	4,61±1,34	4,53±1,38	4,71±1,33
Avaliação Global	4,72±1,66	4,00±1,30	4,82±1,14	5,12±1,16

Escore: 1= desgostei muitíssimo; 2= desgostei muito; 3= desgostei; 4= indiferente; 5= gostei; 6= gostei muito; 7= gostei muitíssimo

Tabela 6 - Avaliação sensorial por ordenação de preferência quanto a maciez e sabor dos pães isentos de glúten desenvolvidos com fermento comercial e com diferentes concentrações de fermento natural.

DIFERENÇA DA SOMA DAS ORDENS	MÓDULO DA DIFERENÇA	
	MACIEZ	SABOR
FC (Controle) – FN10	60 (s)	42 (s)
FC (Controle) – FN20	55 (s)	65 (s)
FC (Controle) – FN30	51 (s)	63 (s)
FN10 – FN20	5 (ns)	23 (ns)
FN10 – FN30	4 (ns)	2 (ns)
FN20 – FN30	9 (ns)	21 (ns)

(s) = significativo; (ns) = não significativo; dms (diferença mínima significativa) = 37. Teste de soma de ordens de Friedman, a 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

Quanto à intenção de compra (Figura 4), todos os pães obtiveram uma boa classificação, sendo que a maior parte dos provadores optou pelos parâmetros “provavelmente compraria” e “talvez compraria/talvez não compraria”. O pão desenvolvido com 30% de fermento natural (FN10) obteve a melhor classificação dentre os 4 tratamentos, em função de ser o que obteve o menor índice de avaliações para “certamente não compraria”.

De acordo com os resultados do teste de ordenação de preferência (Tabela 6), os pães produzidos com fermento comercial apresentaram diferença significativa entre as demais formulações para os atributos maciez e sabor, enquanto que os pães produzidos com fermento natural não diferiram entre si.

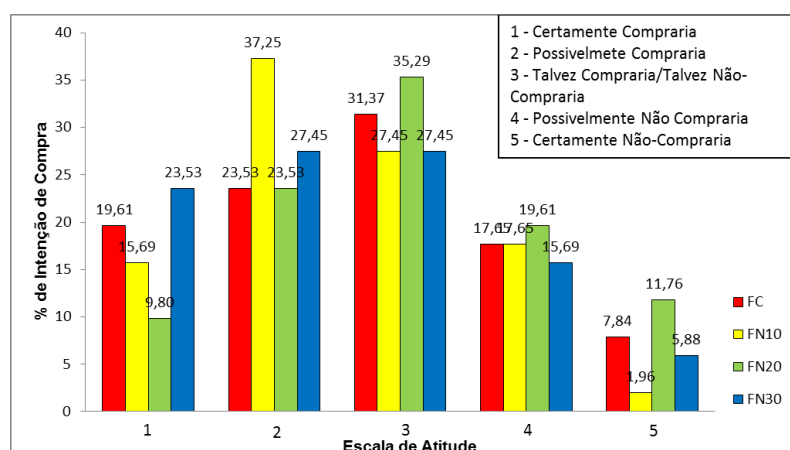


Figura 3 - Intenção de compra obtida através da análise sensorial para as amostras de pães isentos de glúten desenvolvidos com fermento comercial e com diferentes concentrações de fermento natural.

Logo, conforme os resultados encontrados pode-se inferir que a amostra de pão isento de glúten desenvolvida com fermento comercial foi a que demonstrou uma melhor aceitação

no teste de ordenação, provavelmente em virtude do residual ácido presente nas amostras desenvolvidas com fermento natural, já que este não é o padrão de sabor para pão consumido pela maioria dos provadores.

Comumente, os consumidores preferem pão branco desenvolvido com farinha de trigo, principalmente por causa do sabor, cor e textura, sendo esse o tipo de pão considerado padrão de consumo, para maioria (Arvola *et al.*, 2007). Dessa forma, os resultados obtidos nesta pesquisa podem ser devido aos provadores, participantes dessa pesquisa, estar habituados a pães com glúten processados industrialmente e não esperavam diferentes sabores e texturas proporcionados nos pães isentos de glúten pela fermentação natural.

Os pães isentos de glúten desenvolvidos por fermentação natural, ou seja, elaborados mediante fermentação microbiana ácido láctica e alcoólica apresentam características sensoriais e tecnológicas peculiares. Seu desenvolvimento e comercialização se mostram uma alternativa para a indústria suprir a lacuna existente de pães isentos de glúten.

CONCLUSÕES

O desenvolvimento de pão isento de glúten com diferentes concentrações de fermento natural neste estudo alcançou benefícios tanto na qualidade sensorial quanto ao prolongamento na vida de prateleira. As diferentes concentrações de fermento utilizadas (10, 20 e 30%) demonstraram uma relação direta com o período de estocagem, já que, a vida de prateleira aumentou proporcionalmente ao aumento da quantidade de fermento. O aumento na vida de prateleira foi alcançado em virtude da redução da carga de microrganismos deteriorantes e da diminuição na velocidade de endurecimento do miolo dos pães ao longo do período de estocagem.

Sensorialmente, os pães tiveram uma boa classificação geral, porém limitada em virtude de ter sido utilizado um painel de provadores não habituados ao consumo de pães isentos de glúten e não familiarizados com suas características e peculiaridades.

REFERÊNCIAS

AACC, 2000. (2000). AACC International Approved Methods. *Vasa*.

AOAC. (2000). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. AOAC International.

Arvola, A., Lähteenmäki, L., Dean, M., Vassallo, M., Winkelmann, M., Claupein, E., ...
Shepherd, R. (2007). Consumers' beliefs about whole and refined grain products in the

- UK, Italy and Finland. *Journal of Cereal Science*, 46(3), 197–206.
- BRASIL. (2001). Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02/01/2001. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial Da República Federativa Do Brasil, Brasília, DF*.
- Burešová, I., Kráčmar, S., Dvořáková, P., & Středa, T. (2014). The relationship between rheological characteristics of gluten-free dough and the quality of biologically leavened bread. *Journal of Cereal Science*, 60(2), 271–275.
- Capriles, V. D., & Arêas, J. A. G. (2011). Avanços na produção de pães sem glúten: Aspectos tecnológicos e nutricionais. *Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*.
- Capriles, V. D., Santos, F. G., Reis, E. M., & Pereira, C. F. (2014). Innovative approaches to improve nutritional and bioactive compounds of grain-based gluten-free. In *Gluten-Free Diets: Food Sources, Role in Celiac Disease and Health Benefits* (pp. 67–116).
- Clarke, C. I., Schober, T. J., & Arendt, E. K. (2002). Effect of single strain and traditional mixed strain starter cultures on rheological properties of wheat dough and on bread quality. *Cereal Chemistry*, 79(5), 640–647.
- Corsetti, A., Gobbetti, M., Balestrieri, F., Paoletti, F., Russi, L., & Rossi, J. (2008). Sourdough Lactic Acid Bacteria Effects on Bread Firmness and Staling. *Journal of Food Science*, 63(2), 347–351.
- De Martinis, E. C. P., Alves, V. F., & Franco, B. D. G. M. (2002). Fundamentals and Perspectives for the Use of Bacteriocins Produced By Lactic Acid Bacteria in Meat Products. *Food Reviews International*, 18(2–3), 191–208. <https://doi.org/10.1081/FRI-120014688>
- Diowksz, A., & Ambroziak, W. (2006). Sourdough. In *Bakery Products* (pp. 365–380).
- Fennema, O. R. (2000). *Química de los Alimentos*. Zaragoza.
- Fennema, O., & Tannenbaum, S. (2010). Fennema Química de los alimentos. In *Química de los Alimentos* (pp. 940–990).
- Galle, S., Schwab, C., Dal Bello, F., Coffey, A., Gänzle, M. G., & Arendt, E. K. (2012).

- Influence of in-situ synthesized exopolysaccharides on the quality of gluten-free sorghum sourdough bread. *International Journal of Food Microbiology*, 155(3), 105–112.
- Gálvez, A., Abriouel, H., López, R. L., & Omar, N. Ben. (2007). Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 120(1–2), 51–70.
- Hamer, R. J. (2005). Coeliac Disease: Background and biochemical aspects. *Biotechnology Advances*.
- Hammes, W. P., Brandt, M. J., Francis, K. L., Rosenheim, J., Seitter, M. F. H., & Vogelmann, S. A. (2005). Microbial ecology of cereal fermentations. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 16, pp. 4–11).
- Hathorn, C. S., Biswas, M. A., Gichuhi, P. N., & Bovell-Benjamin, A. C. (2008). Comparison of chemical, physical, micro-structural, and microbial properties of breads supplemented with sweetpotato flour and high-gluten dough enhancers. *LWT - Food Science and Technology*, 41(5), 803–815.
- Hibberd, G. E., & Parker, N. S. (1985). Measurements of the compression properties of bread crumb. *Journal of Texture Studies*, 16(1), 97–110.
- IAL. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. (2008). Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 1^a edição digital. In *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. (p. 1020).
- Katina, K., Heiniö, R. L., Autio, K., & Poutanen, K. (2006). Optimization of sourdough process for improved sensory profile and texture of wheat bread. *LWT - Food Science and Technology*, 39(10), 1189–1202.
- Marti, A., Marengo, M., Bonomi, F., Casiraghi, M. C., Franzetti, L., Pagani, M. A., & Iametti, S. (2017). Molecular features of fermented teff flour relate to its suitability for the production of enriched gluten-free bread. *LWT - Food Science and Technology*, 78, 296–302.
- Matos, M. E., & Rosell, C. M. (2012). Relationship between instrumental parameters and sensory characteristics in gluten-free breads. *European Food Research and Technology*, 235(1), 107–117.

- Matos, M. E., & Rosell, C. M. (2013). Quality Indicators of Rice-Based Gluten-Free Bread-Like Products: Relationships Between Dough Rheology and Quality Characteristics. *Food and Bioprocess Technology*, 6(9), 2331–2341.
- Minervini, F., Di Cagno, R., Lattanzi, A., De Angelis, M., Antonielli, L., Cardinali, G., ... Gobbetti, M. (2012). Lactic acid bacterium and yeast microbiotas of 19 sourdoughs used for traditional/typical Italian breads: Interactions between ingredients and microbial species diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(4), 1251–1264.
- Mir, S. A., Shah, M. A., Naik, H. R., & Zargar, I. A. (2016). Influence of hydrocolloids on dough handling and technological properties of gluten-free breads. *Trends in Food Science and Technology*.
- Moroni, A. V., Dal Bello, F., & Arendt, E. K. (2009). Sourdough in gluten-free bread-making: An ancient technology to solve a novel issue? *Food Microbiology*, 26(7), 676–684.
- Novotni, D., Čukelj, N., Smerdel, B., & Čurić, D. (2013). Quality attributes and firming kinetics of partially baked frozen wholewheat bread with sourdough. *International Journal of Food Science and Technology*, 48(10), 2133–2142.
- Ogunsakin, A. O., Vanajakshi, V., Anu-Appaiah, K. A., Vijayendra, S. V. N., Walde, S. G., Banwo, K., ... Prabhasankar, P. (2017). Evaluation of functionally important lactic acid bacteria and yeasts from Nigerian sorghum as starter cultures for gluten-free sourdough preparation. *LWT - Food Science and Technology*, 82, 326–334.
- Plessas, S., Alexopoulos, A., Mantzourani, I., Koutinas, A., Voidarou, C., Stavropoulou, E., & Bezirtzoglou, E. (2011). Application of novel starter cultures for sourdough bread production. *Anaerobe*, 17(6), 486–489.
- Ribotta, P. D., & Le Bail, A. (2007). Thermo-physical and thermo-mechanical assessment of partially baked bread during chilling and freezing process. Impact of selected enzymes on crumb contraction to prevent crust flaking. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 913–921.
- Rinaldi, M., Paciulli, M., Caligiani, A., Scazzina, F., & Chiavaro, E. (2017). Sourdough fermentation and chestnut flour in gluten-free bread: A shelf-life evaluation. *Food*

Chemistry, 224, 144–152.

Thiele, C., Grassl, S., & Gänzle, M. (2004). Gluten Hydrolysis and Depolymerization during Sourdough Fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(5), 1307–1314.

Toufeili, I., Lambert, I. A., & Kokini, J. L. (2002). Effect of glass transition and cross-linking on rheological properties of gluten: Development of a preliminary state diagram. *Cereal Chemistry*, 79(1), 138–142.

DISCUSSÃO GERAL

5 DISCUSSÃO GERAL

Alimentos produzidos a partir de cereais são diariamente consumidos em todo mundo, especialmente o pão. As características tecnológicas e sensoriais de cada produto estão diretamente relacionadas com a matéria-prima que os originam, no entanto o desenvolvimento de pães isentos de glúten ainda é uma dificuldade para os padeiros atuais. Pães isentos de glúten são geralmente caracterizados como pobres em sabor, possuem estrutura firme e farelenta, além de uma curta vida de prateleira (CAMPO *et al.*, 2016). Esses fatores dificultam a manutenção de uma dieta restritiva, como os portadores de doença celíaca e de outros transtornos relacionados ao glúten ou os que optam por esse tipo de alimento. A dieta isenta de glúten tem atraído muita atenção na mídia atual, fato que impulsiona o crescimento no mercado e nos esforços para melhorar as qualidades tecnológica, sensorial e nutricional dos alimentos desse tipo (MASURE; FIERENS; DELCOUR, 2016).

A utilização da fermentação natural tem aumentado mundialmente devido à melhoria da qualidade sensorial e nutricional dos pães em comparação àqueles desenvolvidos com fermentação comercial (GOBBETTI *et al.*, 2014; ZHAO *et al.*, 2015). Segundo BRANDT (2007) o uso de fermento natural é capaz de substituir aditivos no desenvolvimento de panificados corroborando com a “teoria de rótulos limpos”, ou seja, reduz a carga de aditivos químicos.

O fermento natural isento de glúten desenvolvido nesse estudo apresentou em sua constituição uma simbiose entre leveduras (LEV) e bactérias ácido lácticas (BAL) que foi investigada como uma ferramenta capaz de melhorar a qualidade global dos pães isentos de glúten. Através das contagens microbiológicas de LEV e BAL foi acompanhado o desenvolvimento e posterior estabilização dessa microbiota. Para as contagens de BAL os valores ficaram entre 3,9 log UFC.g⁻¹ no primeiro dia e 7,0 log UFC.g⁻¹ no décimo primeiro. Já para as LEV, os valores ficaram entre 3,2 log UFC.g⁻¹ no primeiro dia e 6,7 log UFC.g⁻¹ no décimo primeiro. Contudo, o fermento poderia ter sido considerado apto para utilização já no sétimo dia de desenvolvimento, em virtude dos valores das contagens estarem estabilizadas desde então, fato que sinaliza o estabelecimento da microbiota no fermento. Assim, sua capacidade fermentativa foi comprovada ser eficiente para o desenvolvimento de pães isentos de glúten com fermentação natural (FN10, FN20 e FN30) em substituição ao uso de fermento comercial (FC). Dentre os atributos que se buscaram aprimoramentos estão o volume e a firmeza dos pães, propriedades diretamente proporcionais e correlacionadas com a qualidade tecnológica de pães, pois uma maior porosidade do miolo conferirá um maior volume

específico e conseqüente menor firmeza. Os pães com fermentação natural desenvolvidos neste estudo apresentaram volumes específicos menores ($p < 0,05$) que o tratamento controle desenvolvido com fermento comercial (FC) e não apresentaram diferenças ($p < 0,05$) entre as concentrações utilizadas (FN10, FN20 e FN30) para esta característica. Em fermentos desenvolvidos naturalmente, principalmente àqueles por fermentação espontânea, as LEV de sua constituição estão adaptadas ao ambiente com baixo pH, contudo, esse meio ácido, em virtude dos ácidos orgânicos produzidos pelas BAL, provavelmente foi o limitante para obtenção de pães com menor volume. O metabolismo homofermentativo das BAL, por serem heterofermentativas facultativas, provavelmente também contribuiu para essa redução, pois a quantidade de gás carbônico gerado é reduzida ao confrontar com fermentações efetivadas apenas por leveduras (GOBBETTI *et al.*, 2005).

Ao mesmo tempo, principalmente em função dessa redução do pH da massa e da produção de metabólitos, como as bacteriocinas pelas BAL, o fermento natural foi capaz de controlar o crescimento de microrganismos deteriorantes, comprovado pela redução na contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e de bolores e leveduras. Essas reduções nas contagens foram diretamente proporcionais à quantidade de fermento utilizada. Enquanto para os pães desenvolvidos com fermento comercial (FC) a contagem de microrganismos aeróbios mesófilos aumentou de $4,74 \pm 0,03 \log \text{UFC.g}^{-1}$ no primeiro dia de estocagem para $6,3 \pm 0,08 \log \text{UFC.g}^{-1}$ no sétimo, a dos pães desenvolvidos com 30% de fermento natural (FN30) aumentou de “zero” no primeiro dia para $2,54 \pm 0,04 \log \text{UFC.g}^{-1}$ no sétimo. Da mesma forma, o crescimento de bolores e leveduras foi controlado pela utilização da fermentação natural, sendo que essa contagem para FC aumentou de $2,8 \pm 0,01 \log \text{UFC.g}^{-1}$ no primeiro dia de estocagem para $6,39 \pm 0,09 \log \text{UFC.g}^{-1}$ no sétimo e para FN30 aumentou de “zero” no primeiro dia para $2,54 \pm 0,03 \log \text{UFC.g}^{-1}$ no sétimo. Assim, o fermento natural desenvolvido nesse estudo propiciou aos pães nos três tratamentos (FN10, FN20 e FN30) propriedades capazes de prolongar a vida de prateleira, sendo esta proporcional à concentração de fermento natural utilizada no desenvolvimento dos pães. O aumento na vida de prateleira de pães isentos de glúten é altamente desejável, em virtude de apresentarem uma alta atividade de água (em torno de 0,98 como os pães desenvolvidos nesse estudo) se tornam propensos ao desenvolvimento de microrganismos deteriorantes. Ainda, pães não aditivados quimicamente vão ao encontro daquilo que muitos consumidores buscam, como a “teoria dos rótulos limpos” e alimentos com apelo artesanal.

Quando as características sensoriais de pães são avaliadas, a textura, a cor e o volume são atributos imediatamente analisados, já que é o primeiro contato do produto com o provador. Pães com glúten, principalmente os desenvolvidos com farinha de trigo, são tidos como macios, apresentarem crosta dourada e volume elevado. Contudo, ao se analisar sensorialmente pães isentos de glúten a percepção deve ser diferente, pois a ausência do glúten inevitavelmente modifica esses atributos, os tornando “estranhos” para consumidores usuais de pão.

A avaliação sensorial dos pães desenvolvidos com fermentação natural nesse estudo obteve uma boa aceitação e intenção de compra, no entanto para o teste de ordenação, o mais bem avaliado foi o pão desenvolvido com fermento comercial. Muito provavelmente em função dos consumidores estarem habituados a sabores e aromas mais suaves, diferente daqueles proporcionados pela fermentação natural, que são um conjunto de notas ácidas que desagradam a muitos.

A continuidade dos estudos será realizada a fim de isolar os microrganismos presentes no fermento natural, desenvolvido a partir da fermentação espontânea de farinha de arroz, e para aprimorar a formulação base utilizada para o desenvolvimento dos pães, na busca do aumento nos benefícios já alcançados para os pães isentos de glúten.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A respeito do desenvolvimento de pães com fermento natural, foi possível desenvolvê-los com fermento desenvolvido com farinha de arroz. Esse fermento foi desenvolvido a partir da fermentação espontânea, ou seja, utilizando apenas os microrganismos presentes na matéria-prima e no ambiente de desenvolvimento.

O fermento teve o pH reduzido de uma faixa de 5,8 a 3,8 enquanto a acidez titulável aumentada de 0,2 no primeiro dia de desenvolvimento para 1,1 no último. Já as contagens microbiológicas de bactérias ácido lácticas e de leveduras, se estabilizaram no sétimo dia, sendo respectivamente 7,02 log.UFC⁻¹ e 6,69 log.UFC⁻¹.

Desenvolveram-se quatro tratamentos com uma formulação pré-calibrada de pão isento de glúten: pães com 10, 20 e 30% de fermento natural e pão com 1% de fermento comercial (controle), sendo os percentuais calculados sob o total de base farinácea (g de fermento/100g de base farinácea). Determinou-se o pH e a acidez titulável das massas dos pães imediatamente após a mistura dos ingredientes e imediatamente antes do forneamento, observando-se uma clara redução no pH e elevação da acidez titulável proporcional ao aumento na quantidade de fermento natural utilizado. Estimou-se um tempo médio de fermentação para os pães desenvolvidos com fermento natural de 10 horas contra cerca de 1 hora para o com fermento comercial.

A partir das análises de Coliformes a 45°C, *Bacillus cereus* e *Salmonella sp.*, comprovou-se a qualidade microbiológica dos pães.

O volume dos pães desenvolvidos com fermento comercial foi maior ($p < 0,05$) que os demais desenvolvidos com fermento natural. Já entre as três diferentes concentrações de fermento natural, não houve diferença ($p < 0,05$). Para umidade e atividade de água não houve diferenças ($p < 0,05$) entre os valores para os quatro tratamentos. Já para cor da crosta dos pães, apesar de haverem diferenças ($p < 0,05$) entre os pães com fermentação natural e o tratamento controle, visualmente tornam-se irrelevantes, por serem praticamente imperceptíveis.

Os pães desenvolvidos com fermento comercial apresentaram a firmeza no miolo menor ($p < 0,05$) no primeiro dia de análise, no entanto os pães desenvolvidos com fermento natural tiveram uma desaceleração no endurecimento do miolo, independente da concentração utilizada. A partir do quinto dia de estocagem não havia diferenças ($p < 0,05$) entre os quatro tratamentos, o que demonstra a capacidade dos compostos presentes no fermento natural de “frear” a perda de maciez dos pães.

Quanto às contagens microbiológicas durante a vida de prateleira, ficou evidente o controle microbiano exercido pelo fermento natural, sendo que a eficiência foi proporcional à concentração de fermento natural utilizada nos pães. Enquanto no quinto dia de armazenamento a contagem de bolores encontrava-se em $4,97 \log\text{UFC.g}^{-1}$ para os pães desenvolvidos com fermento comercial, os pães desenvolvidos com 30% de fermento natural apresentavam para o mesmo parâmetro $1,42 \log\text{UFC.g}^{-1}$.

Sensorialmente, através do teste de ordenação os pães desenvolvidos com fermento comercial foram mais bem aceitos para os atributos sabor e maciez em comparação aos desenvolvidos com fermento natural. Já no teste de aceitação, os quatro tratamentos obtiveram o mesmo padrão de avaliação, as notas oscilaram entre 4 e 5, escores classificados como “indiferente” e “gostei”. Atribui-se como uma fraqueza deste estudo a utilização de um painel não-treinado e, a grande maioria, não habituado ao consumo de pães isentos de glúten e ao residual ácido presente nos pães em virtude da fermentação natural.

Assim, esse estudo poderá servir como um incentivo ao desenvolvimento de pães isentos de glúten livres de conservadores artificiais, pois os resultados aqui obtidos evidenciam o potencial controle microbiológico exercido pelo fermento natural.

A continuação deste trabalho seria interessante a fim de isolar e identificar os microrganismos presentes no fermento natural desenvolvido pela fermentação espontânea de farinha de arroz, além de buscar novas formulações para sua aplicação com intuito de aprimorar as características sensoriais e tecnológicas do produto final e equipará-las à dos pães desenvolvidos com farinha de trigo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APONTE, M. et al. Volatile compounds and bacterial community dynamics of chestnut-flour-based sourdoughs. *Food Chemistry*, 2013. v. 141, n. 3, p. 2394–2404.

ARENDRT, E. K. et al. Gluten-free breads. *Gluten-Free Cereal Products and Beverages*. [S.l.]: [s.n.], 2008.

_____; RYAN, L. A. M.; DAL BELLO, F. Impact of sourdough on the texture of bread. *Food Microbiology*, 2007. v. 24, n. 2, p. 165–174.

BEMILLER, J. N. Gums and Related Polysaccharides. *Glycoscience*, 2008. p. 1513–1533.

BOTERO-LÓPEZ, J. E. et al. Micronutrient deficiencies in patients with typical and atypical celiac disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 2011. v. 53, n. 3, p. 265–270.

BRANDT, M. J. Sourdough products for convenient use in baking. *Food Microbiology*, 2007. v. 24, n. 2, p. 161–164.

CAPRILES, V. D.; ARÊAS, J. A. G. Avanços na produção de pães sem glúten: Aspectos tecnológicos e nutricionais. *Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*.

CORSETTI, A.; SETTANNI, L. Lactobacilli in sourdough fermentation. *Food Research International*.

CZERNY, M.; SCHIEBERLE, P. Important aroma compounds in freshly ground wholemeal and white wheat flour - Identification and quantitative changes during sourdough fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002. v. 50, n. 23, p. 6835–6840.

DECOCK, P.; CAPPELLE, S. Bread technology and sourdough technology. [S.l.]: [s.n.], 2005. V. 16, p. 113–120.

DEMIRKESEN, I.; SUMNU, G.; SAHIN, S. Image Analysis of Gluten-free Breads Prepared with Chestnut and Rice Flour and Baked in Different Ovens. *Food and Bioprocess Technology*, 2013. v. 6, n. 7, p. 1749–1758.

EL-NEZAMI, H. et al. Binding rather than metabolism may explain the interaction of two

food-grade *Lactobacillus* strains with zearalenone and its derivative α -zearalenol. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002. v. 68, n. 7, p. 3545–3549.

FOSCHIA, M. et al. Nutritional therapy ??? Facing the gap between coeliac disease and gluten-free food. *International Journal of Food Microbiology*, 2016. v. 239, p. 113–124.

FUCHS, S. et al. Detoxification of patulin and ochratoxin A, two abundant mycotoxins, by lactic acid bacteria. *Food and Chemical Toxicology*, 2008. v. 46, n. 4, p. 1398–1407.

GALLAGHER, E.; GORMLEY, T. R.; ARENDT, E. K. Crust and crumb characteristics of gluten free breads. [S.l.]: [s.n.], 2003. V. 56, p. 153–161.

_____; _____. Recent advances in the formulation of gluten-free cereal-based products. *Trends in Food Science and Technology*.

GOBBETTI, M. et al. Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria. [S.l.]: [s.n.], 2005. V. 16, p. 57–69.

GUJRAL, N.; FREEMAN, H. J.; THOMSON, A. B. R. Celiac disease: Prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment. *World Journal of Gastroenterology*.

HAMMES, W. P.; GÄNZLE, M. G. Sourdough breads and related products. *Microbiology of Fermented Foods*. [S.l.]: [s.n.], 1998, p. 199–216.

HAMMES, W.; VOGEL, R. The genus *Lactobacillus*. *The genera of lactic acid bacteria*, 1995. v. 2, p. 19–54.

HASSAN, Y. I.; BULLERMAN, L. B. Antifungal activity of *Lactobacillus paracasei* ssp. *tolerans* isolated from a sourdough bread culture. *International Journal of Food Microbiology*, 2008. v. 121, n. 1, p. 112–115.

HOUBEN, A.; H??CHST??TTER, A.; BECKER, T. Possibilities to increase the quality in gluten-free bread production: An overview. *European Food Research and Technology*.

JNAWALI, P.; KUMAR, V.; TANWAR, B. Celiac disease: Overview and considerations for development of gluten-free foods. *Food Science and Human Wellness*, 2016. v. 5, n. 4, p. 169–176.

KATINA, K. et al. Potential of sourdough for healthier cereal products. [S.l.]: [s.n.], 2005. V. 16, p. 104–112.

_____ et al. Optimization of sourdough process for improved sensory profile and texture of wheat bread. *LWT - Food Science and Technology*, 2006. v. 39, n. 10, p. 1189–1202.

KENNY, S. et al. Influence of sodium caseinate and whey protein on baking properties and rheology of frozen dough. *Cereal Chemistry*, 2001. v. 78, n. 4, p. 458–463.

KHAN, K.; NYGARD, G. Gluten. *Bakery Products*. [S.l.]: [s.n.], 2006, p. 97–108.

MASURE, H. G.; FIERENS, E.; DELCOUR, J. A. Current and forward looking experimental approaches in gluten-free bread making research. *Journal of Cereal Science*, 2016.

MEROTH, C. B.; HAMMES, W. P.; HERTEL, C. Characterisation of the microbiota of rice sourdoughs and description of *Lactobacillus spicheri* sp. nov. *Systematic and applied microbiology*, 2004. v. 27, p. 151–159.

MOORE, M. M.; DAL BELLO, F.; ARENDT, E. K. Sourdough fermented by *Lactobacillus plantarum* FST 1.7 improves the quality and shelf life of gluten-free bread. *European Food Research and Technology*, 2008. v. 226, n. 6, p. 1309–1316.

MORONI, A. V.; DAL BELLO, F.; ARENDT, E. K. Sourdough in gluten-free bread-making: An ancient technology to solve a novel issue? *Food Microbiology*, 2009. v. 26, n. 7, p. 676–684.

NAQASH, F. et al. Gluten-free baking: Combating the challenges - A review. *Trends in Food Science and Technology*.

O'SHEA, N.; ARENDT, E.; GALLAGHER, E. State of the Art in Gluten-Free Research. *Journal of Food Science*, 2014. v. 79, n. 6.

OJETTI, V. et al. High prevalence of celiac disease in patients with lactose intolerance. *Digestion*, 2005. v. 71, n. 2, p. 106–110.

PIOTROWSKA, M.; ZAKOWSKA, Z. The elimination of ochratoxin A by lactic acid bacteria strains. *Polish Journal of Microbiology*, 2005. v. 54, n. 4, p. 279–286.

PLESSAS, S. et al. Bread making using kefir grains as baker's yeast. *Food Chemistry*, 2005. v. 93, n. 4, p. 585–589.

_____ et al. Application of novel starter cultures for sourdough bread production. *Anaerobe*, 2011. v. 17, n. 6, p. 486–489.

POULSEN, L. K. et al. Allergens from fish and egg. *Allergy*, 2001. v. 56 Suppl 6, n. 6, p. 39–42.

ROSELL, C. M.; MATOS, M. E. Market and Nutrition Issues of Gluten-Free Foodstuff. *Advances in the Understanding of Gluten Related Pathology and the Evolution of Gluten-Free Foods*, 2015. v. 1, p. 675–713.

RYAN, L. A. M. et al. *Lactobacillus amylovorus* DSM 19280 as a novel food-grade antifungal agent for bakery products. *International Journal of Food Microbiology*, 2011. v. 146, n. 3, p. 276–283.

SAPONE, A. et al. Divergence of gut permeability and mucosal immune gene expression in two gluten-associated conditions: celiac disease and gluten sensitivity. *BMC Medicine*, 2011. v. 9, n. 1, p. 23.

SCHIEBERLE, P. Intense aroma compounds: Useful tools to monitor the influence of processing and storage on bread aroma. *Advances in Food Sciences*, 1996. v. 18, n. 5–6, p. 237–244.

SHAN, L. et al. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science*, 2002. v. 297, n. 5590, p. 2275–2279. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12351792>.

SIMSEK, S. et al. Effects of Gluten-Free Diet on Quality of Life and Depression in Children With Celiac Disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 2015. v. 61, n. 3, p. 303–6. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26322559>>.

STEPNIAK, D.; KONING, F. Celiac Disease-Sandwiched between Innate and Adaptive Immunity. *Human Immunology*.

STOLZ, P. et al. Utilization of electron acceptors by lactobacilli isolated from sourdough - I.

Lactobacillus sanfrancisco. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung, 1995. v. 201, n. 1, p. 91–96.

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, 2002. v. 79, n. 1, p. 45–51.

_____; GÄNZLE, M. G.; VOGEL, R. F. Fluorescence labeling of wheat proteins for determination of gluten hydrolysis and depolymerization during dough processing and sourdough fermentation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003. v. 51, n. 9, p. 2745–2752.

VILPPULA, A. et al. Clinical benefit of gluten-free diet in screen-detected older celiac disease patients. BMC Gastroenterology, 2011. v. 11, n. 136, p. 1–8. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-230X/11/136>>.

VOGELMANN, S. A. et al. Adaptability of lactic acid bacteria and yeasts to sourdoughs prepared from cereals, pseudocereals and cassava and use of competitive strains as starters. International Journal of Food Microbiology, 2009. v. 130, n. 3, p. 205–212.

VUYST, L. DE et al. Biodiversity, ecological determinants, and metabolic exploitation of sourdough microbiota. Food Microbiology, 2009. v. 26, n. 7, p. 666–675.

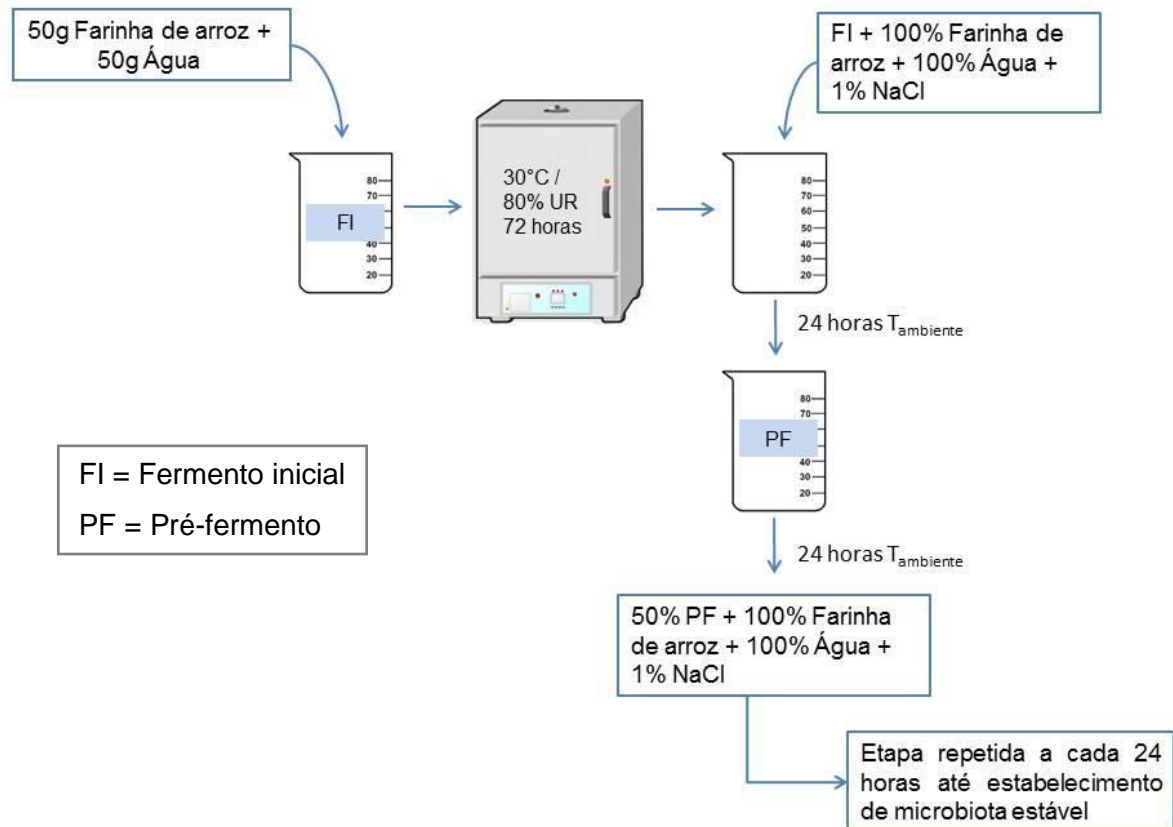
VUYST, L. DE; NEYSENS, P. The sourdough microflora: Biodiversity and metabolic interactions. [S.l.]: [s.n.], 2005. V. 16, p. 43–56.

_____; VANCANNEYT, M. Biodiversity and identification of sourdough lactic acid bacteria. Food Microbiology, 2007. v. 24, n. 2, p. 120–127.

WIESER, H.; KOEHLER, P.; KONITZER, K. Celiac Disease and Gluten: Multidisciplinary Challenges and Opportunities. [S.l.]: [s.n.], 2014.

APÊNDICES

APÊNDICE A – FLUXOGRAMA DE DESENVOLVIMENTO DO FERMENTO NATURAL A PARTIR DA FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA DE FARINHA DE ARROZ.



APÊNDICE B– TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do estudo: Desenvolvimento e Aplicação de Fermento Natural em Panificado Isento de Glúten
Pesquisador responsável: Leadir Lucy Martins Fries/Tatiane CodemTonetto - Universidade Federal de Santa Maria, Colégio Politécnico da Universidade Federal de Santa Maria. Avenida Roraima, 1000, prédio 70, (55) 3220-9419, ramal 239 - CEP: 97105-970; Santa Maria - RS. Local da coleta de dados: Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos da UFSM e/ou Colégio Politécnico da UFSM.

Eu **Tatiane CodemTonetto**, responsável pela pesquisa Desenvolvimento e Aplicação de Fermento Natural em Panificado Isento de Glúten, o convidamos a participar como voluntário deste nosso estudo. Esta pesquisa pretende desenvolver fermento natural isento de glúten e aplicá-lo em panificado com a mesma característica, a fim de melhorar as características sensoriais e nutricionais do referido produto. Acreditamos que esta pesquisa seja importante porque o uso do fermento natural proporcionará melhoria nas características tecnológicas e nutricionais de pães isentos de glúten, facilitando aos seguidores dessa dieta uma maior facilidade à aderência com inserção social e qualidade de vida. Para sua realização será feito o seguinte: primeiramente o fermento será desenvolvido, a partir de farinha de arroz, e posteriormente será aplicado como agente de crescimento em uma formulação de pão isento de glúten; todos os procedimentos estarão de acordo com o estabelecido pelas boas práticas de fabricação. Sua participação constará de provar as amostras de pães que lhes forem ofertadas (mesmas formulações com diferentes percentuais de fermento) e avaliar quanto aos atributos aparência, aroma, sabor e textura (sensação na boca) utilizando escala hedônica. Ainda, serão convidados a ordená-los em ordem crescente quanto às respostas sensoriais entre os três diferentes percentuais de fermento natural e o padrão (mesma formulação de pão com levedura comercial). Os participantes (provadores) serão informados antes da análise sensorial sobre todos os constituintes da formulação de cada pão e não serão obrigados a participar do projeto, sendo que caso possuam alergia ou sensibilidade a algum ingrediente presente no produto avaliado, estes não deverão participar do estudo. Em caso de participação, assinarão este termo em duas vias, os quais ficarão de posse de uma delas. Os produtos oferecidos serão seguros e de boa qualidade, e a realização desta degustação não representará risco potencial para a saúde do provador, a não ser, muito raramente, poderão ocorrer eventuais problemas relacionados à intolerância ou hipersensibilidade a algum ingrediente, podendo provocar quadros de alergia e desconforto estomacal. Os benefícios que esperamos com o estudo são: desenvolver pães com características tecnológicas próximas aos pães tradicionais feitos com farinha de trigo; determinar a quantidade ideal de fermento natural capaz de agregar sabor e melhora nos parâmetros avaliados de pão isento de glúten; obter produto comercial aceitável, de maior valor nutricional e que possa agregar benefícios à saúde do consumidor e evidenciar que é possível ofertar panificados isentos de glúten com custo acessível aos que necessitam de uma dieta restrita ou buscam melhoria na qualidade de vida. Durante todo o período da pesquisa você terá a possibilidade de tirar qualquer dúvida ou pedir qualquer outro esclarecimento. Para isso, entre em contato com algum dos pesquisadores ou com o Conselho de Ética em Pesquisa. Você tem garantido a possibilidade de não aceitar participar ou de retirar sua permissão a qualquer momento, sem nenhum tipo de prejuízo pela sua decisão. As informações desta pesquisa serão confidenciais e poderão divulgadas, apenas, em eventos ou publicações, sem a identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre sua participação. Também serão utilizadas imagens. Os gastos necessários para a sua participação na pesquisa serão assumidos pelos pesquisadores. Fica, também, garantida indenização em casos de danos comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa. Autorização Eu, _____, após a leitura ou a escuta da leitura deste documento e ter tido a oportunidade de conversar com o pesquisador responsável, para esclarecer todas as minhas dúvidas, estou suficientemente informado, ficando claro para que minha participação é voluntária e que posso retirar este consentimento a qualquer momento

sem penalidades ou perda de qualquer benefício. Estou ciente também dos objetivos da pesquisa, dos procedimentos aos quais serei submetido, dos possíveis danos ou riscos deles provenientes e da garantia de confidencialidade, bem como de esclarecimentos sempre que desejar. Diante do exposto e de espontânea vontade, expresso minha concordância em participar deste estudo.

Tatiane CodemTonetto

Assinatura do voluntário

APÊNDICE C– INSTRUMENTO PARA AVALIAÇÃO SENSORIAL

Avaliação de Aceitação

Nome:

Amostra:

Sexo: () Feminino () Masculino

Data:

Você está recebendo uma amostra codificada de pão. Deguste e marque a resposta que melhor reflita seu julgamento sobre cada característica do produto.

	Cor	Aroma	Sabor	Textura	Aceitação global
Gostei muitíssimo					
Gostei muito					
Gostei					
Indiferente					
Desgostei					
Desgostei muito					
Desgostei muitíssimo					

Obs: A aceitação global corresponde a quanto você gostou ou desgostou de um modo geral.

Comentários:

Intenção de Compra

Em caso de encontrar esse pão em um supermercado, avalie quanto a sua intenção de compra utilizando a escala abaixo:

- () certamente compraria
- () possivelmente compraria
- () talvez compraria/talvez não-compraria
- () possivelmente não compraria
- () certamente não compraria

Comentários:

APÊNDICE D – INSTRUMENTO PARA AVALIAÇÃO SENSORIAL

AVALIAÇÃO DE ORDENAÇÃO DE PREFERÊNCIA

Nome:

Idade:

Sexo: () Feminino () Masculino

Você está recebendo 4 amostras codificadas de pão isento de glúten.

Por favor, deguste as amostras de pão e ordene-as em ordem **CRESCENTE** em relação à preferência, quanto a **TEXTURA e SABOR dos pães**.

MENOS MACIO-----
MAIS MACIO-----
**MENOS
SABOROSO**-----
**MAIS
SABOROSO**

ANEXOS

ANEXO A – NORMAS PARA FORMATAÇÃO E SUBMISSÃO DA REVISTA ACTA SCIENTIARUM TECHNOLOGY

V. Diretrizes para Autores

POLÍTICA DE ACESSO ABERTO

Acta Scientiarum. Agronomy é publicada sob o modelo Acesso Aberto e permite a qualquer um a leitura e download, bem como a cópia e disseminação de seu conteúdo de acordo com as políticas de copyright Creative Commons Attribution 3.0.

APCs (TAXA DE PROCESSAMENTO DE ARTIGO) E TAXA DE SUBMISSÃO

Acta Scientiarum. Technology não cobra aos autores qualquer tipo de taxa de submissão ou publicação.

POLÍTICA CONTRA PLÁGIO E MÁIS-CONDUTAS EM PESQUISA

Continuando nossa tradição de excelência, informamos as melhorias editoriais que visam fortalecer a integridade dos artigos publicados por esta revista. Em conformidade com as diretrizes do [COPE](#) (*Committee on Publication Ethics*), que visam incentivar a identificação de plágio, más práticas, fraudes, possíveis violações de ética e abertura de processos, indicamos:

1. Os autores devem visitar o website do COPE <http://publicationethics.org>, que contém informações para autores e editores sobre a ética em pesquisa;

2. Antes da submissão, os autores devem seguir os seguintes critérios:

- Com o objetivo de evitar a **endogenia** e diversidade dos autores publicados, exigimos que, após a publicação na revista, os autores aguardem, no mínimo, 1 anos até publicarem qualquer outro artigo no periódico.
- artigos que contenham aquisição de dados ou análise e interpretação de dados de outras publicações devem referenciá-las de maneira explícita;
- na redação de artigos que contenham uma revisão crítica do conteúdo intelectual de outros autores, estes deverão ser devidamente citados;
- todos os autores devem atender os critérios de autoria inédita do artigo e nenhum dos pesquisadores envolvidos na pesquisa poderá ser omitido da lista de autores;
- a aprovação final do artigo será feita pelos editores e conselho editorial.

3. Para responder aos critérios, serão realizados os seguintes procedimentos:

- a) Os editores avaliarão os manuscritos com o sistema [CrossCheck](#) logo após a submissão. Primeiramente será avaliado o conteúdo textual dos artigos científicos, procurando identificar plágio, submissões duplicadas, manuscritos já publicados e possíveis fraudes em pesquisa;
- b) Com os resultados, cabe aos editores e conselho editorial decidir se o manuscrito será enviado para revisão por pares que também realizarão avaliações;
- c) Após o aceite e antes da publicação, os artigos poderão ser avaliados novamente.

INSTRUÇÕES PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS:

1. *Acta Scientiarum. Technology*, ISSN 1807-8664 (*on-line*), é publicada pela Universidade Estadual de Maringá, na modalidade publicação contínua.
2. Vimos informar que, a partir de 2018, o periódico publicará artigos originais nas áreas de: Biotecnologia; Bioenergia (enfoque tecnológico); Ciências Exatas e da Terra; Engenharias; Ciência, Tecnologia e Engenharia de Alimentos e suas subáreas, conforme classificação das Áreas do Conhecimento (CAPES, CNPq), com vistas à melhor avaliação e visibilidade.
3. Os autores se obrigam a declarar a cessão de direitos autorais e que seu manuscrito é um trabalho original, e que não está sendo submetido, em parte ou no seu todo, à análise para publicação em outro meio de divulgação científica sob pena de exclusão. Esta declaração encontra-se disponível no endereço: <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciTechnol/about/submissions>.
4. Os dados, ideias, opiniões e conceitos emitidos nos artigos, bem como a exatidão das referências, são de inteira responsabilidade do(s) autor(es). A eventual citação de produtos e marcas comerciais não significa recomendação de seu uso por parte do comitê editorial da revista.
5. Os relatos deverão basear-se nas técnicas mais avançadas e apropriadas à pesquisa. Quando apropriado, deverá ser atestado que a pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Biossegurança da instituição.
6. Os artigos submetidos deverão ser em inglês. Os autores devem providenciar uma versão com qualidade.
7. Os artigos serão avaliados por, no mínimo, três consultores da área de conhecimento da pesquisa, de instituições de ensino e/ou pesquisa nacionais e estrangeiras, de comprovada produção científica. Após as devidas correções e possíveis sugestões, o artigo será aceito se tiver dois pareceres favoráveis e rejeitado quando dois pareceres forem desfavoráveis.
8. Os artigos deverão ser submetidos pela internet, acessando o **Portal ACTA**, no endereço <http://www.uem.br/acta>.
9. O conflito de interesses pode ser de natureza pessoal, comercial, política, acadêmica ou financeira. Conflitos de interesses podem ocorrer quando autores, revisores ou editores possuem interesses que podem influenciar na elaboração ou avaliação de manuscritos. Ao submeter o manuscrito, os autores são responsáveis por reconhecer e revelar conflitos financeiros ou de outra natureza que possam ter influenciado o trabalho. Os autores devem identificar no manuscrito todo o apoio financeiro obtido para a execução do trabalho e outras conexões pessoais referentes à realização do mesmo. O revisor deve informar aos editores quaisquer conflitos de interesse que poderiam influenciar a análise do manuscrito, e deve declarar-se não qualificado para revisá-lo.
10. A revisão de português (Resumo) e a revisão de língua estrangeira serão de responsabilidade e custeados pelos autores dos artigos já aceitos para publicação, mediante comprovação emitida pelos revisores credenciados.
11. Os autores devem enviar um texto, em arquivo suplementar, contendo entre 150 e 200 palavras, endereçado ao Editor (não será publicado), informando sobre a **originalidade e a relevância** do seu trabalho.
12. **Declaração de Importância:** Os autores devem, obrigatoriamente, enviar uma breve declaração (Declaração de Importância) sobre o significado de sua pesquisa. Ela deverá ser escrita para um público em nível de graduação e limitada a 120 palavras. Será revisada pelos pares, junto com o artigo e será incluída na apresentação inicial. A Declaração de

Importância terá que abordar os seguintes aspectos: a novidade e o significado do trabalho em relação à literatura existente; o impacto científico e o interesse para os leitores.

13. Estão listadas abaixo a formatação e outras convenções que deverão ser seguidas:

- a)** No processo de submissão, deverão ser inseridos os nomes completos dos autores (no máximo seis), número identificador (ID) do ORCID, seus endereços institucionais e o *e-mail* do autor indicado para correspondência.
- b)** Os artigos deverão ser subdivididos com os seguintes subtítulos: Resumo, Palavras-chave, *Abstract*, *Keywords*, Introdução, Material e métodos, Resultados e discussão, Considerações finais, Agradecimentos (opcional) e Referências. Esses itens deverão ser em caixa alta e em negrito e não deverão ser numerados. Observa-se que, em caráter excepcional, pela característica da área da Matemática, os artigos poderão conter no seu *corpus* os itens Introdução, Conclusão e Referências.
- c)** O título, com no máximo vinte palavras, em português e inglês, deverá ser preciso. Também deverá ser fornecido um título resumido com, no máximo, seis palavras.
- d)** O resumo, não excedendo 200 palavras, deverá conter informações sucintas sobre o objetivo da pesquisa, os materiais experimentais, os métodos empregados, os resultados e a conclusão. Até seis palavras-chave que não estejam citadas no título deverão ser acrescentadas ao final tanto do resumo como do *abstract*.
- e)** Os artigos não deverão exceder 15 páginas digitadas, incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas. Deverão ser escritos em espaço 1,5 linhas e ter suas páginas numeradas no topo à direita e todas as linhas numeradas no lado esquerdo. O trabalho deverá ser editado no *MS-Word*, ou compatível, utilizando *Times New Roman* fonte 12.
- f)** O trabalho deverá ser formatado em A4 e as margens inferior, superior, direita e esquerda deverão ser de 2,5 cm.
- g)** O arquivo contendo o trabalho que deverá ser anexado (transferido), durante a submissão, não poderá ultrapassar o tamanho de 2 MB, nem poderá conter qualquer tipo de identificação de autoria, inclusive na opção propriedades do *Word*.
- h)** Tabelas, figuras e gráficos deverão ser inseridos no texto, logo depois de citados.
- i)** As figuras e as tabelas deverão ter preferencialmente 7,65 cm de largura e não deverão ultrapassar 16 cm.
- j)** As figuras digitalizadas deverão ter 300 dpi de resolução e preferencialmente gravadas no formato jpg ou png. Ilustrações em cores serão aceitas para publicação.
- k)** Deverá ser adotado o Sistema Internacional (SI) de medidas.
- l)** As equações deverão ser editadas, utilizando *software MathType* ou inserida como figura jpg ou png.
- m)** As variáveis deverão ser identificadas após a equação.
- n)** Artigos de revisão poderão ser publicados, mediante convite do Conselho Editorial ou Editor-Chefe da Eduem.
- o)** Artigos científicos redigidos em língua inglesa terão prioridade na pauta de publicação da revista, desde que respeitado o limite de 20% em cada fascículo.
- p)** A revista aceita um índice máximo de 5% de autocitações e, ainda, recomenda que oitenta por cento (80%) das referências bibliográficas sejam de artigos listados na base *ISI Web of Knowledge*, *Scopus* ou *SciELO* com menos de 10 anos. Recomenda-se dar preferência às citações de artigos internacionais. Não serão aceitas nas referências citações de monografias, dissertações e teses, anais, resumos, resumos expandidos, jornais, magazines, boletins técnicos e documentos eletrônicos.
- q)** As citações deverão seguir os exemplos abaixo, que se baseiam na norma da *American Psychological Association* (APA). **Para citação no texto**, usar o sobrenome e ano: Et (2001) ou (Et, 2001); **para dois autores**: Costa e Mansur (2008) ou (Costa & Mansur, 2008); **para três a cinco autores** (1.ª citação): Martín, Montes e Galán (2008) ou (Martín, Montes & Galán, 2008) e, nas citações subsequentes, Martín et al. (2008) ou (Martín et al., 2008); **para seis ou mais autores**, citar apenas o primeiro seguido de et al.: Parra et al. (2008) ou (Parra et al., 2008).

MODELOS DE REFERÊNCIAS

Deverão ser organizadas em ordem alfabética, alinhamento justificado, conforme os exemplos seguintes, que se baseiam na norma da *American Psychological Association* (APA). Os títulos dos periódicos deverão ser completos e não abreviados, sem o local de publicação. As referências deverão conter o DOI.

ARTIGOS

Um autor

Sarma, B. (2015). Some sequence spaces of fuzzy numbers defined by Orlicz function. *Acta Scientiarum. Technology*, 37(1), 85-87. DOI: 10.4025/actascitechnol.v37i1.16966

Dois autores

Costa Jr., E. S., & Mansur, H. S. (2008). Preparação e caracterização de blendas de quitosana/poli (álcool vinílico) reticuladas quimicamente com glutaraldeído para aplicação em engenharia de tecido. *Química Nova*, 31(6), 1460-1466.

Até sete autores (devem-se indicar todos os autores separados por vírgula, exceto o último que deve ser separado por vírgula seguido de &)

Parra, J. E. G., Radüna, N. J., Veiverberg, C. A., Lazzari, R., Bergamin, G. T., Pedron, F. A., & Sutili, F. J. (2008). Alimentação de fêmeas de jundiá com fontes lipídicas e sua relação com o desenvolvimento embrionário e larval. *Ciência Rural*, 38(7), 2011-2017.

Oito ou mais autores (devem-se indicar os seis primeiros, inserir reticências e acrescentar o último autor)

Levantesi, C., La Mantia, R., Masciopinto, C., Bocklmann, U., Ayuso-Gabella, M. N., Salgot, M., ... Grohmann, E. (2010). Quantification of pathogenic microorganisms and microbial indicators in three wastewater reclamation and managed aquifer recharge facilities in Europe. *Science of the Total Environment*, 408(1), 4923-4930.

LIVROS

Cowie, J. M. G. (2001). *Polymers: chemistry and physics of modern materials*. Cheltenham, UK: Chapman and Hall.

El-Rewini, H., & Abd-EL-Barr, M. (2005). *Advanced computer architecture and parallel processing*. Hoboken, NJ: John Wiley and Sons.

Schmal, M. (2005). Engenharia das reações químicas e catálise. In P. A. Melo Jr. (Ed.), *Fronteiras da Engenharia Química I* (p. 21-50). Rio de Janeiro, RJ: E-papers.

Prazo médio entre submissão e publicação dos artigos publicados em 2016: **15 meses**.

VI. Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita e não está sendo avaliada por outra revista.

2. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, Open Office ou RTF (desde que não ultrapasse 2MB).
3. Todos os endereços de páginas da Internet, incluídas no texto (Ex: <http://www.eduem.uem.br>) estão ativos e prontos para clicar.
4. O texto está em empaço 1,5; usa uma fonte de 12-pontos Times New Roman; emprega itálico ao invés de sublinhar (exceto em endereços URL); com figuras e tabelas inseridas no texto, e não em seu final. No máximo 15 páginas.
5. O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos em [Diretrizes para Autores](#), na seção Sobre a Revista.
6. Enviar indicação de 5 (cinco) consultores (nome e e-mail) no campo "comentários ao editor" logo abaixo.
7. Os manuscritos deverão ser submetidos em **INGLÊS**.
8. Os autores devem enviar um texto, em arquivo complementar, contendo entre 150 e 200 palavras, endereçado ao Editor (não será publicado), informando sobre a **originalidade e a relevância** do seu trabalho.
9. **Declaração de Importância:** Os autores devem, obrigatoriamente, enviar uma breve declaração (Declaração de Importância) sobre o significado de sua pesquisa. Ela deverá ser escrita para um público em nível de graduação e limitada a 120 palavras. Será revisada pelos pares, junto com o artigo e será incluída na apresentação inicial. A Declaração de Importância terá que abordar os seguintes aspectos: a novidade e o significado do trabalho em relação à literatura existente; o impacto científico e o interesse para os leitores.

VII. Declaração de Direito Autoral

DECLARAÇÃO DE ORIGINALIDADE E DIREITOS AUTORAIS

Declaro que o presente artigo é original, não tendo sido submetido à publicação em qualquer outro periódico nacional ou internacional, quer seja em parte ou em sua totalidade.

Os direitos autorais pertencem exclusivamente aos autores. Os direitos de licenciamento utilizados pelo periódico é a licença CreativeCommonsAttribution 3.0 (CC BY 3.0): são permitidos o compartilhamento (cópia e distribuição do material em qualquer meio ou formato) e adaptação (*remix*, transformação e criação de material a partir do conteúdo assim licenciado para quaisquer fins, inclusive comerciais).

Recomenda-se a leitura [desse link](#) para maiores informações sobre o tema: fornecimento de créditos e referências de forma correta, entre outros detalhes cruciais para uso adequado do material licenciado.

VIII. Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou à terceiros.

ANEXO B – NORMAS PARA FORMATAÇÃO E SUBMISSÃO DA REVISTA FOOD SCIENCE TECHNOLOGY

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Food Science and Technology (Campinas) publishes scientific articles in the field of food science. Works should be written in English and follow the editorial standards below.

Editorial Policy

Food Science and Technology (Campinas) accepts articles which present results from the original research and adopts a double-blind peer review process. The rejection of the manuscript can be decided by the Editor in Chief, Adjunct Associate Editor, and Associated Editors. The acceptance of the manuscript depends on the review of at least two anonymous referees designated by the Editorial Board. The referees' reviews will be sent to the authors to guide them in all needed changes related to their manuscripts. In the case of disagreement between their reviews, the final decision will be made by the Editor responsible for the manuscript or if he/she finds it necessary, another referee will be heard, and the three reviews will be analyzed by the sbCTA's Editorial Board, which will finally decide on the acceptance of the manuscript.

The accepted works will be published in the online version of this journal and in the SciELO library within twelve months.

Authorship

Authorship credit should be based only on substantial contributions and participation to the development of the work.

The corresponding author will serve on behalf of all coauthors as the primary correspondent with the editorial office during the submission and review process.

Terms of agreement and submitting rights of graphic reproduction

The corresponding author must sign and submit the [Terms of Agreement and Submitting Rights of Graphic](#) Reproduction to the sbCTA's Editorial Board on behalf of all coauthors. By signing the "Terms of Agreement and Submitting Rights of Graphic Reproduction", the authors agree:

- That neither this work nor one with substantially similar content has ever been previously published or is being considered for publication elsewhere;
- To submit the work and agree to name the corresponding author indicated;

To grant the Brazilian Society of Science and Food Technology (sbCTA) the rights of graphic reproduction if the work is accepted for publication.

Contents

The manuscript must present clear and concise results of a research based on scientific methods.

Review

Manuscripts should present an overview pertinent to the theme of the Journal with focus on literature published in the past five years.

Research

When presenting results of research involving humans, the approval process number granted by the Research Ethics Committee (resolution # 196/96, October 10th, 1996, Brazilian National Health Council) should be provided.

Paper

Reviewing the manuscript structure and information provided is the author responsibility. Original manuscripts should not exceed 16 pages (excluding the references).

The text should be spaced with double spacing between lines in a one-column format. All lines should be flush with left margin of column leaving a 2.5-cm margin at right and left. Text lines must be sequentially numbered throughout the text. All pages should be sequentially numbered (see the item "Files Format" at the end of this guide).

Cover Letter

The manuscript cover letter must include the following:

- Statement of work relevance and importance: a brief text with no more than 100 words describing the relevance of the work concisely;
- Titles:

a) Title in English;

b) Page header (no longer than 6 words).

Title

The manuscript title page must include the following:

Page

- Authors' full name and e-mail address;
- Authors' abbreviated names for citation (Ex.: full name: José Antonio da Silva; abbreviated name: Silva, J. A.);
- Authors' Affiliations: name of the institution to which each author belongs (full name and acronyms, full postal address, postal code, city, state, and country). Please correlate each author to their corresponding institution;
- Authors mailing information (full name, full postal address, telephone and FAX numbers, and corresponding author's e-mail address).

Abstract and keywords page

Abstract

The abstract must:

- Be only in English;
- Be a single paragraph containing fewer than 200 words;
- Clearly state the main objective and rationale of the article;
- State briefly the major conclusions;
- If applicable, describe materials methods and results;
- Summarize the conclusions;
- Be sparing with abbreviations and acronyms.

The abstract should not include:

- Footnotes;
- Significant data and statistical values;
- References.

Practical

Short text with a maximum of 85 characters, indicating innovations and important features of the study. The "Practical Application" will be published.

Application

Keywords

The manuscript should have at least three (3) and a maximum of six (6) Keywords. Keywords should be only in English. Avoid using terms included in the main text of the manuscript in the Keywords.

Text pages

The manuscript should be arranged as follows:

- Introduction;
- Materials and Methods; should include experimental design and statistical data analysis;
- Results and Discussion (may also be separated);
- Conclusions;
- References;
- Acknowledgements (optional).

In the main text:

- Abbreviations, acronyms, and symbols must be clearly defined on first usage;
- Footnotes are not permitted;
- The use of headings and subheadings is encouraged when necessary, but make use of them without compromising the text clarity. They should be numbered in the order in which they appear in the text;
- Equations should be computer generated and numbered sequentially with Arabic numerals in parentheses in the order in which they are referred to in the text. Equations should be referenced within the text and in the location indicated by the author. Please do not submit images of equations. Equations supplied separately will not be accepted; only those inserted in the text will be accepted.

Tables, Figures, and Charts

Provide a maximum of seven (7) Tables, Figures, and Charts. They should be numbered in Arabic numerals in the order they are called out in the text. In the Manuscript.pdf - version for reviewer's evaluation and in the Manuscript.doc - version for production, tables, equations, figures, charts and their respective captions should be included within the main text in the place indicated by the authors. Please see below the instructions for the version for production.

Figures and charts (version for production)

Figures and charts should be provided in the main text and numbered consecutively using Arabic numerals and their respective captions should be included within the main text in the place indicated by the authors. When supplying figures containing photographs or micrographs, ensure that they are scanned at a high resolution so that each photo is at least 1,000 pixels wide. All photographs should contain the author's name. Charts should be used to present files, schemes, and flowcharts.

Tables (version for production)

Tables should be provided in the main text and numbered using Arabic numerals. They should be embedded in the text in the place indicated by the author. Tables should be prepared using Microsoft Word® 2007 or after; they should not be imported from Excel® or Powerpoint®, and should:

- Have a caption and a title;
- Be self-explainable;
- Have the significant digits defined according to statistical criterion considering the significant digits in the standard deviation;
- Be used sparingly to ensure visual consistency and that the text is easy to read;
- Show data that are not shown in the graphs;
- Have the simplest format possible; the use of shadows, color, or vertical and diagonal rows is not permitted;
- Have only superscript lowercase letters indicating footnotes (abbreviations, units, etc). The columns should be indicated first and then the rows, and this same order should be followed for the footnotes.

Proprietary names

Raw materials, special purpose equipment and computer software used in the research should be specified (trademark- manufacturer, model, city, and country of origin).

Units of measure

- Use SI units; (International System of Units);
- Temperatures should be expressed in degrees Celsius (°C).

References**In-text citations**

Bibliographic references inserted in the text should be made according to the "Author/Date" system. For example, citation containing one author: Sayers (1970) or (Sayers, 1970); with two authors: Moraes&Furuie (2010) or (Moraes&Furuie, 2010); citations with more than two authors should show the name of the first author followed by the expression "et al.". When the citation refers to an institution, its name should be presented in full.

Reference list

Food Science and Technology (CTA) Journal adopts the style of citations and bibliographic references by the American Psychological Association - APA. The complete policy and tutorials can be verified at <http://www.apastyle.org>.

The reference list should be prepared first alphabetically and, if necessary, chronologically. Multiple references by the same author in the same year should be identified by letters 'a', 'b', 'c', etc. placed after the year of publication.

Articles under preparation or submitted for review should not be included in the references. The names of all authors should be listed in the references; therefore, the use of the expression 'et al.' is not allowed.

According to the determination by the sbCTA, accepted articles whose bibliographic references are not in compliance with the Journal's standards WILL NOT BE PUBLISHED until norms are met.

Examples of style for references:**Books**

Baccan, N., Aleixo, L. M., Stein, E., & Godinho, O. E. S. (1995). *Introdução à semimicroanálise qualitativa* (6. ed.). Campinas: EduCamp. Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP. (2006). *Tabela brasileira de composição de alimentos - TACO* (versão 2, 2. ed.). Campinas: UNICAMP/NEPA.

Book

Sgarbieri, V. C. (1987). *Composição e valor nutritivo do feijão Phaseolus vulgaris L.* In E. A. Bulisani (Ed.), *Feijão: fatores de produção e qualidade* (cap. 5; pp. 257-326). Campinas: Fundação Cargill.

Journal

Versantvoort, C. H., Oomen, A. G., Van de Kamp, E., Rempelberg, C. J., & Sips, A. J. (2005). Applicability of an in vitro digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food. *Food and Chemical Toxicology*, 43(1), 31-40. Sillick, T. J., & Schutte, N. S. (2006). Emotional intelligence and self-esteem mediate between perceived early parental love and adult happiness. *E-Journal of Applied Psychology*, 2(2), 38-48. Retrieved from <http://ojs.lib.swin.edu.au/index.php/ejap>

Electronic**work****(e-work)**

Richardson, M. L. (2000). *Approaches to differential diagnosis in musculoskeletal imaging* (version 2.0). Seattle: University of Washington School of Medicine. Retrieved

from <http://www.rad.washington.edu/mskbook/index.html>

Legislation

Brasil, Ministério da Educação e Cultura. (2010). Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências (Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010). Diário Oficial da República Federativa do Brasil.

Theses

Fazio, M. L. S. (2006). Qualidade microbiológica e ocorrência de leveduras em polpas congeladas de frutas (Dissertação de mestrado). Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto.

and

Dissertations

Articles previously presented at scientific conferences
Sutopo, W., NurBahagia, S., Cakravastia, A., & Arisamadhi, T. M. A. (2008). A Buffer stock Model to Stabilizing Price of Commodity under Limited Time of Supply and Continuous Consumption. In Proceedings of The 9th Asia Pacific Industrial Engineering and Management Systems Conference (APIEMS), Bali, Indonesia.

Files format

The main manuscript text should be submitted as follows:

Manuscript.pdf: version for reviewer's evaluation

- pdfformat;
- 12 point Times New Roman;
- Double spacingbetweenlines;
- Manuscript complete text [maximum of sixteen pages (16)];
- Figures and tables including respective captions should be embedded in the text in the location indicated by the author;
- Text lines and pages should be sequentially numbered;
- Should not include cover letter;
- Title page should not include the authors' names and Institutions;
- Should be named manuscritoavaliacao.pdf.

Manuscript.doc: version for production

- Microsoft Word® 2007 format (or after);
- 12 point Times New Roman;
- Double spacingbetweenlines;
- Figures, charts, tables, equations and with their respective captions should be embedded in main text in the place indicated by the authors;
- Text lines and pages should be sequentially numbered;
- Cover letter should be submitted separately;
- Title page should include the authors' names and institutions;
- Should be named manuscritoproducao.doc.

After checking the format style and creating the files according to the guidelines, proceed to the online submission using the On-line (Please, see below).

Link: <http://mc04.manuscriptcentral.com/cta-scielo>

Publicationfees:

The Food Science and Technology Journal (Campinas) will publish an article accepted for publication according to rates below:

- USD 270.00 - non-membersof SBCTA
- USD 200.00 - at least one author should be an SBCTA member and should have paid his/her annual membership fee to be eligible for the discount;
- USD 180.00 - at least two authors should be SBCTA members and should have paid their annual membership fee to be eligible for the discount;
- USD 160.00 - three authors should be SBCTA members and should have paid their annual membership fee to be eligible for the discount;
- USD 140.00 - at least four authors should be SBCTA members and should have paid their annual membership fee to be eligible for the discount;
- Contributing authors should convert commercial dollar rate of the date of deposit into Brazilian real.

The publication process will not begin until the fee for the accepted paper has been received. Feesmaybepaid as follows:

- Payment within Brazil: the invoice will be sent to the Editor by e-mail.
- International payment: PayPal invoice sent to the Editor by e-mail.

There is option of payment by creditcard

English Language review

Papers must be submitted in English, together with a letter attesting their editing, signed by a specialist in English language (native or non-native speaker). All editing of English should be accompanied by a letter detailing the adjustments made in the original document.

Before submitting online, the corresponding author should fill out and sign the Terms of Agreement and Submitting Rights of Graphic Reproduction form.

Submit this form via e-mail or fax to the sbCTA's Editorial Board to publicacoes@sbcta.org.br or +55 19 32410527. The evaluation process will not begin until the Terms of Agreement and Submitting Rights of Graphic Reproduction is sent and received.

Contact

Brazilian Society of Science and Technology / SBCTA
 Av. Brasil 2880 - 13001-970 Campinas - SP, Brasil - Caixa Postal: 271
 Fone/Fax: +55 (19) 3241-0527 - Fone: +55 (19) 3241-5793
 e-mail: publicacoes@sbcta.org.br