

## **MICROBIOLOGIA PRÁTICA: CONTAGEM DE BOLORES E LEVEDURAS EM LEVAIN (FERMENTO NATURAL)**

**GUSTAVO EINHARDT SOARES<sup>1</sup>; MIRIAN RIBEIRO GALVÃO MACHADO<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Federal de Pelotas, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA), Bacharelado em Química de Alimentos – [gustavoeinhhardt@gmail.com](mailto:gustavoeinhhardt@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [mgalvao@ufpel.edu.br](mailto:mgalvao@ufpel.edu.br)

### **1. INTRODUÇÃO**

Desde seu descobrimento na natureza, até os dias atuais, grãos como trigo, cevada, centeio, arroz e milho fazem parte da alimentação humana desempenhando um importante papel na dieta. Os grãos são bastante utilizados em panificação, sendo o pão um alimento amplamente consumido ao redor do mundo por diversas culturas e de diversas formas (SILVA, 2005). Estima-se que 1,8 bilhões de pessoas consomem diferentes tipos de pães no mundo, e relatos indicam que o pão se originou há 10000 anos a.C. no Egito junto ao cultivo de trigo, tendo surgido de forma ocasional e por coincidência, sendo observado e transformado em conhecimento pelo homem (SANTOS, 2005; SALES, 2010; CHAVAN, CHAVAN; 2011).

A Fermentação Natural na elaboração de pães foi esquecida a partir do século XX, porém vem retomando seu lugar no mercado devido a maior procura dos consumidores, resgate do pão artesanal e aos efeitos benéficos associados à qualidade dos pães. Este tipo de pão caracteriza-se pelo longo tempo de fermentação e características sensoriais mais perceptíveis como *flavour* único, casca grossa e crocante, miolo aerado e macio e, sabor levemente acidificado (SUAS, 2012; APLEVICZ, 2014).

O Fermento Natural, também denominado *Levain* ou *Sourdough*, consiste em uma mistura de água e farinha obtida de cereal, geralmente o trigo, fermentada por uma população heterogênea de bactérias láticas e leveduras presentes espontaneamente no ambiente. O fermento natural também pode ser adicionado de sucos de frutas (maçã e uva), caldo de cana ou iogurte, destacando-se a influência do tipo de farinha utilizada, pois farinhas com altos teores de cinzas possuem mais microrganismos vivos na casca dos cereais (APLEVICZ, 2014; GONÇALVES *et al*, 2020).

Na microbiota do Fermento Natural destacam-se bactérias láticas do gênero *Lactobacillus* e leveduras das espécies *Saccharomyces* e *Candida* que são afetadas por diferentes fatores como tipo e qualidade da farinha, temperatura ambiente, volume de água adicionado, manutenção e exposição ao ambiente. No processo de fermentação as bactérias láticas, apresentam temperatura ideal entre 30°C a 35°C, onde produzem ácidos orgânicos como acético e lático, desenvolvendo odor e sabor ácido. Entretanto, a produção em quantidades elevadas desses ácidos orgânicos pode inibir o crescimento bacteriano. Alternativamente, as leveduras são microrganismos mesófilos com temperatura ótima de crescimento entre 25°C e 30°C, porém tem atividade em temperaturas mais baixas (15°C), e crescimento em pH mais ácido (em torno de pH 4,0), produzindo etanol e gás carbônico (EEEP, 2012).

Segundo KARKLE (2019) pães de fermentação natural apresentam menor índice glicêmico, redução de ácido fítico, formação de compostos aromáticos e maior biodisponibilidade de minerais. Nos últimos anos e, em especial durante o

momento da pandemia da Covid-19, o consumidor buscou por produtos diferenciados e de melhor qualidade no mercado, levando em conta não só o preço do produto, mas sua contribuição de forma nutricional e sensorial, o que ocasionou o aumento na busca por pães de fermentação natural por conta de sua melhor digestibilidade, saciedade, e aspecto rústico (VERAKIS, 2021).

Neste contexto, o trabalho em questão teve como objetivo aplicar conhecimentos de microbiologia na elaboração de um Fermento Natural (*Levain*) e realizar a contagem de bolores e leveduras presentes no mesmo.

## 2. METODOLOGIA

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia de Alimentos, do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA).

O *Levain* foi obtido de acordo com a metodologia de CAMARGO (2013), através da mistura inicial de farinha de trigo branca e água, na proporção 2:1 (p/p), homogeneizados em um recipiente de vidro estéril com presença de oxigênio, durante um período de 8 (oito) dias e mantido em temperatura ambiente de 22 a 26°C. A partir desta mistura inicial, a cada dia, após o descanso de 24 horas, 50% era descartado e 50% restaurado com farinha e água sendo a proporção entre os ingredientes modificados ao longo do processo de fermentação.

Desta forma, no primeiro dia do processo após o descarte a adição de farinha e agua foram feitas na proporção 2:1. Esta proporção foi mantida no 2º e 3º dia de fermentação. No 4º e 5º dia a proporção foi alterada para 3:1. No 6º dia a proporção foi alterada para 2:3. No 7º e 8º dia foi retomada a proporção 2:1.

O *Levain* obtido foi analisado a partir de duas unidades amostrais, com peso de 25g, descritas como (A) e (NA). A amostra alimentada (A) foi assim denominada porque recebeu adição de farinha e água em proporções iguais (1:1 p/p), para haver a multiplicação dos microrganismos em temperatura ambiente durante 12h, antecedendo a análise. A amostra não alimentada (NA) foi retirada de uma porção do *Levain* armazenada sob refrigeração durante 4 (quatro) dias.

Foi realizada análise microbiológica de contagem de Bolores e leveduras nas amostras de *Levain* (A) e (NA), incubadas a 25°C ± 2°C, durante 5 dias, e os resultados expressos em unidades formadoras de colônias por grama (UFC g<sup>-1</sup>) segundo a metodologia descrita em SILVA *et al.* (2017).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela a seguir (tabela 1) são apresentados os valores obtidos para as amostras de *Levain* (A) e (NA).

Tabela 1 - Resultados da análise microbiológica de contagem de bolores e leveduras nas amostras de *Levain* (A) e (NA)

Análise	<i>Levain</i>	
	Ativado (A)	Não ativado (NA)
Bolores e leveduras		
UFC g <sup>-1</sup>	4,5 x10 <sup>7</sup>	5,7 x10 <sup>7</sup>
Log UFC g <sup>-1</sup>	7,65	7,75

Fonte: autor (2022)

Analizando os resultados obtidos na análise das amostras de *Levain*, observa-se uma carga microbiana elevada de bolores e leveduras variando de 4,5x10<sup>7</sup> para a amostra (A) a 5,7x10<sup>7</sup> UFC g<sup>-1</sup> para a amostra (NA).

SANTOS (2019) analisando bolores e leveduras na produção de pão via *Sourdough* tipo II obteve após 24 horas de fermentação 5,88 log UFC g<sup>-1</sup> inferior ao obtido neste experimento, o que foi atribuído a redução do pH e aumento de acidez devido a produção de ácidos orgânicos pelas bactérias ácido lácticas presentes.

APLEVICZ (2014) menciona que no *Levain* podem ser encontradas bactérias lácticas e leveduras, sendo que os níveis de bactérias são maiores com 8 ou 9 log UFC g<sup>-1</sup> e leveduras apresentam 7 log UFC g<sup>-1</sup>, corroborando este experimento.

TIRLONI (2017), obteve valores próximos de leveduras em uma formulação de *Levain* que continha presença de sal, com valores de 4,4 x10<sup>7</sup> UFC g<sup>-1</sup>.

Destaca-se que na composição do *Levain* a disponibilidade de nutrientes, composição microbiana da farinha, temperatura, tempo e pH, influenciam no desenvolvimento das leveduras, estando a microbiota final relacionada a interação com as bactérias lácticas.

#### 4. CONCLUSÕES

O conhecimento adquirido em técnicas de análises microbiológicas influenciou positivamente no preparo das amostras, execução das análises, contagens, e conhecimento dos microrganismos de interesse. A maneira de produzir o *Levain* e reativar influencia na contagem final de bolores e leveduras presentes. Entretanto, análises e estudos mais prolongados seriam necessários para uma confirmação completa.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

AMÉRICO, Luis Camargo. **Pão nosso: receitas caseiras com fermento natural.** São Paulo: Editora Schwarcz, 2013.

APLEVICZ, K. S. Fermentação natural em pães: ciência ou modismo. **Aditivos Ingredientes.** São Paulo, v.1, n.1, p. 34-36, 2014.

CHAVAN, R.S; CHAVAN, S.R. **Tecnologia Sourdough** — uma maneira tradicional para alimentos saudáveis: uma revisão, v 10, p.169-182, 2011.

Escola Estadual de Educação Profissional - EEEP. **Microbiologia dos Alimentos.** 2012. 66f. Fortaleza, Ceará. v. 1, p. 1-66.

GONÇALVES, F.T.; RODRIGUES, J. M.; ACOSTA, M. A. M.; COUTINHO, C. Uma proposta de experimentação investigativa no ensino de ciências: a produção de *Levain*. In: **SIMPÓSIO SUL-AMERICANO DE PESQUISA EM ENSINO DE CIÊNCIAS – SSAPEC**, 1. Cerro Largo, 2020, *Anais ...* Cerro Largo: Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Cerro Largo.

KARKLE, E. N. L. Opções de processos e ingredientes para melhorar o valor nutricional do pão. **SBAN (Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição).** v.1, n. 1, p. 1-18, 2019. Disponível em: <http://www.sban.org.br/documents-tecnicos-interno.aspx?post=11>. Acesso em: 09/07/2022.

SALES, S. **O culto do pão.** 2010. 18f. Dissertação (curso de Animação Artística), Instituto Politécnico de Bragança - Escola Superior de Educação, (IPB).

Disponível em:  
<https://www.proquest.com/openview/b7b70aa9710c9f96f54b49dfe2c54dac/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2026366&diss=y> . Acesso em: 04/07/2022.

**SANTOS. N. N. O. Aplicação tecnológica de culturas iniciadoras para produção de pão via sourdough tipo II.** 2019. 84f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina.

**SILVA, A. M. M. A história do pão.** 2005. 20f. Trabalho de Conclusão de curso (Curso de Gastronomia), Faculdades Integradas Da Associação de Ensino de Santa Catarina (FASSESC). Disponível em: <https://idoc.pub/documents/idocpub-8x4eg7geml3j> . Acesso em: 04/07/2022.

Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS).

**TIRLONI, L. Aplicação tecnológica de fermento natural “levain” em substituição ao processo tradicional de elaboração de pães.** 2017. 35f. Curso Técnico em Química, Centro Universitário Univates. Lajeado/RS. Disponível em: [Aplicacao\\_Tecnologica\\_de\\_Fermento\\_Natural\\_Levain\\_em\\_Substituicao\\_no\\_Processo\\_Tradicional\\_de\\_Elaboracao\\_de\\_Paes\\_2017-A.pdf](http://Aplicacao_Tecnologica_de_Fermento_Natural_Levain_em_Substituicao_no_Processo_Tradicional_de_Elaboracao_de_Paes_2017-A.pdf) (univates.br) . Acesso em: 04/07/2022.

**VERAKIS. Pão de fermentação natural: uma tendência de segmentação e diferenciação.** Disponível em : <https://verakis.com/pao-de-fermentacao-natural-uma-tendencia-de-segmentacao-e-diferenciacao/>