



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS  
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

**Efeito da fermentação por *Lactobacillus brevis* e  
*Saccharomyces cerevisiae* na qualidade  
tecnológica de panetone**

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por **Guilherme de Almeida Souza Tedrus** aprovada pela Comissão Julgadora em 26 de fevereiro de 2003.

**Guilherme de Almeida Souza Tedrus**  
Engenheiro de Alimentos

Campinas, 26 de fevereiro de 2003.

**Prof. Dr. Ahmed Atia El Dash**  
Orientador

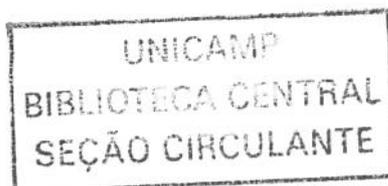
  
Prof. Dr. Ahmed Atia El-Dash  
Presidente da Banca

**Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da  
Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre em  
Tecnologia de Alimentos**

**Campinas - SP**

**2003**

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL



UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	T/UNICAMP T228e
V	EX
TOMBO BC/	53567
PROC.	124703
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	RS 11,00
DATA	01/05/03
Nº CPD	

CM00182318-1

BIB ID 289735

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

T228e

Tedrus, Guilherme de Almeida Souza  
Efeito da fermentação por *Lactobacillus brevis* e  
*Saccharomyces cerevisiae* na qualidade tecnológica do panetone  
/ Guilherme de Almeida Souza Tedrus. – Campinas, SP: [s.n.],  
2003.

Orientador: Ahmed Atia El-Dash  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de  
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Fermentação. 2.Saccharomyces cerevisiae. 3.Panificação.  
I.El-Dash, Ahmed Atia. II.Universidade Estadual de  
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.Título.

**BANCA EXAMINADORA**



---

Prof. Dr. Ahmed Atia El Dash  
FEA/UNICAMP  
Orientador



---

Profa. Dra. Fernanda Paula Collares  
FEA/UNICAMP  
Membro



---

Prof. Dr. Rui Sérgio Santos Ferreira da Silva  
TAM/CCA/UEL  
Membro

---

Prof. Dr. Yoon Kil Chang  
FEA/UNICAMP  
Membro

2008/5889

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Ahmed Atia El-Dash, pela orientação, apoio e acolhimento sempre muito carinhoso em todos os momentos deste período do mestrado.

Ao Prof. João Leônidas Machado, diretor da Escola Senai “Horácio Augusto da Silveira”, pelo apoio, incentivo e compreensão.

Aos colegas da Escola Senai “Horácio Augusto da Silveira” pelo incentivo, apoio e amizade que me auxiliaram muito neste período.

À Michele Rigon Spier, aluna da Engenharia de Alimentos da PUC-Paraná, por todo o auxílio nos processamentos e análises dos panetones.

Às Professoras Dr. Márcia Rapacci e Sílvia Dutcoski da PUC-Paraná pelo apoio técnico e incentivo.

Aos colegas do ITAL, em especial, a pesquisadora e mestre em tecnologia de alimentos Rita de Cássia S. C. Ormenese, pelo incentivo e colaboração.

Aos professores e funcionários dos Departamento de Tecnologia de Alimentos e de Pós-graduação e aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos-UNICAMP pela colaboração durante todo este período.

Aos membros da Banca Examinadora pelas sugestões e contribuições apresentadas.

À Regina, minha mãe, por todo o incentivo, apoio e amor durante toda a minha caminhada de vida.

À minha esposa, Márcia Rapacci, pelo total incentivo, apoio e compreensão, e ao nosso filho, João Guilherme, pela felicidade que nos traz, incentivando para que eu continue “crescendo”.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	<i>viii</i>
<b>SUMMARY</b> .....	<i>ix</i>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<i>x</i>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<i>xi</i>
<b>LISTA DE ANEXOS</b> .....	<i>xiii</i>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	4
2.1 Panificação.....	4
2.2 Formação do glúten.....	6
2.3 Considerações gerais sobre o panetone.....	8
2.4 Microflora natural da massa do panetone.....	9
2.5 Processo de fermentação da massa do panetone.....	11
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	16
3.1 Materiais .....	16
3.1.1 Ingredientes e aditivos .....	16
3.1.2 Embalagens .....	16
3.1.3 Materiais e reagentes .....	16
3.1.4. Equipamentos e vidrarias .....	17
3.2. Métodos .....	17
3.2.1 Farinografia .....	17
3.2.2 Extensografia .....	18
3.2.3 Falling Number .....	18
3.2.4 Glúten úmido .....	18
3.2.5 pH .....	18
3.2.6 Acidez total titulável .....	19
3.2.7 Umidade .....	19
3.2.8 Cinzas .....	19

3.2.9 Procedimentos de identificação, repicagem e manutenção do <i>Lactobacillus brevis</i> .....	20
3.2.9.1 Identificação do <i>Lactobacillus brevis</i> .....	20
3.2.9.2 Repicagem da cultura láctica.....	20
3.2.9.3 Contagem de cultura láctica.....	20
3.2.10 Volume específico .....	21
3.2.11 Baking test .....	21
3.2.12 Procedimento de fabricação do panetone .....	21
3.2.13 Descrição do processo .....	26
3.2.13.1 Processo de fermentação esponja-massa.....	26
3.2.13.2 Processo de fermentação direta.....	26
3.2.13.3 Divisão e modelamento da massa .....	27
3.2.13.4 Assamento.....	27
3.2.14 Planejamento experimental .....	27
3.2.14.1 Planejamento experimental do processo de produção de panetone obtido por fermentação esponja-massa .....	29
3.2.14.2 Planejamento experimental do processo de produção de panetone obtido por fermentação massa direta .....	30
3.2.15 Teste de preferência .....	31
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	32
4.1 Análise da farinha de trigo .....	32
4.2 Processo de fermentação esponja-massa .....	33
4.3 Processo de fermentação massa direta .....	39
4.4 Análise estatística .....	42
4.4.1 Processo de fermentação esponja-massa .....	43
4.4.1.1 Influência da temperatura e do percentual de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> no tempo de fermentação da esponja .....	43
4.4.1.2 Influência da temperatura e do percentual de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> no tempo de fermentação da massa .....	46
4.4.1.3 Influência da temperatura e do percentual de <i>Lactobacillus brevis</i> no tempo de fermentação da massa .....	49

4.4.2 Processo de fermentação massa direta .....	51
4.4.2.1 Influência da temperatura e do percentual de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> no tempo de fermentação da massa .....	51
4.4.2.2. Influência da temperatura e do percentual de <i>Lactobacillus brevis</i> no tempo de fermentação da massa .....	53
4.5 Análise sensorial dos panetones .....	56
4.6 Avaliação da vida-de-prateleira dos panetones .....	57
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	60
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	64
<b>7 ANEXOS</b> .....	69

## RESUMO

O panetone tradicional é um produto obtido por fermentação natural, envolvendo ação de leveduras e bactérias lácticas. O emprego de culturas lácticas promove maiores transformações durante a fermentação da massa trazendo benefícios ao produto como: produção de ácido láctico, que reduz o pH, favorecendo a retenção de umidade na massa; efeito sinérgico sobre o volume do pão quando combinadas com levedura *Saccharomyces cerevisiae*; produção de compostos aromáticos; além de produzirem ácido propiônico, aumentando a vida-de-prateleira do produto. Avaliar o efeito da fermentação por *Lactobacillus brevis* e *Saccharomyces cerevisiae* na qualidade tecnológica do panetone, através dos processos de fermentação esponja-massa e massa direta. Um delineamento composto central aplicado à Metodologia de Superfície de Resposta foi empregado com as seguintes variáveis independentes: quantidades percentuais de *Lactobacillus brevis*, *Saccharomyces cerevisiae* e temperatura de fermentação; as variáveis dependentes: tempo de fermentação da massa, umidade do panetone e avaliação sensorial pelo "Baking test". Foram realizadas análises físico-químicas nas esponjas, massas fermentadas e nos panetones, além de análises de acompanhamento da vida-de-prateleira aos 30 e 60 dias de fabricação. Os tempos de fermentação da massa variaram de 2,17 a 25,75 horas no processo esponja-massa e de 1,83 a 21,67 horas na massa direta. A umidade dos panetones variaram de 26,57 a 32,56 % para processos esponja-massa e de 27,23 a 31,00 % para massa direta. As pontuações da avaliação sensorial foram entre 35 a 84 para esponja-massa e de 45 a 73 na massa direta. O ensaio com melhor resultado na esponja-massa foi: 1,0 % de *Saccharomyces cerevisiae*, 3,0 % de *Lactobacillus brevis* e temperatura de fermentação de 23°C; e na massa direta com 0,3 % de *Saccharomyces cerevisiae*, 2,0 % de *Lactobacillus brevis* e temperatura de fermentação de 28°C. Os panetones do processo esponja-massa apresentaram resultados melhores na avaliação sensorial e na umidade. No estudo de vida-de-prateleira, os panetones de massa direta apresentaram perda média de umidade 5 % superior ao esponja-massa, nos primeiros 30 dias.

## SUMMARY

The panetone is a product obtained traditionally by natural fermentation, involving action of yeasts and lactic acid bacterias. The employment of lactic cultures promotes larger transformations during the fermentation of the dough bringing benefits to the product for examples: production of lactic acid, that reduces the pH, favoring the moisture retention in the dough; improve the volume of the panetone when combined with yeast (*Saccharomyces cerevisiae*); production of aromatic components; besides they produce propionic acid, increases the shelf-life of the product. To evaluate the effect of the fermentation by *Lactobacillus brevis* and *Saccharomyces cerevisiae* on the technological quality of panetone, during the processes of sponge-dough and direct dough fermentation. A central composite design was used to study the following independent variables: percentage amounts of *Lactobacillus brevis*, *Saccharomyces cerevisiae* and fermentation temperature; while the dependent variables were: fermentation time of dough, moisture content of the panetone and flavor evaluation by the "Baking test." Physical-chemical analyses were performed in the sponges, dough and in the final product, panetone, also after 30 and 60 shelf-life days .The fermentation times of the dough varied from 2,17 to 25,75 hours in the process sponge-dough and from 1,83 a 21,67 hours in the direct dough. The moisture of the panetones varied from 26,57 to 32,56 % to processes sponge-dough and from 27,23 to 31,00 % for direct dough. The flavor evaluation were varied from 35 to 84 for sponge-dough and from 45 a 73 in the direct dough. The better result in the sponge-mass was: 1,0% of *Saccharomyces cerevisiae*, 3,0% of *Lactobacillus brevis* and fermentation at 23°C; and in the direct mass with 0,3% of *Saccharomyces cerevisiae*, 2,0% of *Lactobacillus brevis* and fermentation at 28°C. The panetones of the process sponge-dough presented better results in the flavor evaluation and in the moisture. In the shelf-life study, the panetones of direct dough presented medium loss of moisture 5% greater than the sponge-dough.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Fluxograma genérico de fabricação de panetone por processo de fermentação esponja-massa .....	22
<b>Figura 2.</b> Fluxograma genérico de fabricação de panetone por processo de fermentação massa direta. ....	23
<b>Figura 3.</b> Efeito da temperatura e do percentual de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> no tempo de fermentação da esponja.....	46
<b>Figura 4.</b> Efeito da temperatura e do percentual <i>Saccharomyces cerevisiae</i> no tempo de fermentação da massa.....	49
<b>Figura 5.</b> Efeito da temperatura e do percentual <i>Lactobacillus brevis</i> no tempo de fermentação da massa.....	51
<b>Figura 6.</b> Efeito da temperatura e do percentual de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> no tempo de fermentação da massa.....	54
<b>Figura 7.</b> Efeito da temperatura e do percentual <i>Lactobacillus brevis</i> no tempo de fermentação da massa.....	56
<b>Figura 8.</b> Avaliação da maciez e do sabor dos melhores panetones produzidos pelos métodos de fermentação esponja-massa e massa direta.....	57
<b>Figura 9.</b> Umidade média dos panetones com 0, 30 e 60 dias de fabricação.....	58

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Formulação da massa do panetone fabricado com massa-esponja adicionada de culturas lácticas.....	24
<b>Tabela 2.</b> Formulação da esponja utilizada no processo esponja-massa.....	25
<b>Tabela 3.</b> Formulação da massa de panetone fabricado com massa direta.....	25
<b>Tabela 4.</b> Delineamento experimental para três variáveis independentes a cinco níveis com valores codificados.....	28
<b>Tabela 5.</b> Valores experimentais e os níveis das variáveis independentes...	29
<b>Tabela 6.</b> Variáveis dependentes analisadas no processo de fermentação esponja-massa.....	29
<b>Tabela 7.</b> Variáveis dependentes analisadas no processo de fermentação massa direta.....	31
<b>Tabela 8.</b> Valores médios das principais análises físicas, químicas e reológicas da farinha de trigo especial (marca Santista) e os padrões desejáveis para a farinha de trigo na produção de pães...	33
<b>Tabela 9.</b> Valores médios de pH e acidez titulável e o tempo de fermentação das esponjas produzidas pelo processo de fermentação esponja-massa.....	35
<b>Tabela 10.</b> Valores médios de pH e acidez titulável inicial e final e o tempo de fermentação das massas fermentadas pelo processo de fermentação esponja-massa.....	38
<b>Tabela 11.</b> Valores médios de pH, acidez titulável, umidade, volume específico e o resultado da avaliação sensorial pelo <i>Baking test</i> dos panetones recém-fabricados pelo processo de fermentação esponja-massa.....	39
<b>Tabela 12.</b> Valores médios de pH e acidez titulável inicial; pH e acidez titulável final; e tempo de fermentação da massa obtida pelo processo de fermentação massa direta.....	41

<b>Tabela 13.</b>	Valores médios de pH, acidez titulável, umidade, volume específico e os resultados da avaliação sensorial pelo <i>Baking test</i> dos panetones recém-fabricados obtidos pelo processo de fermentação massa direta.....	43
<b>Tabela 14.</b>	Valores codificados e decodificados das variáveis independentes: temperatura de fermentação (°C) e percentual de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%); e valores obtidos da variável resposta: tempo de fermentação da esponja (h).....	45
<b>Tabela 15.</b>	Valores codificados e decodificados das variáveis independentes: temperatura de fermentação (°C) e percentual de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%); e valores obtidos da variável resposta: tempo de fermentação da massa (h), processo esponja-massa.....	48
<b>Tabela 16.</b>	Valores codificados e decodificados das variáveis independentes: temperatura de fermentação (°C) e percentual de <i>Lactobacillus brevis</i> (%); e valores obtidos da variável resposta: tempo de fermentação da massa (h), processo esponja-massa.....	50
<b>Tabela 17.</b>	Valores codificados e decodificados das variáveis independentes: temperatura de fermentação (°C) e percentual de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%); e valores obtidos da variável resposta: tempo de fermentação da massa (h), para processo massa direta.....	53
<b>Tabela 18.</b>	Valores codificados e decodificados das variáveis independentes: temperatura de fermentação (°C) e percentual de <i>Lactobacillus brevis</i> (%); e valores obtidos da variável resposta: tempo de fermentação da massa (h), para processo massa direta.....	55
<b>Tabela 20.</b>	Valores médios de pH, acidez titulável, umidade e perda de umidade dos panetones com 30 dias de fabricação produzidos pelo processo de fermentação massa direta.....	59

## 1. INTRODUÇÃO

O panetone foi trazido de Piemonte, na Itália, em 1948 e lançado no Brasil em 1952 (CATTANI, 2001). Atualmente, o Brasil é o segundo maior mercado de panetones do mundo, com uma produção de 70 milhões de unidades de panetone/ano, com um faturamento em torno de R\$ 780 milhões/ano (CHIARA, 2001). A produção brasileira representa um terço da produção italiana, com crescimento anual em torno de 5,0% (CATTANI, 2001).

O emprego de culturas lácticas na indústria de panificação é uma tecnologia recente, embora, na Itália, por centenas de anos, tem-se utilizado a fermentação láctica no processo de fermentação natural de pães de massa doce, como é o caso particular do panetone (WOOD et al., 1985; SUGIHARA, 1985).

Na Itália, as culturas lácticas têm sido perpetuadas por séculos devido ao rigoroso cuidado que é tomado no momento da manutenção da esponja-mãe. A fermentação da esponja-mãe é continuamente monitorada por medidas de pH, acidez total titulável e contagem total de mesófilos (SUGIHARA, 1985).

O processo de fermentação de massas de trigo contendo bactérias lácticas resulta em maiores transformações na massa e nos produtos obtidos. Sendo que o ácido láctico é o metabólito produzido na massa fermentada e sua concentração, associada com a redução do pH, é freqüentemente usada como um parâmetro de controle na produção industrial de massa fermentada (WEHRLE & ARENDT, 1998).

Algumas bactérias lácticas, como o *Lactobacillus plantarum* e o *Lactobacillus brevis*, quando combinadas com a *Saccharomyces cerevisiae* apresentam um efeito adicional na produção de gás da massa fermentada, o que resulta num efeito sinérgico sobre o volume do pão. Este aumento é de 15% em

relação a uma massa fermentada apenas com *Saccharomyces cerevisiae* (MARTINEZ et al., 2000).

Além do efeito benéfico no auxílio da produção de gás e retenção de água da rede de glúten, o que resulta numa melhor textura, a fermentação láctica contribui para o aumento da vida-de-prateleira da massa ácida. Este aumento da vida-de-prateleira é devido à produção de ácido propiônico, metabólito produzido por algumas bactérias lácticas na fermentação da massa. Sabe-se que o ácido propiônico tem efeito inibidor sobre o crescimento dos fungos (LÖNNER & PREVE-ÅKESSON, 1989).

No Brasil, as duas maiores indústrias de panetone empregam a fermentação natural no processo industrial deste produto. A fermentação natural inicia-se com o preparo da esponja-mãe, que é fermentada em torno de 24 horas em condições especiais, contendo uma combinação de bactérias lácticas selecionadas naturalmente da farinha de trigo e mantidas em equilíbrio durante todo o ano. A técnica de manutenção da esponja-mãe exige um controle sistemático e diário representando um alto custo para estas empresas, no entanto, o produto final obtido apresenta excelentes características de sabor, aroma e textura, além de apresentar uma maior vida-de-prateleira.

Em relação ao panetone fabricado em padarias e pequenas empresas, o sistema de fermentação é o de massa-direta, ou seja, a massa é fermentada somente com a *Saccharomyces cerevisiae* em tempo relativamente curto, cerca de 1 a 2 horas de fermentação. Esta redução no tempo de fermentação da massa, em relação ao processo de fermentação natural, tem como consequência a obtenção de um produto de qualidade inferior.

O presente trabalho propõe uma nova opção tecnológica para a indústria de panetone nacional, com a utilização de cultura láctica por um processo mais simplificado, que não necessita de uma infra-estrutura tão complexa como aquela

existente nas grandes indústrias, que realizam o processo de fermentação natural, e ao mesmo tempo, otimizando os parâmetros do processo de fermentação de modo a obter um produto com características similares ao produzido por fermentação natural.

O objetivo geral é avaliar o efeito da fermentação por *Lactobacillus brevis* e *Saccharomyces cerevisiae* na qualidade tecnológica de panetone. Os objetivos específicos são:

- a) Definir através da metodologia de superfície de resposta os melhores parâmetros de temperatura e tempo de fermentação de panetone, bem como as quantidades adicionadas de *Lactobacillus brevis* e *Saccharomyces cerevisiae* nos processos de massa direta e esponja-massa.
- b) Estudar a vida-de-prateleira dos panetones produzidos por fermentação por massa direta e por esponja-massa em diferentes intervalos de tempo de produção( 0, 30 e 60 dias);
- c) Estabelecer uma avaliação comparativa, por meio de painel sensorial, entre o melhor panetone produzido por fermentação de massa direta com o melhor panetone produzido por fermentação esponja-massa, definidos previamente por metodologia de superfície de resposta.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Panificação**

Segundo a Legislação Brasileira (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2000), pão é o produto obtido pela cocção, em condições tecnologicamente adequadas, de uma massa fermentada ou não, preparada com farinha de trigo e/ou outras farinhas que contenham naturalmente proteínas formadoras de glúten ou adicionadas das mesmas e água, podendo conter outros ingredientes específicos para cada produto de acordo com sua classificação e/ou designação.

O processo de produção de pão compreende diversas etapas interrelacionadas, sendo descritas, a seguir, as principais, iniciando-se pela definição da formulação mais apropriada para o produto desejado e a escolha dos ingredientes com as características apropriadas.

O ingrediente principal em panificação é a farinha de trigo, devido especialmente à presença do glúten, que corresponde as proteínas insolúveis do trigo, responsáveis pela formação da massa do pão, quando a farinha de trigo e água são misturados. O glúten é constituído por duas proteínas, a gliadina, responsável pela extensibilidade da massa, e a glutenina, que confere a característica de elasticidade (FERRARI, 1998).

Os ingredientes opcionais para a produção de pães são: fibras; sal (cloreto de sódio); açúcar; mel e outros carboidratos que confirmam sabor doce; leite e derivados; óleos e gorduras; sementes e farinhas de cereais; leguminosas; raízes e tubérculos; ovos; proteínas; frutas secas ou cristalizadas; produtos cárneos; recheio; chocolates; coberturas; condimentos e outros ingredientes que não descaracterizem o produto.

Na sequência do processo, ocorre a etapa de mistura dos ingredientes, que tem como funções: a dispersão uniforme e completa dos ingredientes, incorporação de ar, e o desenvolvimento físico do glúten. Este glúten, desenvolvido adequadamente, confere uma massa de estrutura uniforme e características viscoelásticas desejadas (PYLER,1988).

Outra etapa fundamental é a fermentação, que, preferencialmente, deve ser realizada em condições controladas de temperatura e umidade relativa. Na fermentação, ocorrem as reações bioquímicas decorrentes da ação dos microrganismos e também das enzimas presentes em alguns ingredientes. Os microrganismos atuam sobre os açúcares disponíveis transformando-os em dióxido de carbono(gás) e álcool etílico, promovendo a expansão da massa. As enzimas  $\alpha$  e  $\beta$ -amilases presentes na farinha de trigo, ou adicionadas na formulação, atuam sobre o amido transformando-o em moléculas menores, dextrinas e açúcares, especialmente, a maltose (DUBOIS, 1984 ; MEUSER,1995).

Outra alteração importante durante esta etapa, se refere ao glúten, que se torna mais flexível e elástico, decorrente da ação de enzimas proteolíticas, da formação de vários ácidos orgânicos e inorgânicos e do aumento da concentração de íons. Com essas alterações, o glúten é capaz de formar um filme fino que retém a maior parte dos gases formados, mantendo as características de extensibilidade e elasticidade, impedindo a quebra da massa decorrente da pressão dos gases formados. Os ácidos desenvolvidos durante a fermentação aumentam a concentração de íons de hidrogênio da massa, provocando a dissociação no glúten, favorecendo a formação de filmes finos extensíveis, melhorando as propriedades de retenção de gás e expansão da massa. O tempo ideal para a massa alcançar estas características de elasticidade e capacidade de retenção de gás, ainda não está bem definido, porém, massas pouco ou excessivamente fermentadas não produzem pães de boa qualidade, segundo PYLER (citado em MACHADO,1996)

A etapa final do processo é o assamento ou forneamento, onde ocorrem diversas transformações, sendo as principais: expansão dos gases presentes na massa e produção de gases decorrentes da contínua ação dos microrganismos, ambas favorecendo o crescimento; gelatinização do amido e coagulação das proteínas, auxiliando na estruturação final do produto; inativação de enzimas e dos microrganismos adicionados para a fermentação; destruição e inativação de outros microrganismos presentes; perda de umidade e conseqüente redução da atividade de água; e desenvolvimento de sabor e aroma, influenciado pelos ingredientes utilizados e pelo processamento realizado (MACHADO,1996).

Segundo EL-DASH (citado em MACHADO,1996), o desenvolvimento do *flavor* do pão durante o cozimento é decorrente da Reação de Maillard, onde os amino grupos livres dos aminoácidos reagem com os grupos hidroxílicos dos açúcares em uma sequência de alterações complexas que resultam na formação de polímeros coloridos e compostos carbonílicos aromáticos que proporciona a cor dourada da crosta e o *flavor* típico do pão.

## **2.2 Formação do glúten**

Atualmente, existem quatro hipóteses sobre as propriedades de formação do glúten pelas proteínas presentes no trigo, o qual confere as massas as características viscoelásticas essenciais para produção de pães. A hipótese mais recente é proposta por EL-DASH (1991) baseada em dois fundamentos: a presença de forças de agregação secundárias responsáveis pela formação das cadeias e camadas na massa, e na existência de pontes dissulfídicas intermoleculares que agem unindo cadeias e camadas.

O estudo assume que durante o amadurecimento do grão de trigo ocorre uma exposição dos grupos não-polares nas moléculas de proteínas, enquanto que os grupos polares se voltam para o interior da molécula.

Durante a mistura, com o rompimento das moléculas de proteínas, os grupos são expostos, ocorrendo ligações entre moléculas através destes pontos secundários. As ligações dissulfídicas intermoleculares unem cadeias, proporcionando a ligação entre camadas, criando assim uma rede tridimensional de proteínas capaz de reter grande quantidade de água.

Com a continuidade da mistura as interações entre as várias cadeias de polímeros aumentam. Se a massa for supermisturada, segundo a hipótese, formarão regiões de alto grau de associação, as quais perderão a capacidade de reter água, como consequência, esta será expulsa resultando uma massa com aspecto fluido.

As características viscoelásticas da massa são explicadas da seguinte forma; a massa formada por cadeias de agregados de unidades de proteínas com pontes dissulfídicas entre cadeias, pode esticar sob força, voltando à forma original com o interrompimento da aplicação da mesma. Isto porque, quando se aplica força, ocorre a quebra nas ligações secundárias, que são pontos mais fracos, as ligações dissulfídicas são mais fortes e mantêm as unidades de proteínas unidas.

Os agentes redutores são capazes de quebrar ligações dissulfídicas (SS) e aumentar a extensibilidade e reduzir a resistência à extensão da massa. Segundo esta teoria, este fenômeno pode ser explicado da seguinte forma: os agentes redutores quebram as ligações dissulfídicas que unem as camadas permitindo que deslizem facilmente uma sobre as outras, aumentando a extensibilidade.

### 2.3 Considerações gerais sobre o panetone

Segundo a Legislação Brasileira (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2000), panetone é o produto fermentado, preparado, obrigatoriamente, com farinha de trigo, açúcar, gordura(s), ovos, leite e sal (cloreto de sódio). Quanto as características químicas, físicas e físico-químicas: o panetone deve conter no máximo 30g de umidade por 100g de produto; no máximo 6,0 mL de acidez, em solução normal por 100g de produto; e no mínimo 11,0 g de lipídios por 100g de produto. Deve-se ressaltar que as análises são realizadas na massa livre de recheio e cobertura.

Panetone é um bolo apreciado pela população mundial, produzido em grande escala na época natalina. Originário do norte da Itália, em Milão, o panetone é produzido através da fermentação natural. A mesma massa empregada para a produção de panetone também é utilizada para a produção de Colomba Pascal (SUGIHARA, 1977).

O panetone foi trazido de Piemonte, na Itália em 1948 e lançado no Brasil em 1952 (CATTANI, 2001). Atualmente, o Brasil é o segundo maior mercado de panetones do mundo, com uma produção de 70 milhões de unidades de panetone ao ano, com um faturamento em torno de R\$ 780 milhões ao ano (CHIARA, 2001).

A produção brasileira representa um terço da produção italiana, com crescimento anual em torno de 5,0% (CATTANI, 2001). A duas empresas líderes no segmento uniram-se para abastecer 70% do mercado.

Pesquisas recentes indicam que 54% dos consumidores brasileiros exigem o clássico panetone para a ceia de Natal. Segundo pesquisas da empresa líder no segmento, os consumidores preferem um panetone mais doce e com a massa mais úmida. O Brasil registrou nos últimos cinco anos uma explosão nas vendas de panetone, Pandoro e Colomba Pascal (CATTANI, 2001).

## 2.4 Microflora natural da massa do panetone

Segundo WOOD et al. (1985), panetone é um bolo com frutas produzido por processo de fermentação natural com duração de aproximadamente 24 horas. Os principais microrganismos envolvidos na fermentação da massa são do gênero *Lactobacillus*. As espécies mais encontradas em produtos de panificação são *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus delbruchii*, *Lactobacillus leichmanii*, *Lactobacillus brevis* e *Lactobacillus casei*, em ordem decrescente de ocorrência (SUGIHARA, 1977; SUGIHARA, 1985; BARBER et al., 1983; BARBER et al., 1987; LÖNNER & PREVE-ÄKESSON, 1989). Estes microrganismos por serem produtores de ácido láctico reduzem o pH da massa, o que influencia de modo favorável as características físicas, químicas e sensoriais do produto final (SUGIHARA, 1977; GUILLIAND, 1985; FOSCHINO et al., 1999).

O Pandoro, segundo SUGIHARA & ZORZANELLO (1982), é também um bolo produzido para as festas natalinas, originário também da Itália, em Verona, em torno de 1894. O processo de fermentação do pandoro envolve a ação de duas espécies de leveduras, *Saccharomyces exiguus*, presente no ecossistema da massa-mãe, e *Saccharomyces cerevisiae* adicionado na formulação, além das bactérias lácticas desenvolvidas na massa-mãe. A formulação do Pandoro apresenta um diferencial em relação ao panetone, pois contém maiores quantidades de gordura e açúcar, deixando-o com uma textura macia, estrutura interna aerada e leve, e as frutas cristalizadas e as uvas-passas não são adicionadas.

Além das bactérias lácticas, outros microrganismos são encontrados naturalmente na esponja-massa empregada na produção de pães (GÉLINAS & LACHANCE, 1995). Estudos realizados por BARBER et al. (1987) sobre a composição microbiana de massas-mãe industriais espanholas revelaram que a microflora da massa fermentada era composta por levedura *Saccharomyces*

*cerevisiae* e por cultura lácticas *Lactobacillus brevis* e *Lactobacillus plantarum*. GUILLIAND (1985) descreve as espécies mais importantes isoladas de massas de pão: *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*; e em massas doces são encontradas as espécies *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc cremoris* e *Streptococcus cremoris* (GUILLIAND, 1985).

O *Lactobacillus brevis* é caracterizado como uma bactéria láctica, heterofermentativa, microaerófila, mesófila, Gram positiva, apresentando catalase negativa. As bactérias lácticas estão relacionadas com a produção de alimentos de alta e média acidez, as quais participam como coadjuvantes no processo de fabricação de diversos produtos alimentícios (MARTINS, 1985).

SUGIHARA (1985) pesquisando os microrganismos predominantes de massas ácidas fermentadas verificou que a *Saccharomyces exiguus* e *Lactobacillus sanfrancisco* (conhecido como *Lactobacillus brevis*) desenvolvem-se em associação simbiótica. A levedura não é capaz de assimilar a maltose mas pode utilizar outros carboidratos presentes, incluindo a glicose. Por produzir uma enzima chamada maltose-fosforilase, a bactéria láctica age sobre a maltose, produzindo duas moléculas de glicose, sendo uma delas metabolizada pela própria bactéria e a outra molécula de glicose disponível para a levedura (FOSCHINO et al, 1995). A levedura é tolerante ao ácido acético e resistente a um antibiótico produzido pela bactéria. Tudo indica que a levedura supre os nutrientes essenciais da bactéria, que são suplementados pelos nutrientes da farinha (SUGIHARA et al., 1971).

## 2.5 Processo de fermentação da massa do panetone

Segundo OTTOGALLI & GALLI (1972), o processo de fermentação natural do panetone é um fenômeno microbiológico complexo. Envolve uma massa de farinha de trigo fermentada por uma levedura e duas ou mais bactérias lácticas que compõem o ecossistema. De acordo com estes autores, a principal levedura que compõe a microflora da massa ácida é a *Saccharomyces exiguus*.

A produção de panetone inicia-se com o completo desenvolvimento da esponja-mãe, a qual é composta de farinha, água e os microorganismos do ecossistema. Após 24 horas de fermentação, obtém-se uma esponja ácida denominada de esponja-mãe, a qual é realimentada, pelo menos 3 vezes com farinha, para obter quantidade suficiente na produção da massa. A massa é preparada com farinha, gordura, açúcar, água e adicionada da esponja-mãe. Esta mistura é incubada à 30°C por 8 horas. Após o período de fermentação, a massa é denominada de massa amarela. Os seguintes ingredientes são adicionados à massa amarela: farinha, água, gema de ovos, gordura, uva passa e frutas cristalizadas (SUGIHARA, 1985).

Após a homogeneização desta mistura, a massa é dividida, modelada e colocada na forma de papel especial para panetone. A massa é então fermentada por mais 8 a 10 horas a 30°C. A massa fermentada é finalmente assada por 1 hora em temperatura moderada. Para manter a forma e estrutura da massa, o panetone é resfriado lentamente por mais ou menos 20 horas (SUGIHARA, 1985).

Conforme SUGIHARA (1985), a preparação da esponja-mãe requer extremo cuidado, e sua fermentação deve ser continuamente monitorada por contagem microbiana e medidas de pH e acidez total titulável.

A fermentação da massa é efetuada numa faixa de temperatura entre 27 e 35°C, dependendo do tipo de microrganismo que compõem o inóculo. O tempo de

fermentação da massa é influenciado pelo teor de inóculo, açúcar, sal, temperatura de incubação da massa e o tipo de farinha (SUGIHARA, 1985).

O processo de fermentação esponja-massa diminui o tempo de fermentação da massa, mas aumenta o tempo total do processo de produção do panetone em função do tempo requerido para a fermentação da esponja. Se a massa é fermentada em um curto espaço de tempo, ela adquire uma estrutura coesa, no entanto, se o tempo de fermentação for muito longo a massa pode adquirir um sabor ácido e uma estrutura enfraquecida (SUGIHARA, 1985).

No processo de fermentação, a levedura, na presença de nutrientes, pH e temperatura controlada, se multiplica e libera no meio os seguintes metabólitos: álcool, dióxido de carbono, ácidos orgânicos e glicerol. Esses compostos orgânicos produzidos durante a fermentação contribuem de forma favorável para o aroma e sabor do produto final (SUGIHARA, 1977). GUILLIAND (1985) relata que em todos os produtos de panificação, a farinha do cereal utilizado contém substrato suficiente para suprir as necessidades nutricionais das bactérias lácticas envolvidas na produção de metabólitos como: ácido láctico, ácido acético, etanol, e diacetil. Muitas espécies de bactérias lácticas podem crescer em mistura de água e farinha, com ou sem a presença de uma levedura. No entanto, em processos onde a fermentação da esponja ocorre em combinação com a levedura e a bactéria láctica pode-se verificar que os dois microrganismos desenvolvem-se em simbiose (GUILLIAND, 1985).

Estudo realizado por BARBER et al. (1987), verificou-se que o pH final de massas fermentadas contendo bactérias lácticas, após um período de fermentação de 24 horas apresentou valores entre 3,8 e 4,0. No mesmo estudo, as diferenças de pH após 24 horas de fermentação mostraram que as bactérias lácticas reduziram o nível de pH de 2 a 2,3 unidades enquanto que as leveduras reduziram até 0,8 unidades de pH. De acordo com os autores, o abaixamento de pH na massa é de grande importância, pois modifica a capacidade de hidratação

das proteínas do glúten, influi na atividade fermentativa dos microrganismos e os sistemas enzimáticos presentes, alterando a qualidade final do pão, com aumento do volume e melhoria da textura, sabor e aroma.

FOSCHINO et al. (1995) encontraram um comportamento similar num estudo empregando-se o *Lactobacillus brevis* ( $10^9$  ufc/g) em um processo de fermentação mantido a temperaturas entre 18 e 24°C, durante 24 a 36 horas. Segundo os autores, o *Lactobacillus brevis* utiliza como fonte de carbono e energia a maltose e a glicose, produzindo elevada quantidade de ácido láctico, promovendo o abaixamento do pH da esponja-mãe a valores de pH próximos a 4,0. Seu crescimento é favorecido na presença de CO<sub>2</sub>, vitaminas do complexo B e do peptídeo piruvato.

Outro efeito benéfico na combinação das bactérias lácticas *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus brevis* com a *Saccharomyces cerevisiae* é o abaixamento do pH da massa. Num estudo realizado por MARTINEZ et al. (2000), verificou-se que a redução do pH de uma massa fermentada somente com *Sacchromyces cerevisiae*, após 3 horas de fermentação, foi de 5,6 para 5,4. No mesmo estudo, foi constatado que massa fermentada com *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus brevis*, na proporção de 1:1, com a *Saccharomyces cerevisiae* apresentou uma redução de pH de 5,6 para 4,35 após o mesmo período de tempo de fermentação.

De acordo com FOSCHINO et al. (1995), a produção de ácido láctico pelas culturas lácticas influencia a consistência, pois o abaixamento do pH aumenta a capacidade de retenção de água das proteínas do glúten. WEHRLE et al (1997) relataram que mudanças no nível de pH alteram o comportamento reológico da massa, uma vez que pequenas alterações nas características físicas e químicas da rede do glúten podem levar a significativas mudanças nas características reológicas do produto final.

Na fermentação da massa direta, o CO<sub>2</sub> produzido resulta na formação de moléculas grandes de gás. Neste caso, recomenda-se o processo de esponja-massa, de modo a provocar a subdivisão destas moléculas grandes em inúmeras moléculas menores de CO<sub>2</sub>, promovendo melhoria na textura do produto final. Nos dois processos, o ponto final da fermentação é quando a massa dobra de volume (QUAGLIA, 1991).

Em um estudo realizado por BARBER et al. (1987), verificou-se que a variação de pH de massas fermentadas contendo *Lactobacillus brevis* e outro lactobacilo não identificado, em 6 horas de fermentação, foi muito pequeno, inferior a 0,2 unidades de pH. Já, massas fermentadas contendo *Lactobacillus brevis* e *Lactobacillus plantarum* mostraram superior atividade. Em 6 horas de fermentação, houve abaixamento de 1,3-1,4 unidades de pH. Após um período de fermentação de 24 horas, o pH final de todas as massas apresentou valores médios entre 3,8 e 4,0.

Segundo BARBER et al. (1987), as massas fermentadas com bactérias lácticas apresentaram um aumento considerável na sua capacidade de produzir ácidos, alteração de pH e aumento da acidez total, em 24 horas de fermentação. O pH final foi muito próximo em todos os casos (3,8-4,0), ainda que a acidez total apresentou maior variação (6,4-10,8 mL NaOH 0,1N/10 g massa). Todas as bactérias lácticas acidificaram a massa produzindo maiores variações de pH e acidez que as leveduras.

Pesquisadores têm estudado a influência de diferentes tipos de bactérias lácticas nas propriedades de pão elaborado com massa fermentada e também correlacionam dados de análises com o sabor do produto final. A inoculação de massas fermentadas inoculadas com *Lactobacillus brevis ssp. lindneri* (ou *Lactobacillus sanfrancisco*) fornece boas características físicas, químicas e sensoriais ao produto final. Entretanto, a massa fermentada com uma bactéria láctica homofermentativa não apresenta alteração no aroma e sabor. Em países

como a Itália, França e Espanha, as culturas lácticas utilizadas no processo de fermentação de massas de pães já estão praticamente definidas. Algumas destas culturas lácticas são apresentadas na forma pura, compostas de bactérias homofermentativa ou heterofermentativa. Porém, outra maneira de obter uma massa ácida, é utilizar aditivos como ácido láctico ou ácido cítrico. Comparado com as massas fermentadas, entretanto, os aditivos acidificantes dão efeito menos positivo na elasticidade do miolo, aroma, sabor, frescor e efeito inibidor de fungos e bolores (LÖNNER & PREVE-ÄKESSON, 1989).

Segundo FOSCHINO et al.(1995), são utilizados na fermentação natural para a produção de panetone, Colomba e Pandoro, na Itália, a levedura *Saccharomyces exiguus* e a bactéria láctica *Lactobacillus brevis*. A levedura contribui através da fermentação alcoólica para um produto poroso através da formação de CO<sub>2</sub> e contribuindo para a formação do aroma através do metabolismo secundário que resulta na formação de glicerina, ácidos orgânicos e álcool superior. Por outro lado, a bactéria láctica possui atividade acidificante da massa, produzindo quantidade elevada de ácido láctico e ácido acético, resultando num produto de sabor ácido e com melhor consistência, uma vez que o abaixamento de pH aumenta a capacidade de hidratação das proteínas do glúten. Posteriormente, a bactéria láctica possui capacidade proteolítica, principalmente as bactérias heterofermentativas, como é o caso do *Lactobacillus brevis*, que libera peptídios e aminoácidos no meio, o que contribui de forma favorável na formação do aroma e no aumento do teor de água absorvida pela massa em função do aumento do teor de proteínas solúveis (FOSCHINO et al., 1995).

As bactérias lácticas *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus plantarum*, *Propionibacterium acidi-propionici* e *Pediococcus jensenii* foram estudadas por JAVANAINEN & LINKO (1993) como bactérias produtoras de ácido propiônico. Estas bactérias foram selecionadas de acordo com suas habilidades de produz ácido acético, ácido láctico e ácido propiônico no substrato à base de farinha de trigo contendo alfa-amilase.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Materiais**

##### **3.1.1 Ingredientes e aditivos**

Foram utilizados os seguintes ingredientes para o preparo da massa de panetone: farinha de trigo, água, açúcar refinado, gordura vegetal hidrogenada, gema de ovos desidratada, leite em pó desnatado, glicose de milho, sal refinado, uvas-passas, frutas cristalizadas, melhorador de farinha, emulsificante mono diglicerídios, propionato de cálcio, aroma artificial de panetone e aroma de manteiga. Os seguintes coadjuvantes tecnológicos foram utilizados: fermento biológico seco instantâneo, cultura láctica reativada em *slants* de *Lactobacillus brevis* CCT 3745 ATCC 14869 adquiridos da Fundação André Tosello; anti-mofo CONSPRAY e álcool de cereais.

##### **3.1.2 Embalagem**

Os panetones foram acondicionados em forma de papel de 250 gramas embalados em sacos plásticos transparentes de polipropileno.

##### **3.1.3 Materiais e reagentes**

Durante o desenvolvimento deste trabalho de pesquisa, foram utilizados os seguintes reagentes: água deionizada, solução de hidróxido de sódio 0,1N padronizada, indicador fenolftaleína 1,0 %, meio de cultura MRS, peptona bacteriológica, solução salina a 2 % e semente de painço.

### **3.1.4 Equipamentos e vidrarias**

Foram utilizados os seguintes equipamentos para o desenvolvimento deste projeto de pesquisa:

- Agitador magnético Fisatom modelo 752;
- Aparelho de Hagberg (“Falling Number”);
- Autoclave vertical Phoenix;
- Balança eletrônica analítica CG-Libror modelo 210 e semi-analítica Marte modelo AS2000C;
- Capela de fluxo laminar Quimis modelo Q216F2;
- Deionizador Permutation;
- Estufa de secagem Fanem modelo 315 SE;
- Extensógrafo Brabender;
- Farinógrafo Brabender;
- Forno e estufa combinada marca Perfecta modelo Vipão;
- Masseur para 15 kg de farinha marca Perfecta;
- Microscópio Olympus BX40;
- Mufla Pyrotec;
- pHmetro digital Quimis Q400A;
- Sistema de medição de volume de pão;
- Vidrarias e utensílios (pipetas graduadas e volumétricas, balões volumétricos, buretas, béqueres, erlenmeyers, provetas, bastões de vidro, cápsulas de porcelana e de alumínio, vidros de relógio, dessecadores de vidro, tubos de ensaio com tampa, espátulas, colheres, funil de vidro, etc).

## **3.2. Métodos**

### **3.2.1 Farinografia**

O método oficial empregado para a determinação da qualidade da farinha de trigo pelo farinógrafo Brabender foi o método da AACC 54-21 (1989).

### **3.2.2 Extensografia**

O método oficial utilizado para a determinação da qualidade da farinha de trigo pelo extensógrafo Brabender foi o método da AACC 54-10(1989).

### **3.2.3 Falling Number**

O método oficial de análise utilizado para a determinação do índice de queda (Falling Number) da farinha de trigo foi o método da AACC 56-81B (1989), utilizando-se o aparelho de Hagberg.

### **3.2.4 Glúten úmido**

Para a determinação do glúten úmido da farinha de trigo, foi utilizada a seguinte metodologia: pesou-se 10,0 gramas de farinha de trigo num béquer de 50 mL, adicionou-se 5,5 mL de solução salina 2 % à farinha contida no béquer. Misturou-se a farinha e a solução salina com uma espátula até obter uma bola de massa bem homogênea, com o cuidado de evitar a aderência do material ao béquer ou na espátula. Lavou-se a bola de massa por cerca de 12 minutos, com solução salina a 2 % até obter uma goma coesa, que é o glúten. Prosseguiu-se a lavagem com água corrente até a água resultante da lavagem apresentasse transparência, pois, se ainda houvesse amido, a água de lavagem apresentaria turbidez. Retirou-se o excesso de água do glúten obtido comprimindo-o entre placas de vidro e pesou-se. Calculou-se a porcentagem de glúten úmido multiplicando o peso por 10 ( método AACC 38-11,1989).

### **3.2.5 pH**

O método oficial utilizado para a determinação do pH da farinha de trigo, esponja-massa, massa fermentada bem como do panetone com 0, 30 e 60 dias de fabricação foi recomendado pela AOAC 943.02, empregando-se o pHmetro.

### **3.2.6 Acidez total titulável**

A acidez total titulável da farinha de trigo, esponja-massa, massa fermentada bem como do panetone com 0, 30 e 60 dias de fabricação foi determinada segundo as normas analíticas para cereais e amiláceos do Instituto Adolfo Lutz descrito por PREGNOLATTO (1985). Os reagentes utilizados foram solução de hidróxido de sódio 0,1N padronizada e indicador fenolftaleína, agitador magnético e béquer para a homogeneização da solução contendo a amostra.

### **3.2.7 Umidade**

A umidade da farinha de trigo e dos panetones com 0, 30 e 60 dias de fabricação foi determinada em estufa de secagem a 130°C por 02 horas, conforme método descrito por PREGNOLATTO (1985) baseado nas normas analíticas para cereais e amiláceos do Instituto Adolfo Lutz.

### **3.2.8 Cinzas**

A determinação das cinzas da farinha de trigo foi baseada na metodologia descrita por PREGNOLATTO (1985), segundo as normas analíticas para cereais e amiláceos do Instituto Adolfo Lutz. As cinzas da farinha de trigo foram determinadas em mufla a 550°C até peso constante.

### **3.2.9 Procedimentos de identificação, repicagem e manutenção do *Lactobacillus brevis***

#### **3.2.9.1 Identificação do *Lactobacillus brevis***

Para a identificação e caracterização do *Lactobacillus brevis* empregou-se o método de coloração de Gram e a visualização da cultura através do microscópio Olympus BX 40.

#### **3.2.9.2 Repicagem da cultura láctica**

Após o recebimento das culturas lácticas efetuou-se a repicagem em leite reconstituído a 12,5 % contendo 0,2 % de extrato de levedura previamente esterilizado em autoclave (121°C por 15 minutos). A porcentagem de inóculo utilizada para a repicagem da cultura de *Lactobacillus brevis* foi de 4 %. Após a repicagem, a cultura de *Lactobacillus brevis* foi incubada em estufa a 30 à 35°C e mantida até atingir pH 4,6, momento em que ocorre a coagulação do leite. Após a coagulação do leite, a cultura estava ativada e pronta para ser utilizada nos ensaios dos planejamentos experimentais. Este procedimento está de acordo com a metodologia descrita por OLIVEIRA (1989).

#### **3.2.9.3 Contagem de cultura láctica**

A contagem de *Lactobacillus brevis* no leite coagulado foi realizada seguindo-se metodologia descrita por SILVA, JUNQUEIRA & SILVEIRA (1997), utilizando-se o meio de cultura enriquecido Ágar de Man, Rogosa e Sharpe (MRS), para favorecer o crescimento de *Lactobacillus brevis*. A ativação e manutenção da cultura de *Lactobacillus brevis* são necessárias durante o desenvolvimento do projeto, para que haja a padronização da contagem de células viáveis de lactobacilos adicionados à massa.

### **3.2.10 Volume específico**

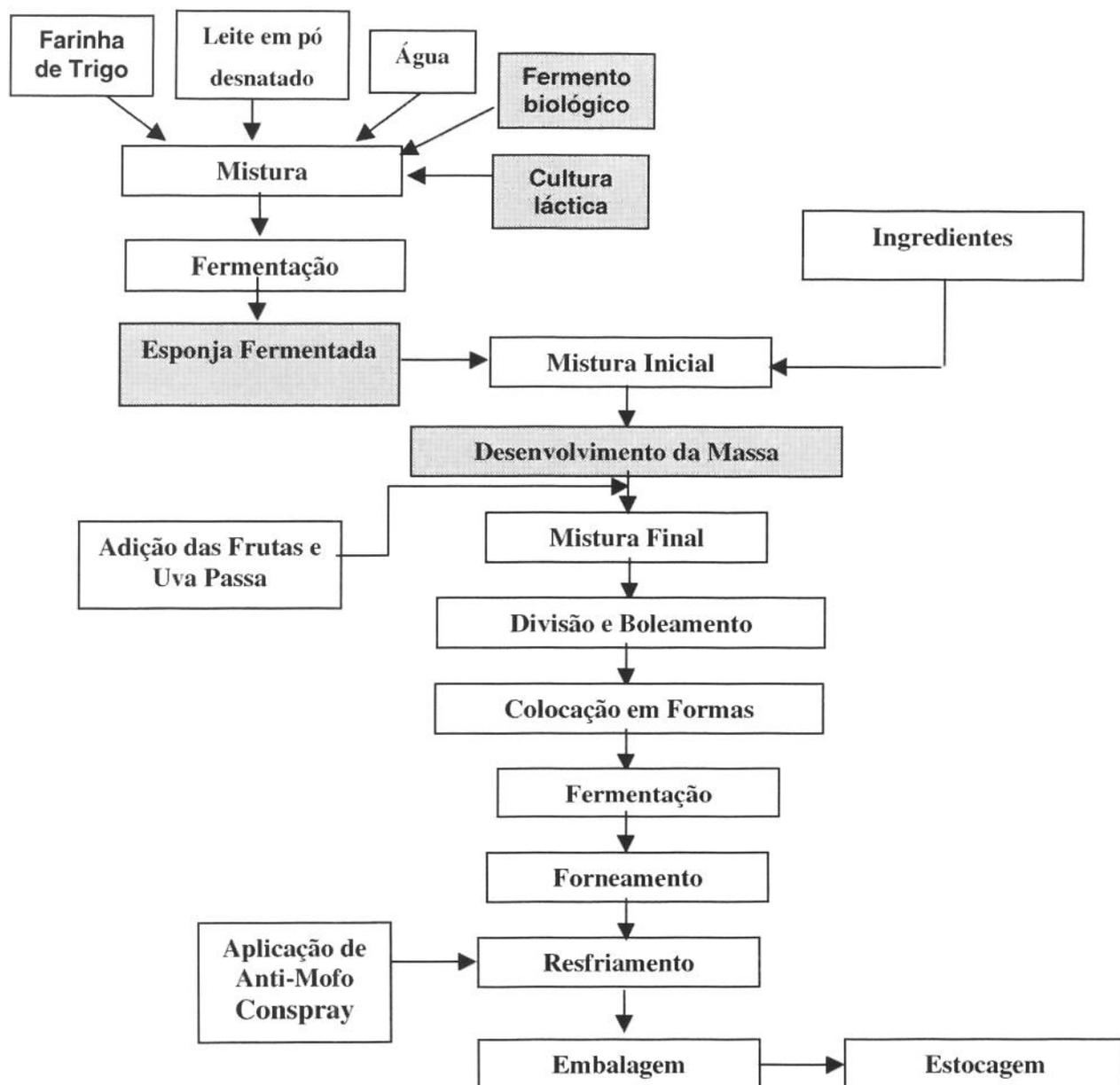
O volume específico dos panetones foi determinado empregando-se metodologia descrita por EL-DASH (1971).

### **3.2.11 Baking test**

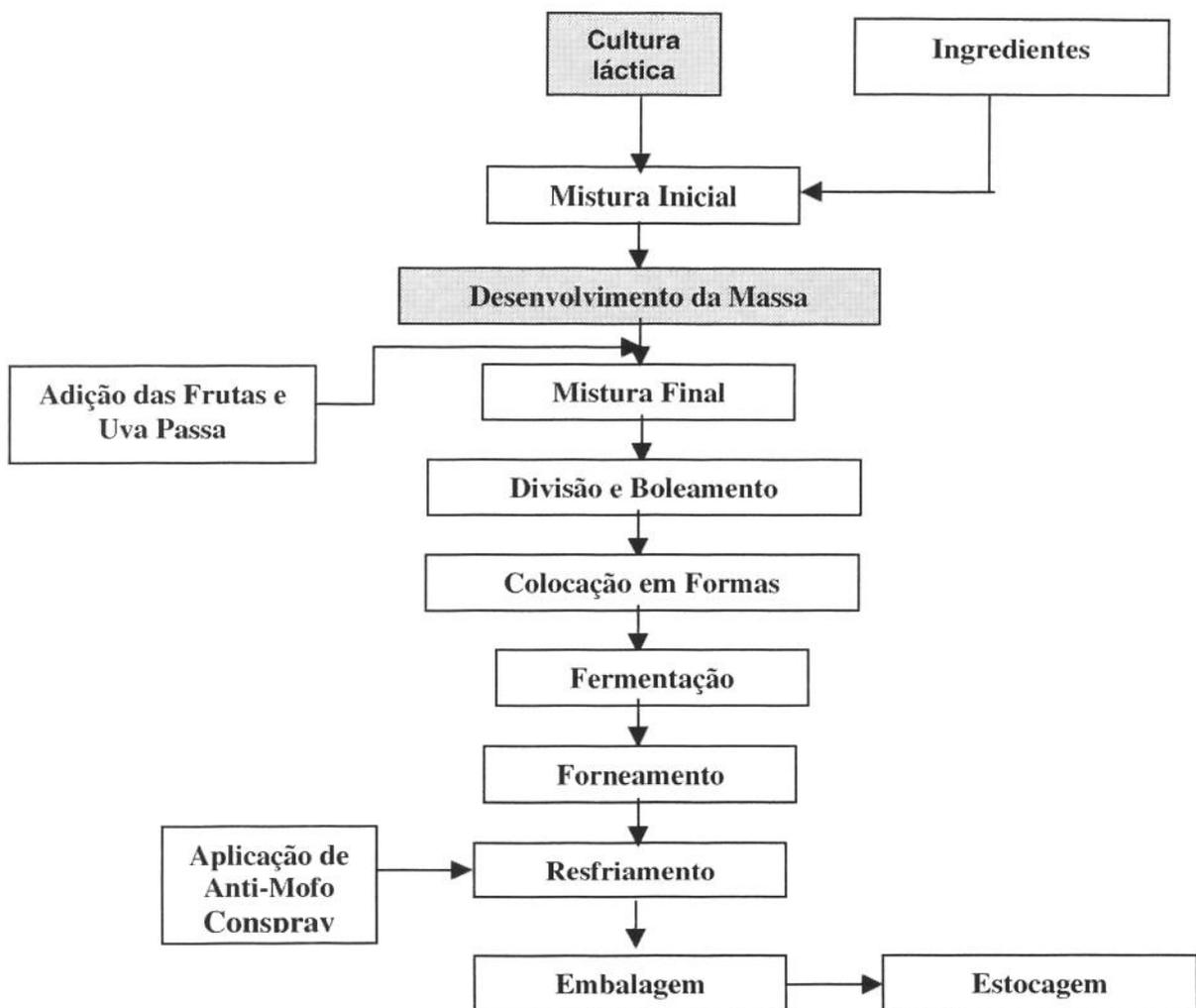
As características sensoriais dos panetones foram avaliadas de acordo com os parâmetros do “*Baking test*”, empregando-se metodologia recomendada por EL-DASH (1971).

### **3.2.12 Procedimento de fabricação do panetone**

A técnica de fabricação do panetone que foi empregada neste trabalho baseou-se na tecnologia tradicional, conforme citado por TEDRUS & ORMENESE (1995). As Figuras 1 e 2 ilustram os fluxogramas genéricos do processamento do panetone para os processos de fermentação esponja-massa e massa direta, respectivamente.



**Figura 1.** Fluxograma genérico de fabricação de panetone por processo de fermentação esponja-massa.



**Figura 2.** Fluxograma genérico de fabricação de panetone por processo de fermentação massa direta.

A formulação do panetone fabricado pelo processo de fermentação esponja-massa encontra-se descrita na Tabela 1, sendo que a quantidade prevista de farinha de trigo para cada uma das formulações é de 2,0 kg, que representa 100,0 % na formulação descrita. A Tabela 2 ilustra a formulação da esponja pelo método esponja-massa.

**Tabela 1.** Formulação da massa do panetone fabricado com massa-esponja adicionada de culturas lácticas.

<b>Ingredientes e Aditivos</b>	<b>Quantidades (%)</b>
Farinha de trigo	100,0
Água	40,0
Esponja fermentada	20,0
Açúcar refinado	18,0
Gordura vegetal hidrogenada	15,0
Gema de ovos desidratada (55 % umidade)	10,0
Fermento biológico desidratado instantâneo ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )	0,3 a 3,7
Leite em pó desnatado	5,0
Glicose de milho	1,5
Melhorador de farinha	1,0
Emulsificante – mono e diglicerídeos em pó	1,0
Aroma de panetone	0,5
Aroma de manteiga	0,1
Sal refinado	0,45
Uvas passas	20,0
Frutas cristalizadas	20,0
Propionato de cálcio (100g/50kg farinha)	0,2

Os ingredientes foram colocados em percentuais referentes ao peso da farinha de trigo adicionada e não ao total da formulação. A quantidade de aromas foi avaliada e definida previamente de acordo com sua concentração. A

porcentagem indicada de aditivos respeita os limites estabelecidos pela legislação específica para panetone.

**Tabela 2.** Formulação da esponja utilizada no processo esponja-massa.

<b>Ingredientes</b>	<b>Quantidades (%)</b>
Farinha de trigo	100,0
Água	60,0
Leite em pó desnatado	5,0
Fermento biológico seco instantâneo	0,3 a 3,7
Cultura láctica de <i>Lactobacillus brevis</i>	0,3 a 3,7

A formulação do panetone fabricado com o processo de fermentação massa direta encontra-se descrita na Tabela 3.

**Tabela 3.** Formulação da massa de panetone fabricado com massa direta.

<b>Ingredientes e Aditivos</b>	<b>Quantidades (%)</b>
Farinha de trigo	100,0
Água	40,0
Açúcar refinado	18,0
Gordura vegetal hidrogenada	15,0
Gema de ovos desidratada (55 % umidade)	10,0
Fermento biológico desidratado instantâneo	0,3 a 3,7
Cultura láctica de <i>Lactobacillus brevis</i>	0,3 a 3,7
Leite em pó desnatado	5,0
Glucose de milho	1,5
Melhorador de farinha	1,0
Emulsificante mono e diglicerídeos em pó	1,0
Aroma de panetone	0,5
Aroma de manteiga	0,1
Sal refinado	0,45
Uvas-passas	20,0
Frutas cristalizadas	20,0
Propionato de cálcio (100g/50kg farinha)	0,2

### **3.2.13 Descrição do processo**

#### **3.2.13.1 Processo de fermentação esponja-massa**

##### **Preparo da esponja**

Para a fabricação do panetone empregando-se o processo esponja-massa, foi preparada a esponja misturando-se os ingredientes conforme formulação apresentada na Tabela 2, tendo-se o cuidado para que a quantidade de esponja representasse 20 % da formulação da massa como ilustra a Tabela 1. Apesar de se utilizar esta porcentagem na massa, preparou-se maior quantidade de esponja, já que durante a sua fermentação foram retiradas amostras da esponja para análises de pH e acidez total titulável. A esponja foi colocada num recipiente apropriado e submetida à incubação em estufa com temperatura controlada (32°C). A fermentação da esponja foi interrompida quando a mesma atingiu pH 4,1.

##### **Preparo da massa**

Após o preparo da esponja (pH 4,1), procedeu-se ao preparo da massa. A esponja com ingredientes secos e água morna (25 a 30°C) foram colocados na masseira e homogeneizados por 3 minutos. Em seguida, adicionou-se a gordura, a glicose e os aromas e iniciou-se a homogeneização por mais 3 minutos. Por último, adicionaram-se as frutas cristalizadas e as uvas passas.

#### **3.2.13.2 Processo de fermentação massa direta**

No processo de fermentação massa direta, a cultura láctica previamente ativada foi adicionada diretamente à masseira com os ingredientes secos e a água morna (25 a 30°C), homogeneizando-se a mistura por 3 minutos. Em seguida, foram adicionadas a gordura, a glicose e os aromas, e fez-se novamente a

homogeneização por mais 3 minutos. Após obtenção de uma massa homogênea, adicionaram-se as frutas cristalizadas e as uvas passas.

#### **3.2.13.3 Divisão e modelamento da massa**

Para ambos os processos, a massa obtida foi retirada da masseira, dividida, modelada manualmente no formato de bola, acondicionada nas formas de papel para panetone de 250 gramas, com a parte lisa para cima, e levadas à estufa na temperatura determinada até o tempo estabelecido como ótimo de fermentação. O tempo ótimo de fermentação foi determinado de acordo com as características de elasticidade da massa e altura na forma de panetone.

#### **3.2.13.4 Assamento**

Ao atingir seu ponto ótimo de fermentação, a massa foi, então, levada ao forno para assamento da massa à 130°C por 16 minutos. Após o assamento, os panetones foram retirados do forno e mantidos em temperatura ambiente para o resfriamento, por aproximadamente 2 horas, em local isento de poeira e sem ventilação excessiva.

Após o resfriamento, foi aplicado na superfície dos panetones uma solução de antimoho, preparado conforme instruções do fabricante, utilizando-se aproximadamente 3 mililitros de solução por unidade de panetone. Posteriormente, os panetones foram embalados em sacos de polipropileno, fechados e armazenados à temperatura ambiente em local seco e ventilado.

#### **3.2.14. Planejamento experimental**

O planejamento experimental foi realizado com o objetivo de estudar os possíveis efeitos das variáveis do processo, além de estabelecer modelos estatisticamente válidos para descrever as interações existentes entre as variáveis

do processo e os resultados, utilizando para a análise destes resultados a metodologia de superfície de resposta (NETO, SCARMINIO & BRUNS, 1995).

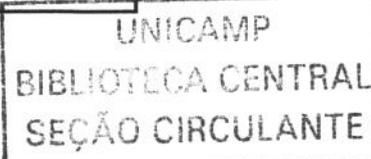
No projeto, ficou estabelecido a execução de dois planejamentos: (1) planejamento experimental do processo de panetone obtido por fermentação esponja-massa e (2) planejamento experimental do processo de panetone obtido por fermentação massa direta. Os dados obtidos nos dois planejamentos foram tratados por análise de regressão múltipla para desenvolver um modelo matemático utilizando o programa Statistica 5.0.

Foi proposto para os experimentos, tanto do processo esponja-massa como massa direta, um planejamento composto central para três variáveis, com 8 fatoriais, sendo 6 pontos axiais e 3 pontos centrais. O respectivo delineamento está descrito na Tabela 4.

**Tabela 4.** Delineamento experimental para três variáveis independentes a cinco níveis com valores codificados.

Ensaio	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	+1	+1	-1
5	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1
9	-1,68	0	0
10	+1,68	0	0
11	0	-1,68	0
12	0	+1,68	0
13	0	0	-1,68
14	0	0	+1,68
15	0	0	0
16	0	0	0
17	0	0	0

Obs: Ensaio aleatórios



As variáveis independentes definidas para os estudos foram: a quantidade percentual de *Lactobacillus brevis*, a quantidade percentual de fermento biológico desidratado instantâneo (*Saccharomyces cerevisiae*) e a temperatura da etapa de fermentação (°C), sendo que os valores experimentais e os níveis destas variáveis independentes estão descritos na Tabela 5.

**Tabela 5.** Valores experimentais e os níveis das variáveis independentes.

Variáveis Independentes		Níveis e valores experimentais				
		-1,68	-1	0	+1	+1,68
X <sub>1</sub>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (%)	0,3	1,0	2,0	3,0	3,7
X <sub>2</sub>	Temperatura de fermentação (°C)	19,6	23,0	28,0	33,0	36,4
X <sub>3</sub>	<i>Lactobacillus brevis</i> (%)	0,3	1,0	2,0	3,0	3,7

### 3.2.14.1. Planejamento experimental do processo de produção de panetone obtido por fermentação esponja-massa

As variáveis dependentes analisadas para o processo esponja-massa estão descritas na Tabela 6.

**Tabela 6.** Variáveis dependentes analisadas no processo de fermentação esponja-massa.

Código das Variáveis Dependentes	Descrição das variáveis dependentes
Y <sub>1</sub>	Tempo de fermentação da esponja necessário para atingir pH 4,1
Y <sub>2</sub>	Tempo de fermentação da massa
Y <sub>3</sub>	Umidade do panetone
Y <sub>4</sub>	Avaliação sensorial pelo Baking test

As avaliações na esponja fermentada (pH e acidez total titulável) foram realizadas na massa inicial, ou seja, antes de ser colocada na câmara de

fermentação e em intervalos de 2 horas de fermentação, até que a massa atinja o pH de 4,1.

As avaliações na massa fermentada (pH e acidez total titulável) foram realizadas na massa inicial, ou seja, antes de ser colocada na câmara de fermentação e em intervalos de 30 minutos até o tempo estabelecido como ótimo de fermentação, determinado de acordo com as características de elasticidade da massa e altura na forma de panetone.

Os panetones recém-produzidos foram analisados quanto as seguintes características físicas, químicas e sensoriais: pH, acidez total titulável, umidade, volume específico e avaliação sensorial pelo *Baking test*. Já, durante a vida-de-prateleira (30 e 60 dias de fabricação), foram avaliados quanto ao pH, acidez total titulável, umidade e perda de umidade.

### 3.12.14.2 Planejamento experimental do processo de produção de panetone obtido por fermentação massa direta

As variáveis dependentes analisadas para o processo de massa direta estão descritas na Tabela 7.

**Tabela 7.** Variáveis dependentes analisadas no processo de fermentação massa direta.

Código das Variáveis Dependentes	Descrição das variáveis dependentes
Y <sub>5</sub>	Tempo de fermentação
Y <sub>6</sub>	Umidade do panetone
Y <sub>7</sub>	Avaliação sensorial pelo <i>Baking test</i>

As determinações de pH e acidez total titulável na massa fermentada foram realizadas na massa inicial, ou seja, antes da massa ser colocada na câmara de fermentação e em intervalos de 30 minutos até o tempo estabelecido como ótimo

de fermentação, determinado de acordo com as características de elasticidade da massa e altura na forma de panetone.

Os panetones recém-produzidos foram analisados quanto as seguintes características físicas, químicas e sensoriais: pH, acidez total titulável, umidade, volume específico e avaliação sensorial pelo *Baking test*. Já, durante a vida-de-prateleira (30 e 60 dias de fabricação), foram avaliados quanto ao pH, acidez total titulável, umidade e perda de umidade.

### **3.2.15. Teste de Preferência**

Foi realizada a análise sensorial dos melhores panetones produzidos pelos processos de fermentação esponja-massa e massa direta, sendo que estes foram selecionados considerando as maiores pontuações recebidas nas avaliações do *Baking test*, respectivamente aos processos de fermentação. A análise definida foi um Teste de Preferência conforme descrito por DUTCOSKI (1996), utilizando-se uma escala hedônica de 9 pontos, seguindo o modelo apresentado no Anexo A. Foram avaliados os atributos: maciez e sabor dos panetones, por 50 julgadores não treinados.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Análises da farinha de trigo

A Tabela 8 ilustra os valores médios obtidos das principais características físicas, químicas e reológicas da farinha de trigo especial, empregada no processo de fabricação do panetone, e os padrões desejáveis para a farinha de trigo na produção de pães.

**Tabela 8:** Valores médios das principais análises físicas, químicas e reológicas da farinha de trigo especial marca Santista e os padrões desejáveis para a farinha de trigo na produção de pães.

<b>Análises</b>	<b>Valores médios obtidos</b>	<b>Padrões desejáveis</b>
Umidade (%)	13,32	12 a 14
Acidez titulável (ml)	2,75	Máx. 3
Teor de cinzas (%)	0,51	0,65
Teor glúten úmido (%)	28,92	>30
Falling Number (seg)	325	200 a 300
Farinografia:		
Absorção (%) .....	58,5	Mín. 58
Estabilidade (min) .....	13,5	Mín. 9
Extensografia:		
Resistência máx (U.E.) .....	474	Mín. 450
Extensibilidade (mm) .....	168	Mín. 150
Energia (área cm <sup>2</sup> ) .....	95,59	Mín. 100
Nº proporcional (D=R/E) .....	2,21	1,5 a 3,0

Comparando-se os valores médios das principais características físicas, químicas e reológicas, verificou-se que a farinha de trigo analisada encontra-se dentro dos padrões desejáveis para a produção do panetone. A farinha é considerada forte nos parâmetros de estabilidade e índice de tolerância à mistura, ou seja, são obtidos bons resultados com farinhas fortes na produção de

panetone. De acordo com PIZZINATTO & CAMPAGNOLLI (1992), valores de Falling Number (segundos) acima de 300 indicam que a atividade da  $\alpha$ -amilase é baixa, resultando na produção de pães com volume reduzido e miolo seco. Comparando-se o tempo de 325 segundos obtido na análise de Falling Number com os dados encontrados por PIZZINATTO & CAMPAGNOLLI (1992), verificou-se que a farinha analisada apresentou baixa atividade da enzima  $\alpha$ -amilase, sendo necessário adicionar um melhorador de farinha contendo a enzima.

#### **4.2. Processo de fermentação esponja-massa**

A Tabela 9 apresenta os valores médios de pH e acidez titulável obtidos experimentalmente e o tempo de fermentação das esponjas produzidas pelo processo de fermentação esponja-massa.

Analisando-se os valores médios de pH inicial de todas as esponjas pode-se verificar que o pH variou de 5,70 a 6,15. Como já citado no item 3.2.13, a fermentação da esponja foi interrompida quando o pH da mesma atingiu 4,1. Estudos preliminares revelaram que tanto a *Saccharomyces cerevisiae* como o *Lactobacillus brevis* apresentaram dificuldades de desenvolvimento em pH abaixo de 4,1. Ao redor de 4,1, o decréscimo do pH da esponja praticamente não ocorre mais, ou seja, as condições do meio são desfavoráveis para o desenvolvimento do *Lactobacillus brevis*, conseqüentemente, sua capacidade de produção de ácido láctico é praticamente nula. Constatou-se que após a esponja alcançar pH 4,1, o tempo necessário para redução de 0,1 unidade de pH é muito longo.

**Tabela 9.** Valores médios de pH e acidez titulável e o tempo de fermentação das esponjas produzidas pelo processo de fermentação esponja-massa.

Ensaio	Esponja				
	pH inicial	Acidez inicial*	pH final	Acidez final*	Tempo de fermentação (h)
1	5,90(0,00)	3,29(0,05)	4,10(0,00)	14,64(0,33)	66h10min
2	6,02(0,03)	3,34(0,02)	4,10(0,00)	14,41(0,23)	67h00min
3	6,13(0,03)	2,73(0,03)	4,08(0,03)	14,24(0,22)	35h10min
4	5,93(0,03)	3,32(0,01)	4,10(0,00)	14,27(0,07)	47h50min
5	6,15(0,05)	2,96(0,01)	4,13(0,03)	13,37(0,56)	76h00min
6	5,75(0,00)	2,51(0,01)	4,08(0,03)	17,18(0,40)	74h20min
7	5,90(0,00)	2,65(0,09)	4,10(0,00)	15,49(0,25)	45h10min
8	5,73(0,03)	3,55(0,24)	4,08(0,03)	16,73(0,09)	28h30min
9	6,15(0,00)	3,70(0,01)	4,10(0,00)	14,37(0,48)	50h45min
10	5,95(0,00)	3,18(0,12)	4,10(0,00)	14,99(0,59)	41h45min
11	6,10(0,00)	2,82(0,06)	4,12(0,03)	18,43(0,56)	144h00min
12	5,92(0,03)	3,47(0,97)	4,10(0,00)	16,24(0,65)	44h30min
13	5,92(0,03)	2,99(0,03)	4,08(0,03)	14,53(0,63)	52h00min
14	5,70(0,00)	3,57(1,00)	4,10(0,00)	13,99(0,45)	35h00min
15	6,02(0,03)	3,64(0,03)	4,08(0,03)	12,31(0,66)	46h40min
16	6,03(0,03)	3,30(0,04)	4,10(0,00)	13,66(0,31)	48h00min
17	6,05(0,00)	5,26(0,01)	4,10(0,00)	15,88(0,41)	47h50min

\* Acidez titulável em mL de NaOH 0,1N por 100 g (Desvios-padrão entre parênteses).

Os resultados obtidos nestes estudos preliminares foram determinantes na manutenção da esponja na estufa até pH 4,1. FOSCHINO et al. (1995) descrevem que o pH de esponjas contendo *Lactobacillus brevis* ( $10^9$  ufc/g) decresce de 5,0 até 3,8, somente após 30 horas de fermentação .

Conforme os dados apresentados na Tabela 9, o tempo mínimo obtido para a fermentação da esponja foi de 28 horas e 30 minutos (esponja contendo 3,0 % de *Saccharomyces cerevisiae* e 3,0 % *Lactobacillus brevis* incubada a 33°C). O tempo máximo obtido para a fermentação foi de 144 horas (esponja contendo 2,0 % de *Saccharomyces cerevisiae* e 2,0 % *Lactobacillus brevis* incubada a 19,6°C).

Esta variação no tempo de fermentação da esponja até atingir pH 4,1 pode ser explicada em função principalmente das temperaturas (19,6°C a 36,4°C) de incubação empregadas. Tanto o *Saccharomyces cerevisiae* como o *Lactobacillus brevis* possuem faixas ótimas de temperatura de crescimento. Portanto, quanto mais distante da faixa ótima de temperatura de crescimento mais lento é o processo de fermentação da esponja. A faixa de temperatura ótima de crescimento do *Lactobacillus brevis* é de 30 a 35°C enquanto que a faixa de temperatura ótima do *Saccharomyces cerevisiae* está em torno de 30°C (QUAGLIA, 1991; BARBER et al. 1987). Por outro lado, quanto mais próximo da faixa ótima de temperatura de crescimento, menor é o tempo de fermentação da esponja.

Os dados revelaram a baixa capacidade acidificante do *Lactobacillus brevis*. Estes resultados concordam com os apresentados em literatura, sobre a baixa capacidade acidificante do *Lactobacillus brevis*, mesmo quando mantido próximo a sua temperatura ótima de crescimento. Conforme SUGIHARA (1985), o tempo ideal de fermentação da esponja na produção de panetone é ao redor de 24 horas. Este é o tempo necessário para ocorrer a fermentação primária e secundária.

O *Lactobacillus brevis*, durante a fermentação primária fermenta a lactose e produz pouca quantidade de ácido láctico reduzindo o pH da massa, e na secundária produz baixa quantidade de gás carbônico e consideráveis conteúdos de compostos aromáticos como: acetaldeído, acetoína e diacetil (SUGIHARA, 1985). Para desenvolver a fermentação secundária, o *Lactobacillus brevis* necessita de um tempo maior quando comparado com o tempo para desenvolver a primária.

É importante ressaltar que o tempo de fermentação da esponja e da massa do panetone não deve ser muito curto, necessitando um período suficiente para ocorrer a fermentação primária e secundária.

A porcentagem de *Saccharomyces cerevisiae* parece não ter influenciado no tempo máximo de fermentação (144 horas) uma vez que a levedura promove o abaixamento do pH somente a valores próximos de 5,0, apresentado baixa capacidade de produção de ácido abaixo deste valor (QUAGLIA, 1991).

A Tabela 10 apresenta os valores médios de pH e acidez titulável inicial e final e o tempo de fermentação das massas fermentadas pelo processo de fermentação esponja-massa.

**Tabela 10.** Valores médios de pH e acidez titulável inicial e final e o tempo de fermentação das massas fermentadas pelo processo de fermentação esponja-massa.

Ensaio	Massa fermentada				
	pH inicial	Acidez inicial*	pH final	Acidez final*	Tempo de fermentação (h)
1	5,30(0,00)	4,77(0,69)	4,95(0,00)	7,21(0,39)	10h50min
2	5,33(0,03)	4,66(0,52)	5,30(0,00)	4,83(0,19)	02h57min
3	5,65(0,00)	3,41(0,15)	5,62(0,03)	2,66(0,46)	02h15min
4	5,27(0,03)	8,17(0,99)	5,20(0,00)	4,26(0,21)	02h40min
5	5,50(0,00)	6,06(0,19)	5,35(0,00)	4,10(0,09)	07h00min
6	5,20(0,00)	6,12(0,16)	4,90(0,00)	6,17(0,17)	09h30min
7	5,40(0,00)	6,56(0,29)	5,32(0,03)	4,02(0,30)	03h05min
8	5,08(0,03)	3,15(1,62)	4,92(0,03)	8,20(0,05)	02h40min
9	5,65(0,00)	3,29(0,49)	5,18(0,03)	4,16(0,69)	13h15min
10	5,20(0,00)	7,72(0,78)	5,15(0,00)	6,31(0,66)	03h15min
11	5,13(0,03)	3,16(1,53)	4,90(0,00)	6,43(0,39)	25h45min
12	5,28(0,03)	7,39(0,22)	5,22(0,03)	4,36(0,65)	02h10min
13	5,30(0,00)	5,74(0,37)	4,97(0,03)	9,54(0,43)	06h20min
14	5,20(0,00)	6,13(0,12)	5,15(0,00)	7,10(0,74)	04h05min
15	5,35(0,00)	4,84(0,19)	5,20(0,00)	3,16(0,20)	03h20min
16	5,53(0,03)	4,61(0,33)	5,45(0,00)	4,85(0,42)	02h58min
17	5,60(0,00)	4,57(0,43)	5,47(0,03)	4,76(0,33)	03h12min

\* Acidez titulável em mL de NaOH 0,1N por 100 g (Desvios-padrão entre parênteses)

Comparando-se o tempo de fermentação da massa (Tabela 10) com o tempo de fermentação da esponja-massa (Tabela 9), para todos os ensaios pode-se verificar que o tempo de fermentação da massa foi menor do que o obtido para a esponja-massa. Este fato pode ser explicado em função dos parâmetros utilizados para interromper o processo de fermentação. No processo de fermentação esponja-massa, a fermentação foi interrompida quando o pH da esponja atingiu 4,1. Já no processo de fermentação da massa, a fermentação foi interrompida quando a massa atingiu a altura ótima de crescimento dentro da própria forma de papel. SUGIHARA (1985) relata que após o modelamento da massa de panetone, o tempo de fermentação varia de 8 a 10 horas quando se emprega temperatura de 30°C.

Alguns fatores influenciaram diretamente o tempo de fermentação da massa, tais como: a porcentagem de levedura e a temperatura de fermentação. Neste caso, o *Lactobacillus brevis* parece não exercer especial influência, pois mesmo classificado como uma bactéria láctica heterofermentativa, a quantidade de gás carbônico produzida é mínima quando comparada a quantidade de CO<sub>2</sub> produzida pela levedura.

Analisando-se os valores médios de pH inicial das massas obtidos em todos os ensaios pode-se verificar que os valores variaram de 5,08 a 5,65. Já os valores de pH final variaram de 4,90 a 5,47. Calculando-se o pH médio inicial e o pH médio final das massas, obtém-se os valores 5,35 e 5,19, respectivamente. Analisando-se as médias de pH inicial e final, pode-se constatar que neste processo de fermentação houve uma redução de 0,16 unidades de pH.

A Tabela 11 apresenta os valores médios de pH, acidez titulável, umidade, volume específico e o resultado da avaliação sensorial pelo *Baking test* dos panetones recém-fabricados pelo processo de fermentação esponja-massa.

**Tabela 11.** Valores médios de pH, acidez titulável, umidade, volume específico e o resultado da avaliação sensorial pelo *Baking test* dos panetones recém-fabricados pelo processo de fermentação esponja-massa.

Ensaio	Panetones recém-fabricados				
	pH	Acidez*	Umidade (%)	Volume específico g/mL	Avaliação Sensorial pelo “ <i>Baking test</i> ”
1	5,10(0,05)	4,18(0,21)	32,56(0,23)	3,4497	81,0
2	5,50(0,00)	3,72(0,03)	31,50(0,35)	3,3244	77,5
3	5,53(0,03)	2,84(0,45)	27,29(0,07)	3,5423	65,8
4	5,63(0,03)	3,92(0,08)	31,04(0,22)	3,4965	64,0
5	5,40(0,00)	3,89(0,23)	31,96(0,49)	3,8920	84,0
6	5,00(0,00)	5,88(0,77)	31,82(0,14)	3,5017	74,3
7	5,43(0,03)	3,64(0,65)	31,22(0,09)	3,5129	53,0
8	5,30(0,00)	2,78(0,06)	26,57(0,27)	3,5327	57,3
9	5,35(0,00)	3,78(0,12)	31,23(0,56)	3,1989	79,5
10	5,25(0,00)	3,14(0,14)	30,58(0,34)	3,2567	69,0
11	4,95(0,00)	5,88(0,55)	28,98(0,58)	2,2102	35,0
12	5,75(0,05)	3,54(0,03)	30,91(0,15)	3,6523	65,0
13	5,15(0,00)	3,62(0,36)	31,35(0,22)	2,7079	61,0
14	5,20(0,00)	3,01(0,32)	30,40(0,32)	3,2296	81,8
15	5,25(0,00)	3,05(0,17)	31,10(0,08)	3,2184	64,7
16	5,45(0,00)	4,71(0,64)	30,77(0,17)	3,4950	83,5
17	5,45(0,00)	4,36(0,11)	30,63(0,73)	3,4187	77,5

\* Acidez titulável em mL de NaOH 0,1N por 100 g (Desvios-padrão entre parênteses).

Comparando-se os valores médios do teor de umidade (Tabela 11) dos panetones recém-fabricados com os valores estabelecidos por legislação, pode-se verificar que os panetones obtidos pelo processo de fermentação esponja-massa apresentam valores de umidade acima do valor máximo estabelecido que é de 30%, porém não se constitui problema grave, pois além dos valores estarem próximos, durante a estocagem ocorrem perdas de umidade, atingindo a faixa da legislação. Como já era esperado, o volume específico dos panetones não sofreu variações significativas. Este fato se deve à interrupção do processo de fermentação da massa quando esta atingiu a altura ótima dentro da forma de papel. Em seguida, as massas fermentadas foram encaminhadas para a etapa de

assamento. O controle deste parâmetro permitiu obter panetones com volume específico bastante similares entre si, com exceção do ensaio 11.

Analisando-se os resultados obtidos na avaliação sensorial dos panetones empregando-se o método *Baking test*, pode-se verificar que os valores médios variaram consideravelmente entre si. Constatou-se que o panetone fabricado com 1,0 % de *Saccharomyces cerevisiae* e 3,0 % de *Lactobacillus brevis* a uma temperatura de fermentação de 23,0°C, apresentou a maior pontuação (84 pontos), sendo o escolhido como melhor panetone produzido no processo esponja-massa. É importante ressaltar que o tempo de fermentação da esponja-massa para este panetone foi de 76,0 horas e que o tempo necessário para a massa alcançar o volume ótimo dentro da forma de papel foi de 7,0 horas.

Pode-se verificar ainda que o panetone fabricado com a esponja, que levou 144 horas para fermentar (2,0 % de *Saccharomyces cerevisiae*, 2,0 % de *Lactobacillus brevis* e temperatura de fermentação de 19,6°C) apresentou a menor pontuação (35 pontos). Talvez esta baixa pontuação possa ser explicada em função das seguintes características: baixo teor de médio de umidade (28,98 %) e baixo volume específico de 2,21 g/mL.

#### **4.3. Processo de fermentação massa direta**

A Tabela 12 apresenta valores médios de pH e acidez titulável inicial; pH e acidez titulável final; e tempo de fermentação da massa obtida pelo processo de fermentação massa direta.

Analisando-se os valores médios de pH (Tabela 12) da massa de todos os ensaios, pode-se verificar que o pH inicial da massa variou de 5,70 a 5,90. Comparando-se estes valores com os valores médios de pH inicial da massa obtida pelo processo de fermentação esponja-massa que variaram de 5,10 a 5,65, pode-se constatar que a adição da esponja-massa (pH=4,1) reduz o pH da massa

em cerca de 0,60 a 0,35 unidades de pH. A massa fermentada com 2,0 % de *Saccharomyces cerevisiae* e 2,0 % de *Lactobacillus brevis*, a uma temperatura de fermentação de 19,6°C, por ter levado cerca de 21h 40min para fermentar, apresentou uma redução de 0,65 unidades de pH durante o tempo de fermentação.

**Tabela 12.** Valores médios de pH e acidez titulável inicial; pH e acidez titulável final; e tempo de fermentação da massa obtida pelo processo de fermentação massa direta.

Ensaio	Massa fermentada				
	pH inicial	Acidez inicial*	pH final	Acidez final*	Tempo de fermentação (h)
1	5,90(0,00)	3,07(0,56)	5,45(0,05)	4,46(0,24)	13h15min
2	5,90(0,00)	3,24(0,27)	5,60(0,00)	3,55(0,49)	09h40min
3	5,83(0,03)	3,74(0,13)	5,45(0,00)	4,20(0,35)	04h10min
4	5,80(0,00)	3,61(0,19)	5,35(0,00)	4,86(0,23)	02h50min
5	5,77(0,03)	3,52(0,66)	5,30(0,00)	4,43(0,76)	12h45min
6	5,70(0,00)	3,45(0,54)	5,37(0,03)	3,95(0,65)	08h15min
7	5,70(0,00)	3,55(0,74)	5,50(0,00)	3,91(0,33)	05h30min
8	5,70(0,00)	2,99(0,23)	5,60(0,00)	2,67(0,17)	01h50min
9	5,87(0,03)	2,61(0,47)	5,40(0,00)	3,35(0,52)	09h30min
10	5,90(0,00)	3,20(0,68)	5,77(0,03)	3,51(0,81)	02h00min
11	5,85(0,05)	3,01(0,77)	5,20(0,00)	3,75(0,67)	21h40min
12	5,80(0,00)	3,52(0,83)	5,75(0,00)	3,56(0,42)	02h15min
13	5,90(0,00)	3,45(0,25)	5,80(0,00)	3,66(0,57)	02h55min
14	5,80(0,00)	3,49(0,49)	5,65(0,05)	4,56(0,22)	02h30min
15	5,80(0,00)	2,86(0,42)	5,55(0,00)	3,43(0,34)	03h30min
16	5,83(0,03)	2,26(0,51)	5,50(0,00)	4,60(0,47)	04h05min
17	5,90(0,00)	2,10(0,36)	5,52(0,03)	4,44(0,46)	02h45min

\* Acidez titulável em mL de NaOH 0,1N por 100 g (Desvios-padrão entre parênteses).

Com os dados apresentados na Tabela 12, pode-se verificar que o tempo de fermentação da massa de todos os ensaios variou de 1h 50min (3,0 % de *Saccharomyces cerevisiae* e 3,0 % de *Lactobacillus brevis* e temperatura de

fermentação de 33°C ) a 21h 40min (2,0 % de *Saccharomyces cerevisiae*, 2,0 % de *Lactobacillus brevis* e temperatura de fermentação de 19,6°C).

Os valores médios de pH, acidez titulável, umidade, volume específico e os resultados da avaliação sensorial pelo *Baking test* dos panetones recém-fabricados, obtidos pelo processo de fermentação massa direta, estão apresentados na Tabela 13.

**Tabela 13.** Valores médios de pH, acidez titulável, umidade, volume específico e os resultados da avaliação sensorial pelo *Baking test* dos panetones recém-fabricados obtidos pelo processo de fermentação massa direta.

Panetones recém-fabricados					
Ensaio	pH	Acidez*	Umidade (%)	Volume específico g/mL	Avaliação Sensorial pelo "Baking test"
1	5,50(0,00)	4,45(0,72)	29,56(0,08)	3,55	66,65
2	5,67(0,03)	3,54(0,60)	28,13(0,66)	3,31	64,52
3	5,30(0,00)	4,01(0,11)	29,80(0,24)	3,05	55,66
4	5,35(0,00)	3,98(0,45)	31,00(0,63)	3,09	58,29
5	5,30(0,00)	4,42(0,32)	30,86(0,71)	3,48	59,59
6	5,33(0,03)	3,74(0,22)	27,23(0,12)	3,29	57,96
7	5,50(0,00)	3,97(0,91)	30,46(0,67)	3,27	60,39
8	5,55(0,05)	2,95(0,49)	27,73(0,28)	3,42	50,89
9	5,30(0,00)	3,52(0,53)	29,64(0,31)	3,39	72,79
10	5,70(0,00)	3,77(0,26)	27,77(0,37)	3,11	44,86
11	5,20(0,00)	3,76(0,63)	28,52(0,53)	3,16	56,02
12	5,75(0,00)	3,71(0,44)	27,65(0,81)	3,34	50,12
13	5,75(0,00)	3,85(0,27)	27,87(0,14)	2,97	46,39
14	5,67(0,03)	3,20(0,64)	28,54(0,31)	3,52	58,72
15	5,65(0,00)	3,31(0,59)	28,23(0,36)	3,39	50,29
16	5,65(0,00)	3,18(0,20)	28,46(0,46)	3,42	51,39
17	5,60(0,00)	3,57(0,31)	28,91(0,17)	3,26	50,86

\* Acidez titulável em mL de NaOH 0,1N por 100 g (Desvios-padrão entre parênteses).

Comparando-se os valores médios do teor de umidade (Tabela 13) dos panetones recém-fabricados com os valores estabelecidos por legislação, pode-se verificar que os panetones obtidos pelo processo de fermentação massa direta apresentam valores de umidade dentro da faixa máxima estabelecida que é de 30 %. Em relação ao volume específico dos panetones não sofreu variações significativas, resultados semelhantes aos do processo esponja-massa, decorrente do mesmo controle do processo.

Comparando-se os valores médios do teor de umidades dos panetones recém-fabricados produzidos pelos processos de fermentação esponja-massa e massa direta, pode-se verificar que os panetones produzidos pelo processo de fermentação esponja-massa apresentaram um teor médio de umidade 5,0 % superior ao panetones produzidos por fermentação direta.

Em estudo realizado por BARBER et al. (1987), verificou-se que massas fermentadas contendo bactérias lácticas, após um período de fermentação de 24 horas apresentou valores de pH entre 3,8 e 4,0. No mesmo estudo, as diferenças de pH, após 24 horas de fermentação, mostraram que as bactérias lácticas reduziram o nível de pH de 2 a 2,3 unidades enquanto que as leveduras reduziram até 0,8 unidades. De acordo com os autores, o abaixamento de pH na massa é de grande importância, pois modifica a capacidade de hidratação das proteínas do glúten, influi na atividade fermentativa dos microrganismos e os sistemas enzimáticos presentes, alterando a qualidade final do pão, com aumento do volume e melhoria da textura, sabor e aroma.

#### **4.4. Análise estatística**

A metodologia de superfície de resposta foi empregada através do composto central onde foram utilizadas as variáveis independentes: percentual de *Saccharomyces cerevisiae*, percentual de *Lactobacillus brevis* e temperatura de fermentação para a obtenção das seguintes respostas: tempo de fermentação, umidade e avaliação sensorial pelo *Baking test*. Através deste método foi possível

verificar estatisticamente quais foram os modelos válidos e desta forma pode-se visualizar através dos gráficos de superfície de resposta e as curvas de nível a influência do *Lactobacillus brevis*, *Saccharomyces cerevisiae* e temperatura de fermentação sobre o tempo de fermentação, umidade e avaliação sensorial pelo *Baking test*. Os dados obtidos nos ensaios foram submetidos à análise de variância através do programa estatístico STAT 5.0, assim como os gráficos e as curvas foram geradas neste programa estatístico

Quando avaliou-se estatisticamente o delineamento experimental empregando-se a metodologia de superfície de resposta sobre as respostas, a porcentagem de umidade e a avaliação sensorial pelo método do *Baking test*, verificou-se que os resultados não foram estatisticamente significativos, ou seja os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) obtidos nas análises de variância foram inferiores a 0,60. Isto indica que somente 60% das variações foram explicadas pelo modelo. Para a análise das superfícies de respostas das variáveis dependentes, é recomendado avaliar somente os delineamentos experimentais que obtiveram valores de  $R^2$  superiores a 60%. As análises de variância dos resultados apresentados a seguir encontram-se descrito no Anexo B.

#### **4.4.1. Processo de fermentação esponja-massa**

##### **4.4.1.1. Influência da temperatura e do percentual de *Saccharomyces cerevisiae* no tempo de fermentação da esponja**

Através do delineamento composto central aplicado à metodologia de superfície de resposta, estudou-se a variável dependente (resposta): tempo de fermentação da esponja (horas); e as variáveis independentes: a temperatura de fermentação (°C) e o percentual de *Saccharomyces cerevisiae* (%).

Os valores codificados e decodificados das variáveis independentes: a temperatura de fermentação (°C) e o percentual de *Saccharomyces cerevisiae* (%)

e os valores obtidos da variável dependente: tempo de fermentação da esponja estão descritos na Tabela 14.

**Tabela 14.** Valores codificados e decodificados das variáveis independentes: temperatura de fermentação (°C) e percentual de *Saccharomyces cerevisiae* (%); e valores obtidos da variável resposta: tempo de fermentação da esponja (h).

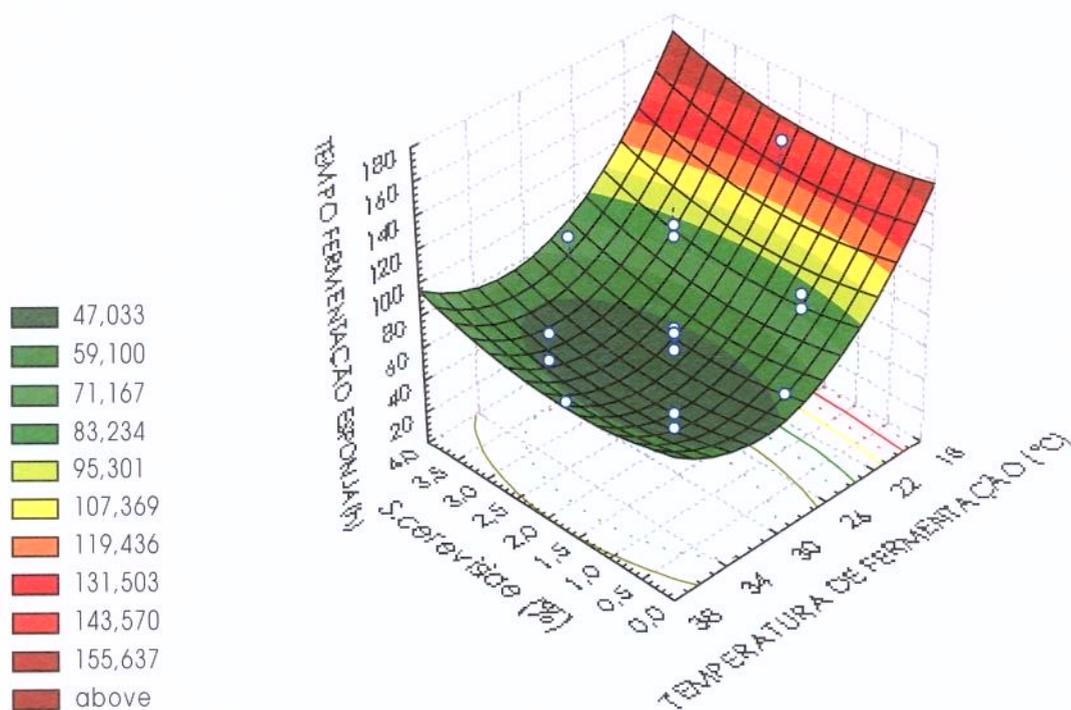
Ensaio	Variáveis Independentes				Variável Resposta Y <sub>1</sub>
	Valores codificados		Valores decodificados		
	Temperatura (°C)	S. <i>cerevisiae</i> (%)	Temperatura (°C)	S. <i>cerevisiae</i> (%)	Tempo de fermentação da esponja (h)
1	-1	-1	23,0	1,0	66,17
2	-1	+1	23,0	3,0	67,00
3	+1	-1	23,0	1,0	35,17
4	+1	+1	23,0	3,0	47,833
5	-1	-1	33,0	1,0	76,00
6	-1	+1	33,0	3,0	74,33
7	+1	-1	33,0	1,0	45,17
8	+1	+1	33,0	3,0	28,50
9	0	-1,68	28,0	0,3	50,75
10	0	+1,68	28,0	3,7	41,75
11	-1,68	0	28,0	2,0	144,00
12	+1,68	0	28,0	2,0	44,50
13	0	0	19,6	2,0	52,00
14	0	0	36,4	2,0	35,00
15	0	0	28,0	2,0	46,67
16	0	0	28,0	2,0	48,00
17	0	0	28,0	2,0	47,83

A equação ajustada (desconsiderando-se os efeitos não significativos) foi utilizada para prever a resposta na região analisada (Equação 1).

$$Y_1 = 42,99 - 21,55 X_2 + 16,11 X_2^2 \quad (1)$$

onde:  $Y_1$  = tempo de fermentação da esponja (h);  $X_2$  = valores codificados para a temperatura de fermentação da massa.

Dois parâmetros demonstraram que o modelo é estatisticamente válido: o valor de  $F_{\text{calculado}}$  foi 20,53 vezes superior que o valor de  $F_{\text{tabelado}}$  para  $p < 0,05$ ; o coeficiente de determinação igual a 0,877 demonstrou que 87,7% das variações são explicadas pelo modelo. A análise de variância está descrita no Anexo B.



**Figura 3.** Efeito da temperatura e do percentual de *Saccharomyces cerevisiae* no tempo de fermentação da esponja. A variável  $X_3$  foi fixada no ponto 0 (percentual de *Lactobacillus brevis* = 2,0 %).

A Figura 3 apresenta a superfície de resposta do efeito das variáveis: *Saccharomyces cerevisiae* e temperatura de fermentação sobre o tempo de fermentação da esponja, observou-se que, quanto menor a temperatura de fermentação da esponja, observou-se que, quanto menor a temperatura de fermentação da esponja, maior é o seu tempo de fermentação. Por outro lado, temperaturas mais elevadas dentro da faixa estudada (19,6 a 36,4°C) resultaram

num menor tempo de fermentação da esponja. Já, na faixa estudada de *Saccharomyces cerevisiae*, o emprego do mínimo percentual e o emprego do máximo percentual resultaram num tempo de fermentação muito semelhante, ou seja, para a redução de custos e evitar o residual de fermento no produto final, aconselha-se, neste caso, adicionar o mínimo percentual de levedura na faixa estudada (0,3% a 3,7%). Vimos que o percentual de *Saccharomyces* (0,3 a 3,7%) não teve influência direta no tempo de fermentação da esponja, já que o término da fermentação foi indicado apenas pelo pH da esponja, que é influenciado pela cultura láctica, produtora de ácido láctico.

#### **4.4.1.2. Influência da temperatura e do percentual de *Saccharomyces cerevisiae* no tempo de fermentação da massa**

Através do delineamento composto central aplicado à metodologia de superfície de resposta, estudou-se a variável dependente: tempo de fermentação da massa (h), e as variáveis independentes: a temperatura de fermentação (°C) e o percentual de *Saccharomyces cerevisiae* (%).

A equação utilizada para o modelo, considerando todos os efeitos, é dada a seguir:

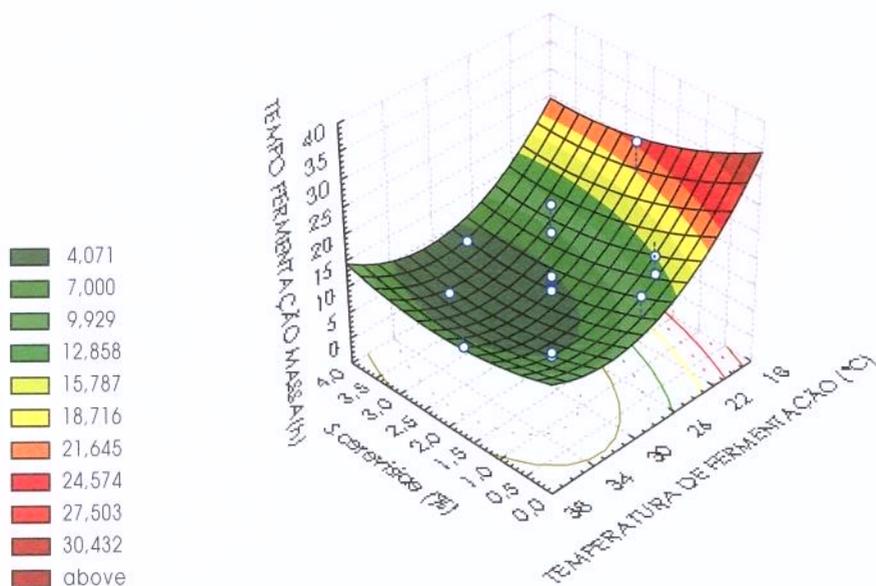
$$Y_2 = 3,13 - 4,34X_2 + 2,92 X_2^2 - 1,62 X_1 + 0,90 X_1^2 + 0,67 X_2 X_1 \quad (2)$$

Onde:  $Y_2$  = tempo de fermentação da massa (h);  $X_2$  = valores codificados para a temperatura de fermentação da massa;  $X_1$  = valores codificados para o percentual de *Saccharomyces cerevisiae*.

**Tabela 15.** Valores codificados e decodificados das variáveis independentes: temperatura (°C) e percentual de *Saccharomyces cerevisiae* (%); e valores obtidos da variável resposta: tempo de fermentação da massa (h), processo esponja-massa.

Ensaio	Variáveis Independentes				Variável Resposta
	Valores codificados		Valores decodificados		$Y_2$
	Temperatura (°C)	S. <i>cerevisiae</i> (%)	Temperatura (°C)	S. <i>cerevisiae</i> (%)	Tempo de fermentação da massa (h)
1	-1	-1	23,0	1,0	10,83
2	-1	+1	23,0	3,0	2,95
3	+1	-1	23,0	1,0	2,25
4	+1	+1	23,0	3,0	2,67
5	-1	-1	33,0	1,0	7,00
6	-1	+1	33,0	3,0	9,50
7	+1	-1	33,0	1,0	3,08
8	+1	+1	33,0	3,0	2,67
9	0	-1,68	28,0	0,3	13,25
10	0	+1,68	28,0	3,7	3,25
11	-1,68	0	28,0	2,0	25,75
12	+1,68	0	28,0	2,0	2,17
13	0	0	19,6	2,0	6,33
14	0	0	36,4	2,0	4,08
15	0	0	28,0	2,0	3,33
16	0	0	28,0	2,0	2,97
17	0	0	28,0	2,0	3,20

O valor de  $F_{\text{calculado}}$  foi 13,68 vezes superior que o valor de  $F_{\text{tabelado}}$  para  $p < 0.05$ . O coeficiente de determinação obtido foi igual a 0,690 demonstrou que 69,0% das variações são explicadas pelo modelo. Portanto, o modelo obtido é estatisticamente válido.



**Figura 4.** Efeito da temperatura e do percentual *Saccharomyces cerevisiae* no tempo de fermentação da massa. A variável  $X_3$  foi fixada no ponto 0 (percentual de *Lactobacillus brevis* = 2,0 %).

Segundo a tendência do gráfico apresentado na Figura 4, pode-se observar o efeito da *Saccharomyces cerevisiae* e temperatura de fermentação sobre o tempo de fermentação da massa no processo de fermentação esponja-massa. A temperatura de fermentação entre 26 e 36,4°C e o percentual de *Saccharomyces cerevisiae* entre 0,8 a 3,6 % apresentaram uma faixa de menor tempo de fermentação da massa. O gráfico também apresenta uma região de fermentação da massa mais longa, quando foram empregadas temperaturas de fermentação entre 19,6 e 26°C e 0,3 a 0,8 % de *Saccharomyces cerevisiae*.

#### 4.4.1.3. Influência da temperatura e do percentual de *Lactobacillus brevis* no tempo de fermentação da massa

Através do delineamento composto central aplicado à metodologia de superfície de resposta, estudou-se a variável dependente: tempo de fermentação da massa (h), e as variáveis independentes: a temperatura de fermentação (°C) e percentual de *Lactobacillus brevis* (%).

**Tabela 16.** Valores codificados e decodificados das variáveis independentes: temperatura (°C) e percentual de *Lactobacillus brevis* (%); e valores obtidos da variável resposta: tempo de fermentação da massa (h), processo esponja-massa.

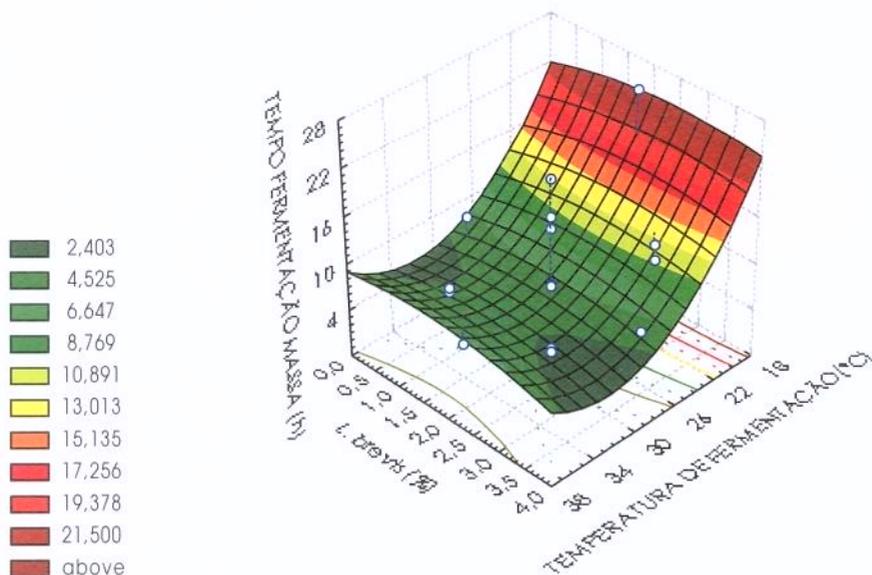
Ensaio	Variáveis Independentes				Variável Resposta
	Valores codificados		Valores decodificados		Y <sub>2</sub>
	Temperatura (°C)	<i>L. brevis</i>	Temperatura (°C)	<i>L. brevis</i>	Tempo de fermentação da massa (h)
1	-1	-1	23,0	1,0	10,83
2	-1	-1	23,0	1,0	2,95
3	+1	-1	23,0	1,0	2,25
4	+1	-1	23,0	1,0	2,67
5	-1	+1	33,0	3,0	7,00
6	-1	+1	33,0	3,0	9,50
7	+1	+1	33,0	3,0	3,08
8	+1	+1	33,0	3,0	2,67
9	0	0	28,0	2,0	13,25
10	0	0	28,0	2,0	3,25
11	-1,68	0	28,0	2,0	25,75
12	+1,68	0	28,0	2,0	2,17
13	0	-1,68	19,6	0,3	6,33
14	0	+1,68	36,4	3,7	4,08
15	0	0	28,0	2,0	3,33
16	0	0	28,0	2,0	2,97
17	0	0	28,0	2,0	3,20

A equação utilizada para o modelo codificado, considerando todos os efeitos, é dada a seguir:

$$Y_2 = 4,50 - 4,34X_2 + 2,60 X_2^2 - 0,02 X_3 - 0,50 X_3^2 - 0,24 X_2 X_3 \quad (3)$$

Onde:  $Y_2$  = tempo de fermentação da massa(h);  $X_2$  = valores codificados para a temperatura de fermentação da massa;  $X_3$  = valores codificados para o percentual de *Lactobacillus brevis*.

Dois parâmetros demonstraram o modelo como estatisticamente válido: o valor de  $F_{\text{calculado}}$  foi 3,73 vezes superior que o valor de  $F_{\text{tabelado}}$  para  $p < 0,05$ ; o coeficiente de determinação igual a 0,611 demonstrou que 61,1% das variações são explicadas pelo modelo. A análise de variância está descrita no Anexo B.



**Figura 5.** Efeito da temperatura e do percentual *Lactobacillus brevis* no tempo de fermentação da massa. A variável  $X_1$  foi fixada no ponto 0 (percentual de *Saccharomyces cerevisiae* = 2,0 %).

Analisando a Figura 5, pode-se observar o efeito da temperatura de fermentação e da quantidade de *Lactobacillus brevis* sobre o tempo de

fermentação da massa. Quanto menor a temperatura, maior foi o tempo de fermentação da massa. Verificou-se que utilizando-se qualquer percentual de *Lactobacillus brevis*, dentro da faixa estudada (0,3 a 3,7%), em combinação com uma temperatura fixa (dentro da faixa estudada), não houve alteração no tempo de fermentação da massa.

#### **4.4.2. Processo de fermentação massa direta**

##### **4.4.2.1. Influência da temperatura e do percentual de *Saccharomyces cerevisiae* no tempo de fermentação da massa**

Através do delineamento composto central aplicado à metodologia de superfície de resposta, estudou-se a variável dependente: tempo de fermentação da massa (h), e as variáveis independentes: a temperatura de fermentação (°C) e percentual de *Saccharomyces cerevisiae* (%).

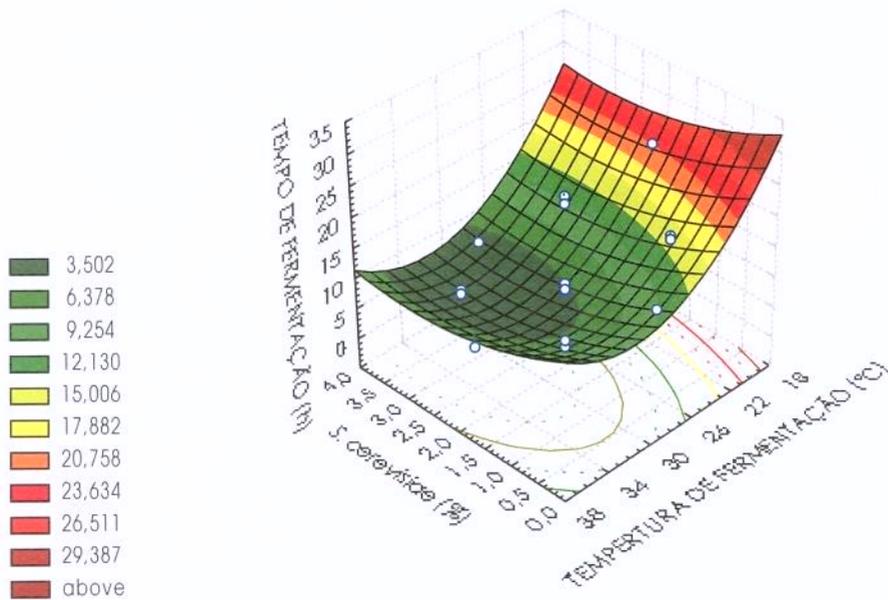
A equação utilizada para o modelo codificado, desconsiderando os efeitos não significativos, é dada a seguir:

$$Y_5 = 3,17 - 4,56 X_2 + 3,14 X_2^2 - 1,88 X_1 + 0,94 X_1^2 \quad (4)$$

Dois parâmetros demonstraram o modelo como estatisticamente válido: o valor de  $F_{\text{calculado}}$  foi 104,35 vezes superior que o valor de  $F_{\text{tabelado}}$  para  $p < 0,05$ ; o coeficiente de determinação igual a 0,958 demonstrou que 95,8% das variações são explicadas pelo modelo. A análise de variância está descrita no Anexo B.

**Tabela 17.** Valores codificados e decodificados das variáveis independentes: temperatura (°C) e percentual de *Saccharomyces cerevisiae* (%); e valores obtidos da variável resposta: tempo de fermentação da massa (h), para processo massa direta.

Ensaio	Variáveis Independentes				Variável Resposta
	Valores codificados		Valores decodificados		Y <sub>5</sub>
	Temperatura (°C)	S. <i>cerevisiae</i> (%)	Temperatura (°C)	S. <i>cerevisiae</i> (%)	Tempo de fermentação da massa (h)
1	-1	-1	23,0	1,0	13,25
2	-1	+1	23,0	3,0	9,67
3	+1	-1	33,0	1,0	4,17
4	+1	+1	33,0	3,0	2,83
5	-1	-1	23,0	1,0	12,75
6	-1	+1	23,0	3,0	8,25
7	+1	-1	33,0	1,0	5,50
8	+1	+1	33,0	3,0	1,83
9	0	-1,68	28,0	0,3	9,50
10	0	+1,68	28,0	3,7	2,00
11	-1,68	0	19,6	2,0	21,67
12	+1,68	0	36,4	2,0	2,25
13	0	0	28,0	2,0	2,92
14	0	0	28,0	2,0	2,50
15	0	0	28,0	2,0	3,50
16	0	0	28,0	2,0	4,08
17	0	0	28,0	2,0	2,75



**Figura 6.** Efeito da temperatura e do percentual de *Saccharomyces cerevisiae* no tempo de fermentação da massa. A variável  $X_3$  foi fixada no ponto 0 (percentual de *Lactobacillus brevis* = 2,0 %).

A superfície de resposta (Figura 6) mostra que a temperatura de fermentação da massa abaixo de 20,5°C, na faixa percentual de *Saccharomyces cerevisiae* utilizada, apresentou maior tempo de fermentação. Já na faixa de temperatura de 26,7 a 36,4°C e o percentual de *Saccharomyces cerevisiae* acima de 1,1%, encontrou-se na faixa de tempo mínimo de fermentação da massa. Portanto, quanto menor a temperatura maior é o tempo de fermentação da massa. Verificou-se, neste modelo, que a faixa de temperatura ideal para o desenvolvimento da levedura encontra-se entre 26,7 e 36,4°C.

#### 4.4.2.2. Influência da temperatura e do percentual de *Lactobacillus brevis* no tempo de fermentação da massa

Através do delineamento composto central aplicado à metodologia de superfície de resposta, estudou-se a variável dependente: tempo de fermentação

da massa (h), e as variáveis independentes: a temperatura de fermentação (°C) e percentual de *Lactobacillus brevis* (%).

**Tabela 18.** Valores codificados e decodificados das variáveis independentes: temperatura (°C) e percentual de *Lactobacillus brevis* (%); e valores obtidos da variável resposta: tempo de fermentação da massa (h), para processo massa direta.

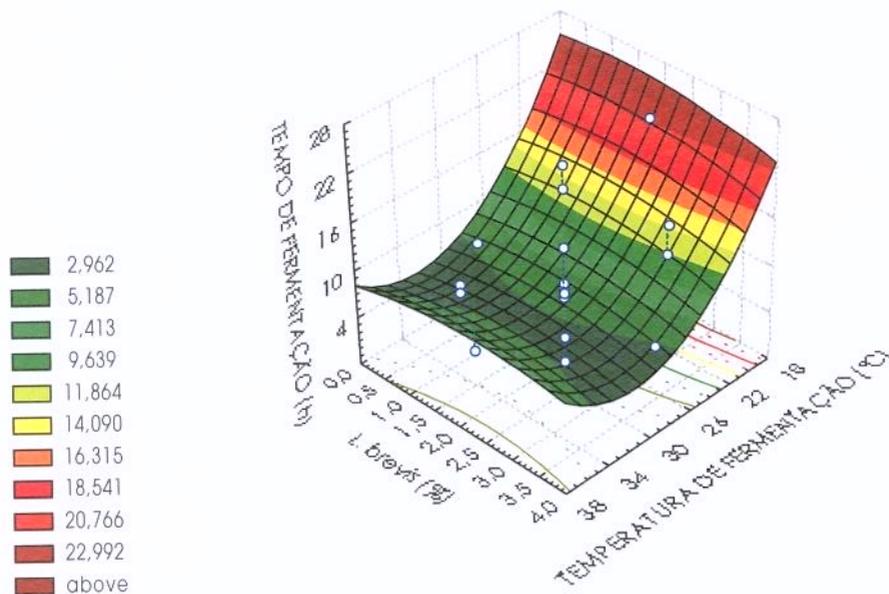
Ensaio	Variáveis Independentes				Variável Resposta
	Valores codificados		Valores decodificados		Y <sub>5</sub>
	Temperatura (°C)	L. <i>brevis</i> (%)	Temperatura (°C)	L. <i>brevis</i> (%)	Tempo de fermentação da massa (h)
1	-1	-1	23,0	1,0	13,25
2	-1	-1	23,0	1,0	9,67
3	+1	-1	23,0	1,0	4,17
4	+1	-1	23,0	1,0	2,83
5	-1	+1	33,0	3,0	12,75
6	-1	+1	33,0	3,0	8,25
7	+1	+1	33,0	3,0	5,50
8	+1	+1	33,0	3,0	1,83
9	0	0	28,0	2,0	9,50
10	0	0	28,0	2,0	2,00
11	-1,68	0	28,0	2,0	21,67
12	+1,68	0	28,0	2,0	2,25
13	0	-1,68	19,6	0,3	2,92
14	0	+1,68	36,4	3,7	2,50
15	0	0	28,0	2,0	3,50
16	0	0	28,0	2,0	4,08
17	0	0	28,0	2,0	2,75

A equação ajustada (desconsiderando-se os efeitos não significativos) foi utilizada para prever esta resposta na região analisada:

$$Y_5 = 4,09 - 4,56 X_2 + 2,92 X_2^2 \quad (5)$$

Onde:  $Y_5$  = tempo de fermentação da massa (h);  $X_2$  = valores codificados para a temperatura de fermentação da massa;  $X_3$  = valores codificados para o *Lactobacillus brevis*.

Dois parâmetros demonstraram o modelo como estatisticamente válido: o valor de  $F_{\text{calculado}}$  foi 6,4 vezes superior que o valor de  $F_{\text{tabelado}}$  para  $p < 0,05$ ; o coeficiente de determinação igual a 0,8314 demonstrou que 83,14% das variações são explicadas pelo modelo. A análise de variância está descrita no Anexo B.

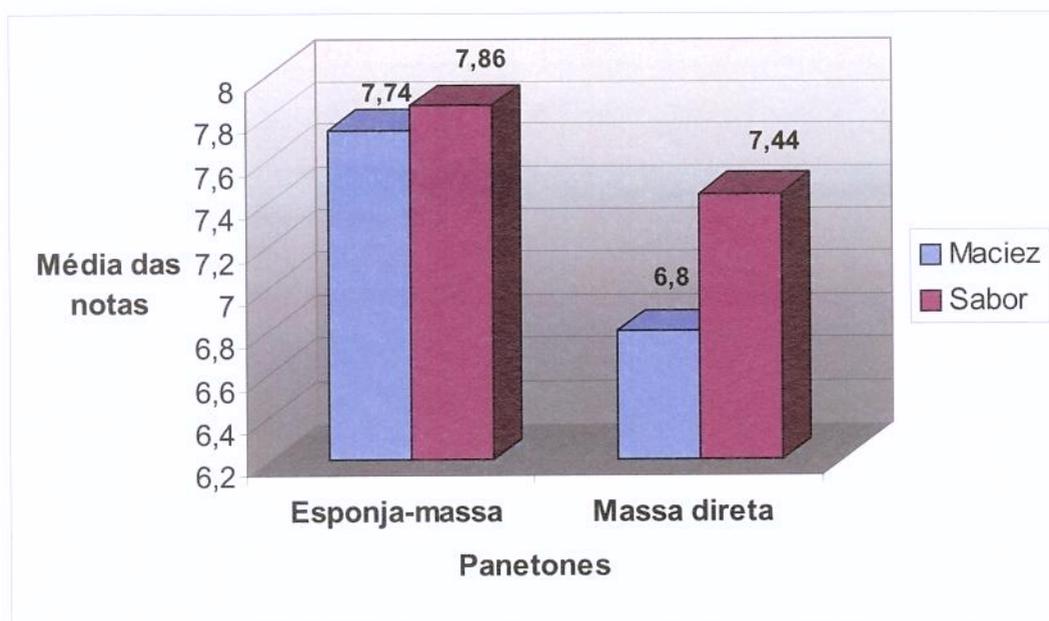


**Figura 7.** Efeito da temperatura e do percentual *Lactobacillus brevis* no tempo de fermentação da massa. A variável  $X_1$  foi fixada no ponto 0 (percentual de *Saccharomyces cerevisiae* = 2,0 %).

Analisando a Figura 7, podemos observar o efeito da temperatura de fermentação e da quantidade de *Lactobacillus brevis* sobre o tempo de fermentação da massa. Quanto menor a temperatura de fermentação maior foi o tempo de fermentação da massa. Não houve alteração no tempo de fermentação sobre a faixa percentual de *Lactobacillus brevis*. Desta forma, a mínima quantidade de *Lactobacillus brevis* empregada teve um tempo de fermentação próximo ao tempo obtido utilizando-se a máxima quantidade da cultura láctica.

#### 4.5. Análise sensorial dos panetones

A Figura 8 apresenta a avaliação sensorial realizada dos melhores panetones produzidos pelos métodos esponja-massa e massa direta, selecionado conforme descrito no item 3.2.15. A análise sensorial empregada foi o Teste de Preferência, utilizando a Escala Hedônica de 9 pontos, de acordo com DUTCOSKI (1996). Os atributos maciez e sabor dos panetones foram avaliados por 50 julgadores não treinados.



**Figura 8.** Avaliação da maciez e do sabor dos melhores panetones produzidos pelos métodos de fermentação esponja-massa e massa direta.

A análise sensorial demonstrou que o panetone preferido foi aquele produzido pelo processo de fermentação esponja-massa, tendo melhor aceitação nos atributos maciez e sabor. As notas atribuídas para a maciez apresentaram maior diferença entre as amostras de panetone. A média das notas atribuídas para a maciez foram: 7,74 pontos para o panetone produzido pelo processo esponja-massa e 6,80 pontos para o panetone do processo de massa direta. Provavelmente, esta nota mais baixa (6,80) pode estar relacionado ao seu baixo teor de umidade (29,64%), quando comparado com o panetone do processo esponja-massa (31,96%). Já, a média das notas atribuídas para o sabor foram: 7,86 pontos para o panetone do processo esponja-massa e 7,44 pontos para o panetone produzido pelo método massa direta.

#### **4.6. Avaliação da vida-de-prateleira dos panetones**

Os resultados das avaliações dos panetones com 30 dias de fabricação, produzidos pelo processo de fermentação esponja-massa e por fermentação massa direta, estão descritos nas Tabelas 19 e 20, respectivamente.

**Tabela 19.** Valores médios de pH, acidez titulável, umidade e perda de umidade dos panetones com 30 dias de fabricação produzidos pelo processo de fermentação esponja-massa.

Panetone com 30 dias				
Ensaio	pH	Acidez*	Umidade (%)	Perda de umidade (%)
1	5,00(0,00)	4,95(0,10)	29,77(0,28)	8,56(0,10)
2	5,45(0,00)	3,81(0,02)	28,44(0,25)	9,73(0,07)
3	5,47(0,03)	3,61(0,07)	24,82(0,16)	9,06(0,08)
4	5,40(0,00)	4,43(0,10)	25,83(0,30)	16,77(0,30)
5	5,40(0,00)	3,89(0,25)	27,95(0,88)	12,57(0,15)
6	5,02(0,03)	5,44(0,19)	28,94(0,51)	9,06(0,25)
7	5,40(0,00)	3,82(0,08)	26,66(0,53)	14,59(0,15)
8	5,20(0,00)	4,48(0,15)	23,98(0,83)	9,76(0,09)
9	5,25(0,00)	4,31(0,04)	28,89(0,32)	7,50(0,06)
10	5,13(0,03)	4,25(0,07)	28,15(0,24)	7,96(0,09)
11	4,90(0,00)	5,62(0,03)	27,17(0,42)	6,25(0,07)
12	5,50(0,00)	3,59(0,55)	26,98(0,81)	12,71(0,15)
13	5,10(0,00)	4,59(0,21)	27,47(0,15)	12,38(0,02)
14	5,15(0,00)	4,42(0,12)	28,45(0,27)	6,42(0,15)
15	5,22(0,03)	4,21(0,24)	27,67(0,51)	11,00(0,25)
16	5,40(0,00)	3,92(0,06)	27,15(0,40)	11,77(0,11)
17	5,42(0,03)	4,18(0,23)	27,10(0,26)	11,54(0,16)

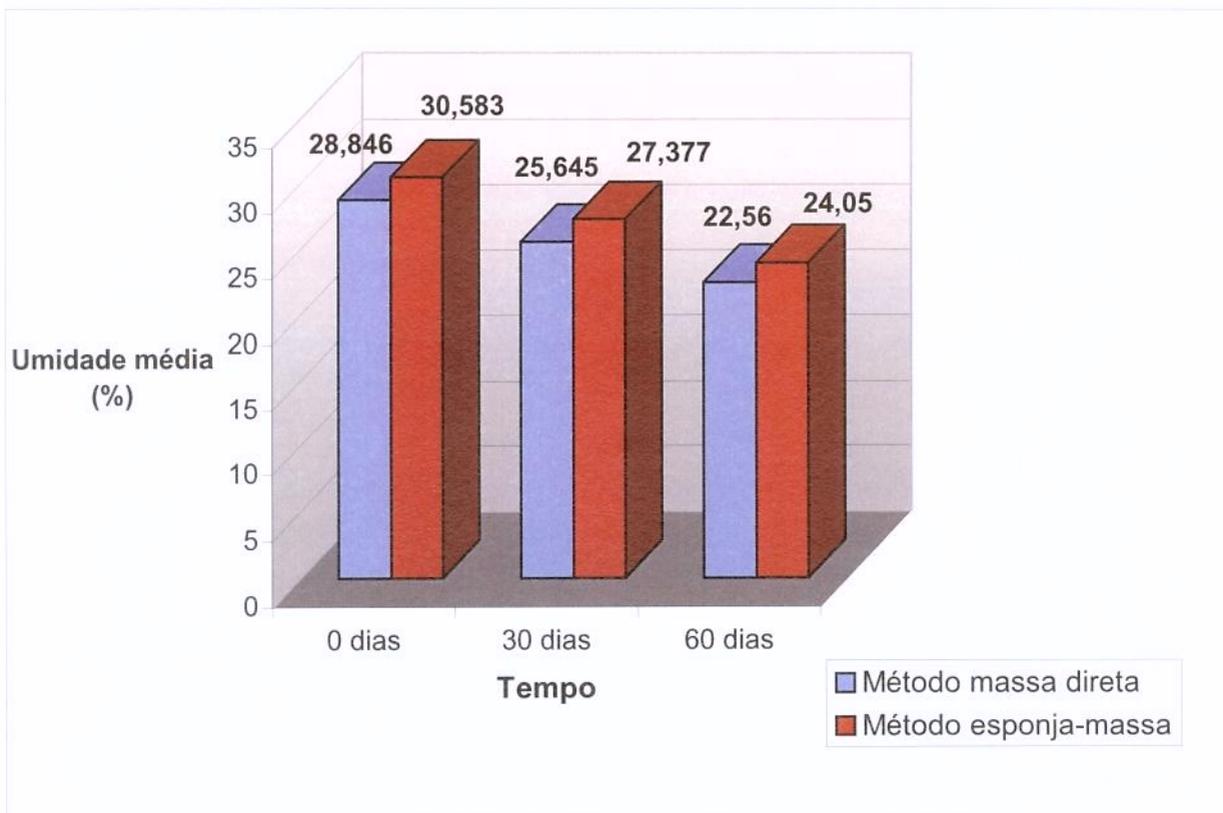
\* Acidez titulável em ml de NaOH 0,1N por 100 g ; Desvios-padrão entre parênteses

**Tabela 20** Valores médios de pH, acidez titulável, umidade e perda de umidade dos panetones com 30 dias de fabricação produzidos pelo processo de fermentação massa direta.

Panetone com 30 dias				
Ensaio	pH	Acidez*	Umidade (%)	Perda de umidade (%)
1	5,40(0,00)	4,53(0,17)	25,87(0,16)	12,47(0,13)
2	5,53(0,03)	3,67(0,43)	25,31(0,03)	10,02(0,20)
3	5,25(0,00)	4,38(0,29)	26,37(0,03)	11,51(0,14)
4	5,27(0,03)	4,23(0,19)	26,88(0,06)	13,09(0,22)
5	5,20(0,00)	4,80(0,12)	26,99(0,11)	12,54(0,12)
6	5,30(0,00)	3,85(0,16)	25,17(0,07)	7,56(0,11)
7	5,45(0,00)	4,11(0,08)	26,98(0,14)	11,43(0,10)
8	5,50(0,00)	3,20(0,06)	25,02(0,18)	9,77(0,19)
9	5,30(0,00)	3,51(0,13)	26,29 (0,08)	8,22(0,14)
10	5,60(0,00)	3,93(0,06)	23,86(0,24)	14,09(0,05)
11	5,12(0,03)	4,00(0,09)	25,68 (0,91)	7,26(0,31)
12	5,63(0,03)	3,98(0,04)	23,91(0,49)	13,51(0,09)
13	5,70(0,00)	4,03(0,15)	24,07(0,21)	13,63(0,34)
14	5,60(0,00)	3,43(0,12)	25,11(0,60)	12,03(0,24)
15	5,50(0,00)	3,76(0,15)	25,44(0,37)	9,88(0,16)
16	5,40(0,00)	4,32(0,08)	25,86(0,57)	9,14(0,17)
17	5,45(0,00)	4,43(0,11)	26,27(0,36)	9,12(0,28)

\* Acidez titulável em ml de NaOH 0,1N por 100 g ; Desvios-padrão entre parênteses

A Figura 9 apresenta a umidade média dos panetones com 0, 30 e 60 dias de fabricação produzidos pelo processo de fermentação esponja-massa, assim como, dos panetones produzidos pelo processo de fermentação massa direta.



**Figura 9.** Umidade média dos panetões com 0, 30 e 60 dias de fabricação.

Observa-se que os panetões apresentaram considerável perda de umidade ao longo da vida-de-prateleira. Os panetões com 30 dias produzidos através do processo esponja-massa apresentaram perda de umidade média de 10,45%, enquanto que os mesmos panetões com 60 dias de fabricação apresentaram perda de umidade média de 21,36%.

Os panetões com 30 dias produzidos através do processo massa direta apresentaram perda de umidade média de 10,89%, enquanto que os mesmos panetões com 60 dias de fabricação apresentaram perda de umidade média de 21,79%. Verificou-se que os panetões produzidos pelo processo massa direta apresentaram maior perda de umidade média em relação a perda de umidade dos panetões do processo esponja-massa, porém as diferenças não foram estatisticamente significativas.

Em relação à umidade, os panetones do processo esponja-massa apresentaram ao longo do estudo de vida-de-prateleira sempre um teor médio de umidade em torno de 6 % acima dos panetones do processo de fermentação direta, e que se manteve praticamente constante durante o estudo, pois a perda de umidade dos panetones dos dois processos, como citado anteriormente, foi bastante similar.

## 5. CONCLUSÃO

Em vista dos resultados obtidos, pode-se afirmar que as principais conclusões deste trabalho são:

1. O percentual de levedura (0,3 a 3,7 %) não teve influência direta no tempo de fermentação da esponja, já que o término da fermentação foi indicado apenas pelo pH da esponja, que é influenciado pela cultura láctica. Sendo assim, para a redução de custos e evitar o residual de fermento no produto final, recomenda-se adicionar o mínimo percentual de levedura (0,3%).
2. O melhor panetone do processo de fermentação esponja, conforme pontuação do *Baking test* foi produzido com 1,0 % de *Saccharomyces cerevisiae*, 3,0 % de *Lactobacillus brevis* e temperatura de fermentação de 23,0°C. Já o melhor panetone do processo de fermentação massa direta foi produzido com 0,3% de *Saccharomyces cerevisiae*, 2,0% de *Lactobacillus brevis* e temperatura de fermentação de 28°C.
3. No processo esponja, analisando os melhores resultados obtidos do *Baking test*, verifica-se que estes foram encontrados nos ensaios em que a temperatura variava entre 23 a 28°C, sendo assim, pode-se concluir que a esta faixa de temperatura é a mais indicada para o processo esponja-massa.
4. No estudo de vida-de-prateleira, o teor de umidade dos panetones do processo esponja foi sempre maior que do processo de massa direta, constituindo uma vantagem para o processo esponja. Já, em relação à perda de umidade, os resultados encontrados foram similares, porém no processo esponja foi constantemente inferior à encontrada no processo de massa direta, constituindo também em uma vantagem para o processo esponja.

5. O panetone preferido foi aquele produzido pelo processo de fermentação esponja-massa, tendo melhor aceitação nos atributos maciez e sabor. As notas atribuídas para a maciez apresentaram maior diferença entre as amostras de panetone. A média das notas atribuídas para a maciez foram: 7,74 pontos para o panetone produzido pelo processo esponja-massa e 6,80 pontos para o panetone produzido pelo processo massa direta. Já a média das notas atribuídas para o sabor foram: 7,86 pontos para o panetone produzido pelo processo esponja-massa e 7,44 pontos para o panetone produzido pelo método massa direta. Neste último atributo não houve diferença significativa entre os valores obtidos.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC – AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved Methods**, 8<sup>th</sup> ed., St. Paul: AACC, 1989.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução nº 90 de 18/10/2000**. Disponível em:

[Http://anvisa.gov.br/alimentos/legis/especifica/htm](http://anvisa.gov.br/alimentos/legis/especifica/htm), acesso em 03/01/2003.

BARBER, S.; MARTINEZ-ANAYA, M.A.; BAGUENA, R.; TORNER, M.J.; Microflora de masa madre panaria. I. Identificación y propiedades funcionales de microorganismos de masas madre industriales, elaboradas com harina de trigo. **Rev. Agroquim. Technol. Aliment**, v. 23, n.4. p. 552-562, 1983.

BARBER, S.; MARTINEZ-ANAYA, M.A.; BAGUENA, R.; TORNER, M.J.; Microflora de masa madre panaria. IV. Propiedades funcionales en masas elaboradas com harina de trigo de cultivos puros – leveduras y lactobacilos – aislados de masas madre industriales. **Rev. Agroquim. Technol. Aliment**, v. 27, n. 1, p. 107-119, 1987.

CATTANI, Roberto. **Brasil: Perfume de panetone nos cinemas** brasileiros. Disponível em: [www.ansa.com.br/html/p\\_materia.asp](http://www.ansa.com.br/html/p_materia.asp) 30/11/2001.

CHIARA, Márcia. **União de Bauducco e Visconti vai dominar mais da metade da produção de panetones**. Jornal O Estado de São Paulo. 04/10/2001.

DUBOIS, D. **What is fermentation? It's essential to bread quality**. Bakers Digest v. 58, n. 1, p. 11-14, 1984.

DUTCOSKI, S. **Análise Sensorial de Alimentos**. Curitiba: Ed. Universitária Champagnat, 1996. p. 81,83.

EL-DASH, A.; CAMARGO, C. O.; MANCILLA DIAZ, N. **Fundamentos da tecnologia de panificação**. São Paulo: Secretaria da Indústria e Comércio Ciência e Tecnologia, 1971. 349 p.

EL-DASH, A. A; Molecular structure of gluten and viscoelastic properties of dough: a new concept. In: BRAZILIAN CONGRESS ON PROTEINS, 1. Campinas, 1990. Campinas, Universidade Estadual de Campinas, 1991. p. 513-530.

FERRARI, M. C. Estudos de viabilidade sobre avaliação de qualidade de farinhas de trigo através de medidas das propriedades do glúten. Tese de mestrado. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 1998. 111p.

FOSCHINO, R.; GALLI, A .; PERRONE, F.; OTTOGALLI, G. Prodotti da forno ottenuti da impasti a lievitazione naturale: studio e caratterizzazione della microflora tipica. *Tecnica Molitoria*, maggio, p. 485-511, 1995.

FOSCHINO, R.; TERRANEO, D.; MORA, D.; GALLI, A .; Microbial characterization of sourdoughs for sweet baked products. *Italian Journal Food Science*, v. 11, n. 1, p. 19-29, 1999.

GÉLINAS, P.; LACHANCE, O . Development fermented dairy ingredients as flavor enhancers for bread. *Cereal Chemistry*, v. 72, n. 1, p. 17-21, 1995.

GUILLIAND, Stanley E. **Bacterial starter cultures for foods**. Florida: CRC Press Inc, 1985. p. 58-59, 100-121.

JAVANAINEN, P & LINKO, Y.Y.; Factors affecting rye sour dough fermentation with mixed-culture pre-ferment of lactic and propionic acid bacteria. **Journal of Cereal Science**. v. 18, p. 171-185, 1993.

LÖNNER, C. & PREVEN-ÄKESSON, K.; Effects of lactic acid bacteria on the properties of sour dough bread. **Food Microbiology**. v. 6, p. 19-35, 1989.

MACHADO, L. M. P. Pão sem glúten: otimização de algumas variáveis de processamento. Tese de mestrado. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 1996. 186p.

MARTINEZ-ANAYA, M. A ; PITARCH, B.; BAYARRI, P; BARBER, C.B. Microflora the sourdoghs of wheat flour bread. X. Interactions between yeasts and lactic acid bacteria in wheat doughs and their effects on bread quality. **American Association of Cereal Chemists, Inc.** v. 67, n. 1, p. 85-91, 2000.

MEUSER, F. Development of fermentation technology in modern bread factories. **Cereal Foods World**, v. 40, n. 3, p. 114-122, 1995.

NETO, B.B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de experimentos**. Ed. Unicamp, 2<sup>a</sup> ed., 1995, 299p.

OLIVEIRA, J.S. **Queijo: fundamentos tecnológicos**. Campinas:Ícone,1986. 146p.

OTTOGALLI, G.& GALLI, A Instituto di Microbiologia Argraria e Tecnic, Universita di Milano, (manuscript), 1972.

PYLER, E.J. The mixing process in: Baking: sience & technology, 3ed. Kansas, Sosland P. C., 1988a, v.2, p. 589,-614.

PIZZINATO, A.; CAMPAGNOLLI, D. **Avaliação e controle da qualidade da farinha de trigo**. Campinas: ITAL Centro de Tecnologia de Farinhas e Panificação. Nov/1992.

PREGNOLATTO, W. **Normas analíticas do instituto Adolfo Lutz**. Vol.1. 3ª Edição. São Paulo: Inst. Adolfo Lutz, 1985. p. 21-29, 125-129.

QUAGLIA, Giovanni. **Ciencia y tecnología de la panificación**. Zaragoza: Acribia, 1991. 485 p.

SILVA, N; JUNQUEIRA, V.; SILVEIRA, N. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997. p. 105-106, 191.

SUGIHARA, T.F. Non-traditional fermentations in the production of baked goods. *Bakers Digest* v.51, n. 5, p. 76-80 e p. 142, 1977.

SUGIHARA, T.F. Microbiology of breadmaking. In: WOOD, B. J.B. **Microbiology of fermented foods**. Cap. 6. London: Ed. Elsevier Applied Science Publishers, 1985. p.199-124.

SUGIHARA, T.F; ZORZANELLO, D. **The technology of pandoro production: Italian christmas cake**. *Bakers Digest* v. 56, n. 6, p. 12-15, 1982.

SUGIHARA, T.F; KLINE, L & MULLER, M. **Microorganisms of the sanfrancisco sour dough bread process. Yeasts responsible for the leavening action**. *Applied Microbiology*. v. 21, n.3, p. 456-468, 1971.

TEDRUS, G. A. S. & ORMENESE, R. C. S. C. Colomba pascal. **Manual Técnico n. 02**, Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, 1995. 19p.

WEHRLE, K.; GRAU, H.; ARENDT, E. K. Effects of lactic acid, acetic acid, and table salt on fundamental rheological properties of wheat dough. **Cereal Chemistry**, v. 74, n. 6, p. 739-744, 1997

WEHRLE, K. & ARENDT, E. K. Rheological changes in wheat sourdough during controlled and spontaneous fermentation. **Cereal Chemistry**, v. 75, n. 6, p. 882-886, 1998.

WOOD, B. J.; BRIAN, J. B.; HODGE, M. **Yeast - Lactic acid bacteria interactions and their contribution to fermented foodstuffs**. In: WOOD, B.J.B. **Microbiology of fermented foods**. Cap.7. London: Elsevier Applied Science Publishers, London, 1985. p. 263-293.

**ANEXO A – Modelo do teste de preferência aplicado na análise sensorial dos panetones.**

**TESTE DE PREFERÊNCIA**

Avalie da esquerda para a direita as amostras de panetone usando a escala abaixo para descrever o quanto gostou ou desgostou dos atributos maciez e sabor.

- 1 – Desgostei muitíssimo
- 2 – Desgostei muito
- 3 – Desgostei regularmente
- 4 – Desgostei ligeiramente
- 5 – Indiferente
- 6 – Gostei ligeiramente
- 7 – Gostei regularmente
- 8 – Gostei muito
- 9 – Gostei muitíssimo

<b>AMOSTRA</b>	<b>MACIEZ</b>	<b>SABOR</b>

COMENTÁRIOS:

---

---

---

---

**ANEXO B – Análises de variância utilizadas nas análises estatísticas da metodologia de superfície de resposta**

Processo Esponja-massa

Variável Independente: Tempo de fermentação da esponja

Variáveis Dependentes: Temperatura de fermentação (°C)

*Saccharomyces cerevisiae* (%)

<b>Factor</b>	<b>SS</b>	<b>df</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Temp (°C) (L)	6334,42*	1*	6334,419*	106,2671*	0,000007*
Temp (°C) (Q)	3370,08*	1*	3370,081*	56,5370*	0,000068*
Lack of fit	934,99	6	155,832	2,6143	0,104566
Pure Error	476,87	8	59,608		
Total SS	11116,36	16			

<b>Factor</b>	<b>Regressn. Coeff.</b>	<b>Std. Err. Purê Err.</b>	<b>t(8)</b>	<b>p</b>	<b>-95,% Cnf. Limt</b>	<b>+95,% Cnf. Limt</b>
Mean/Interc.	42,9886*	2,542606	16,9073	0,00000*	37,1253*	48,8518*
(2) Temp (°C)	-21,5462	2,090116	-10,309	0,000007*	-26,3660*	-16,7263*
Temp (°C)	16,1132	2,142965	7,5191	0,000068*	11,1715*	21,0549*

Processo Esponja-massa

Variável Independente: Tempo de fermentação da massa

Variáveis Dependentes: Temperatura de fermentação (°C)

*Saccharomyces cerevisiae* (%)

Factor	SS	df	MS	F	P
(1) Saccha (L)	36,0607*	1*	36,0607*	7,85113*	0,023127*
Saccha (Q)	9,8831*	1	9,8831	2,15174	0,180585
(2) Temp (°C) (L)	257,1556*	1*	257,1556*	55,98786*	0,000070*
Temp (°C) (Q)	104,8515*	1*	104,8515*	22,82825*	0,001394*
1L by 2L	3,6234	1	3,6234	0,78889	0,400351
Lack of fit	143,7462*	3*	47,9154*	10,43213	0,003867*
Pure Error	36,7445	8	4,5931		
Total SS	582,8827	16			

Factor	Regressn. Coeff.	Std. Err. Purê Err.	t(8)	p	-95,% Cnf. Limt	+95,% Cnf. Limt
Mean/Interc.	3,13131*	0,927525*	3,37599*	0,009699*	0,99243*	5,27019*
(1) Saccha (L)	-1,62567*	0,580186*	-2,80199*	0,023127*	-2,96359*	-0,28776*
Saccha (Q)	0,89606	0,610862	1,46688	0,180585	-0,51259	2,30471
(2) Temp (°C) (L)	-4,34125*	0,580186*	-7,48250*	0,000070*	-5,67916*	-3,00333*
Temp (°C) (Q)	2,91863*	0,610862*	4,77789*	0,001394*	1,50998*	4,32728*
1L by 2L	0,67300	0,757715	0,88820	0,400351	-1,07429	2,42029

Processo Esponja-massa

Variável Independente: Tempo de fermentação da massa

Variáveis Dependentes: Temperatura de fermentação (°C)

*Lactobacillus brevis* (%)

Factor	SS	df	MS	F	P
(1) Temp (°C) (L)	257,1556*	1*	257,1556*	17,81993*	0,002910*
Temp (°C) (Q)	83,2961*	1*	83,2961*	5,77211*	0,043007*
(2) Lactob (L)	0,0039	1	0,0039	0,00027	0,987324
Lactob (Q)	3,0648	1	3,0648	0,21238	0,657177
1L by 2L	0,4437	1	0,437	0,03075	0,865166
Lack of fit	111,0992	3	37,0331	2,56626	0,127428
Pure Error	115,4463	8	14,4308		
Total SS	582,8827	16			

Factor	Regressn. Coeff.	Std. Err. Purê Err.	t(8)	P	-95,% Cnf. Limt	+95,% Cnf. Limt
Mean/Interc.	4,50567*	1,644067*	2,74056*	0,025427*	0,71444*	8,29689*
(1) Temp (°C) (L)	-4,34125*	1,028398*	-4,22137*	0,002910*	-6,71274*	-1,96976*
Temp (°C) (Q)	2,60138*	1,082772*	2,40252*	0,043007*	0,10451*	5,09826*
(2)Lactob (L)	-0,01686	1,028398	-0,01639	0,987324	-2,38835	2,35463
Lactob (Q)	-0,49899	1,082772	-0,46085	0,657177	-2,99587	1,99788
1L by 2L	-0,23550	1,343074	-0,17534	0,865166	-3,33263	2,86163

Processo Massa direta

Variável Independente: Tempo de fermentação da massa

Variáveis Dependentes: Temperatura de fermentação (°C)

*Saccharomyces cerevisiae* (%)

Factor	SS	df	MS	F	P
(1) Saccha (L)	48,3457*	1*	48,3457*	27,7944*	0,000197*
Saccha (Q)	10,7661*	1*	10,7661*	6,1895*	0,28543*
(2) Temp (°C) (L)	283,5811*	1*	283,5811*	163,0336*	0,000000*
Temp (°C) (Q)	120,9706*	1*	120,9706*	69,5472*	0,000002*
Pure Error	20,8728	12			
Total SS	474,4117	16			

Factor	Regressn. Coeff.	Std. Err. Purê Err.	t(12)	p	-95% Cnf. Limt	+95% Cnf. Limt
Mean/Interc.	3,16941*	0,570788*	5,5527*	0,000125*	1,92578*	4,41305*
(1) Saccha (L)	-1,88233*	0,357040*	-5,2720*	0,000197*	-2,66025	-1,10441*
Saccha (Q)	0,93523*	0,375917*	2,4879*	0,028543*	0,11618*	1,75429*
(2) Temp (°C) (L)	-4,55885*	0,357040*	-12,7685*	0,000000*	-5,33677*	-3,78092*
Temp (°C) (Q)	3,13496*	0,375917*	8,3395*	0,000002*	2,31590*	3,95401*

Processo Massa direta

Variável Independente: Tempo de fermentação da massa

Variáveis Dependentes: Temperatura de fermentação (°C)

*Lactobacillus brevis* (%)

Factor	SS	df	MS	F	P
(1) Temp (°C) (L)	283,5811*	1*	283,5811*	38,09361*	0,000267*
Temp (°C) (Q)	110,8460*	1*	110,8460*	14,89001*	0,004817*
Lack of fit	20,4300	6	3,4050	0,45740	0,821892
Pure Error	59,5546	8	7,443		
Total SS	474,4117	16			

Factor	Regressn. Coeff.	Std. Err. Purê Err.	t(8)	p	-95,% Cnf. Limt	+95,% Cnf. Limt
Mean/Interc.	4,09077*	0,898541*	4,55268*	0,001868*	2,01873*	6,16281*
(1) Temp (°C)	-4,55885*	0,738633*	-6,17200*	0,000267*	-6,26214*	-2,85556*
Temp (°C)	2,92228*	0,757310*	3,85876*	0,004817*	1,17592*	4,66864*