

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

**INFLUÊNCIA DA MICROBIOTA AUTÓCTONE DE FARINHAS  
BRASILEIRAS NA FERMENTAÇÃO DE PÃES *SOURDOUGH***

Thamylles Thuany Mayrink Lima

*Doctor Scientiae*

**VIÇOSA - MINAS GERAIS**

**2024**

**THAMYLLLES THUANY MAYRINK LIMA**

**INFLUÊNCIA DA MICROBIOTA AUTÓCTONE DE FARINHAS  
BRASILEIRAS NA FERMENTAÇÃO DE PÃES *SOURDOUGH***

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: José Guilherme Prado Martin

Coorientadores: Juliano de Dea Lindner  
Mônica Ribeiro Pirozi

**VIÇOSA - MINAS GERAIS**

**2024**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

L732i  
2024

Lima, Thamylyes Thuany Mayrink, 1996-  
Influência da microbiota autóctone de farinhas brasileiras  
na fermentação de pães *sourdough* / Thamylyes Thuany Mayrink  
Lima. – Viçosa, MG, 2024.

1 tese eletrônica (191 f.): il. (algumas color.).

Inclui anexo.

Inclui apêndice.

Orientador: José Guilherme Prado Martin.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Microbiologia, 2024.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.349>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Pão de massa fermentada. 2. Fermentação. 3. Avaliação sensorial. 4. Compostos bioativos. I. Martin, José Guilherme Prado, 1983-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Microbiologia. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola. III. Título.

CDD 22. ed. 664.7523


**THAMYLLLES THUANY MAYRINK LIMA**

**INFLUÊNCIA DA MICROBIOTA AUTÓCTONE DE FARINHAS  
BRASILEIRAS NA FERMENTAÇÃO DE PÃES *SOURDOUGH***

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.


APROVADA: 29 de fevereiro de 2024.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente  
 **THAMYLLLES THUANY MAYRINK LIMA**  
Data: 18/07/2024 07:42:01-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Thamylles Thuany Mayrink Lima  
Autora

Documento assinado digitalmente  
 **JOSE GUILHERME PRADO MARTIN**  
Data: 18/07/2024 08:13:21-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

José Guilherme Prado Martin  
Orientador

**Dedico**

A Deus, minha força diária;

Aos meus amados pais, Ângela e Flávio;

Ao meu irmão Patrick;

Aos meus sobrinhos Ana Cecília e Otávio Victor, meu amor mais sincero;

Ao meu esposo Igor;

À toda minha família e amigos.

## AGRADECIMENTOS

Durante esta trajetória passei por diferentes momentos, ora foram acolhedores e ora profundamente dolorosos. No momento, celebro sua conclusão, completando mais uma etapa da minha vida, um sonho de infância realizado. Nesta ocasião única e especial, necessito tecer agradecimentos aos que se fizeram presentes, que contribuíram para que hoje eu tenha a oportunidade de vivenciar este momento.

Sou eternamente grata a Deus, que de maneira tão infinita me escolheu e agraciou com suas bênçãos, dando-me a oportunidade de passar por muitos momentos de vitórias, mas também por fracassos e dificuldades, que serviram para mostrar que sou forte e me direcionar a novos caminhos. Deus, neste momento de realização e gratidão, elevo meu coração a Ti, como forma de reconhecimento por ter me sustentado com todo seu amor. Nos momentos de solidão, medo e desânimo, encontrei consolo em Tua presença, que me mostrou um novo caminho e renovou minha determinação. Agradeço-te, meu pai, por ser fonte inabalável de inspiração, guia e apoio. Sua graça infinita foi luz nos meus dias difíceis e Sua presença foi meu farol na busca do conhecimento.

Aos meus pais, Flávio e Ângela, que sempre primaram pela minha educação, agradeço pelo exemplo divino de amor, doação, união e caráter. Papai, obrigada pela força e estabilidade que você sempre trouxe à nossa família, por fazer-se constantemente presente e ser meu exemplo de perseverança nos momentos mais desafiadores. Mamãe, suas palavras de encorajamento foram como um abraço acolhedor nos momentos em que a jornada parecia difícil demais. Seu amor, cuidado, disposição para ouvir e me ajudar foram preciosos ao longo deste percurso. Ambos, juntos, formam a base do meu sucesso. O amor e apoio não só me deram confiança para continuar, mas também me ensinaram a importância da família e do apoio mútuo.

Aos meus sobrinhos, Ana Cecília e Otávio Victor, que trazem alegria e inocência aos meus dias. Seus sorrisos contagiantes foram meu lembrete constante da importância de persistir pelos que nos rodeiam. Enquanto me aprofundava nas escritas, suas ligações foram as pausas revigorantes que me lembravam da beleza simples da vida e como sou feliz por tê-los. Graças a vocês, ser tia é a versão que mais amo de mim mesma. O amor que sinto por vocês é a força motriz que impulsiona toda minha vida!

Ao meu irmão, Patrick (o Mayrink do grau), tão diferente e ao mesmo tempo tão eu, você e nós. Descobri, pela nossa amizade e parceira, o verdadeiro significado do “eu por você e você por mim, sempre!”. Cada desafio que enfrentamos e cada momento de cumplicidade revelaram a profundidade da nossa conexão. Sei que tenho não apenas um irmão extraordinário, mas um amigo e companheiro de jornada. Estendo os agradecimentos à minha cunhada, pela amizade e confiança.

Ao meu marido, Igor, quem esteve ao meu lado o tempo todo, inclusive, abdicando de suas férias para me acompanhar nos experimentos e de muitas horas de sono para cuidar dos meus (leia-se nossos) filhos *levain*. Para mim, nunca existiram dúvidas que você é a resposta de Deus às minhas orações e todo este período serviu para, diariamente, reafirmar essa premissa. Você não apenas tolerou minhas inquietações e ansiedades, mas foi meu aliado na luta que travei para não desistir, oferecendo palavras de ânimo e coragem quando mais precisei. O amor, apoio e compreensão que dedicaste a mim fortaleceram nossa parceria, enriquecendo com muitos capítulos nossa história. Dividir a vida com você é o meu maior prazer! Te amo, não consigo explicar o quanto.

À toda minha família, em especial ao vô Lelé e vó Efigênia, tios e primos, que sempre foram meus maiores incentivadores e apoiadores de todos os meus sonhos. Aos meus afilhados, Bianca, Maria Eduarda e Oliver, por trazerem alegria para minha vida em todos os momentos. Aos meus sogros e cunhada, pelo carinho e por me acolherem desde o início como parte da família. Obrigada por acreditarem em mim!

Em especial, de forma saudosa, agradeço à minha avó Erondina e avô Antônio. Cada página da minha tese carrega um pedaço do legado que vocês deixaram e cada momento da minha vida foi moldado pelas lições que vocês plantaram no solo fértil do meu coração. Sei que ambos estariam orgulhosos das realizações que alcancei. Sinto-os presentes todos os dias, em diferentes formas. A saudade é profunda, mas o amor que sinto é como uma estrela guia em cada novo capítulo que se inicia na minha história.

Apesar das dificuldades, o êxito tornou-se possível pelas pessoas que compartilharam de forma próxima este momento. Agradeço aos amigos da vida, Açucena, Ana Flávia, Bruno, Fernanda, Isadora, Júlia, Melyssa, Paula e Raphael. Obrigada por ser presente, mesmo com minha ausência, sem cobranças e julgamentos. Aproveito para incitar que sou grata à minha melhor amiga, Paula, por ter gerado quem ocupa meu coração: titia te ama, Bê! Aos meus amigos que foram constituídos no seio da pós-graduação e hoje

completam o time da vida: Aléxia, Bárbara, Bianca, Jéssica, João Marcos, Juliana, Karen, Letícia, Lutécia, Nataly, Nicolly, Thaíla e Yan. Aos fermicretes, companheiros de laboratório, André, Arthur, Dalila, Laura, Letícia, Luiz, Luiza, Ovidiane, Paulo, Thiago e Walmar que tornaram o processo mais divertido e leve, gratidão. Especialmente, à Barbara e Bianca, por serem minhas grandes companheiras.

Ao meu orientador Guilherme por ter me recebido e acolhido como parte do seu grupo de trabalho, ter acreditado em mim e nas minhas capacidades, sempre me dando autonomia durante os experimentos. Agradeço especialmente a forma como sempre conduziu a orientação, com muito respeito, carinho e empatia, além do trato científico. Sua dedicação imensurável, orientação cuidadosa e prontidão em ajudar foram fundamentais no progresso. Deixo, ainda, gratidão por ser uma grande fonte de inspiração, tanto cientificamente quanto no âmbito pessoal. Sou grata por ter tido a oportunidade de aprender com um profissional tão dedicado. Estendo os agradecimentos à Su, sua esposa, por ser aconchego, ombro amigo, mentora, companheira de *levain* e fornadas temporárias, também me orientando e ensinando com tanta gentileza e dedicação e por sempre ser a prosa boa que precisei. Você tem todo meu carinho, Su!

Ao Juliano, meu coorientador, fonte inestimável de apoio desde o início desta jornada acadêmica. Agradeço pelo zelo, comprometimento, orientação, disposição em auxiliar, pelos valiosos ensinamentos e generosidade ao compartilhar seu vasto conhecimento. Agradeço também à minha coorientadora Mônica, por sua participação no meu percurso acadêmico, valiosa para o desenvolvimento do trabalho e entendimento de muitas etapas inerentes à minha formação. Obrigada por termos construído um time incrível!

Muitas foram as portas que me abriram durante o doutorado, tornando possível executar todo meu planejamento experimental. Agradeço às pessoas que possibilitaram tal feito, especialmente aos técnicos Alex, Juliana (DTA), Nívea e Patrícia, e aos professores Denise, Hilário, Tótola, Mária e Marliane. Meu mais sincero obrigado!

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Microbiologia pela infraestrutura para realização da minha tese.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

**“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.**  
(Madre Teresa de Calcutá)

## RESUMO

LIMA, Thamylyes Thuany Mayrink Lima, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2024. **INFLUÊNCIA DA MICROBIOTA AUTÓCTONE DE FARINHAS BRASILEIRAS NA FERMENTAÇÃO DE PÃES ARTESANAIS PRODUZIDOS COM  *SOURDOUGH***. Orientador: José Guilherme Prado Martin. Coorientadores: Juliano de Dea Lindner e Mônica Ribeiro Pirozi.

O consumo e a produção de pão *sourdough* têm testemunhado um aumento significativo nos últimos anos, impulsionados por suas características sensoriais distintas e pelos benefícios à saúde provenientes da microbiota presente no fermento *sourdough*. Este estudo investigou a influência de seis fermentos *sourdough*, cada um elaborado com uma farinha de trigo brasileira distinta, sobre o produto final. Avaliações do consórcio microbiano foram realizadas para as matérias-primas e os fermentos maduros. Para o produto final, análises englobando propriedades centesimais, físico-químicas, reológicas e sensoriais foram conduzidas para caracterizar os aspectos dos pães *sourdough* produzidos. As análises revelaram que as composições microbianas distintas dos fermentos impactou nos resultados dos produtos finais. As principais variações foram observadas entre pães produzidos com farinhas refinadas e integrais, com atributos sensoriais distintos, como o sabor ácido predominante nos pães integrais. Há de se destacar que a aceitabilidade geral dos pães apresentou diferenças entre os pães elaborados com cada um dos fermentos, evidenciando o potencial de consórcios microbianos distintos produzirem pães com características peculiares. Ademais, o estudo investigou os teores de açúcares, ácidos, FODMAPs e compostos bioativos dos pães *sourdough*. Observou-se que as variações nas concentrações de açúcares, ácidos, etanol, FODMAPs e compostos bioativos estiveram mais relacionadas ao tipo de farinha do que à diversidade microbiana dos fermentos, tendo os pães integrais maiores concentrações de fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante.

**Palavras-chave:** *Sourdough*; Consórcio microbiano; Análise sensorial; FODMAPs; Compostos bioativos.

## ABSTRACT

LIMA, Thamylyes Thuany Mayrink Lima, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2024. **INFLUENCE OF THE AUTOCHTHONOUS MICROBIOTA OF BRAZILIAN FLOURS ON THE FERMENTATION OF ARTISAN BREADS PRODUCED WITH SOURDOUGH.** Adviser: José Guilherme Prado Martin. Co-adviser: Juliano de Dea Lindner and Mônica Ribeiro Pirozi.

The consumption and production of sourdough bread have witnessed a significant increase in recent years, driven by its distinct sensory characteristics and the health benefits derived from the microbiota present in sourdough starter. This study investigated the influence of six sourdough starters, each made with a different Brazilian wheat flour, on the final product. Microbial consortium evaluations were conducted for both the raw materials and mature starters. For the final product, analyses encompassing centesimal, physicochemical, rheological, and sensory properties were carried out to characterize aspects of the produced sourdough bread. The analyses revealed that the distinct microbial compositions of the starters impacted the results of the final products. Major variations were observed among breads produced with refined and whole flours, exhibiting distinct sensory attributes, such as the predominant sour taste in whole wheat breads. It is noteworthy that the overall acceptability of the breads differed among those made with each of the starters, highlighting the potential for different microbial consortia to produce breads with peculiar characteristics. Furthermore, the study investigated the levels of sugars, acids, FODMAPs, and bioactive compounds in sourdough breads. It was observed that variations in the concentrations of sugars, acids, ethanol, FODMAPs, and bioactive compounds were more related to the type of flour than to the microbial diversity of the starters, with whole wheat breads showing higher concentrations of phenolics, flavonoids, and antioxidant activity.

**Keywords:** *Sourdough*; Microbial consortium; Sensory analysis; FODMAPs; Bioactive compounds.

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL .....	11
REFERÊNCIAS .....	14
CAPÍTULO 1: How to deliver sourdough with appropriate characteristics for the bakery industry? The answer may be provided by microbiota. ....	16
CAPÍTULO 2: Influência de seis diferentes farinhas de trigo brasileiras na modulação do consórcio microbiano do fermento <i>sourdough</i> .....	83
CAPÍTULO 3: Caracterização sensorial e físico-química de pães <i>sourdough</i> produzidos com diferentes fermentos desenvolvidos a partir de farinhas de trigo brasileiras.....	122
CAPÍTULO 4: O efeito de seis fermentos <i>sourdough</i> produzidos com diferentes farinhas brasileiras no perfil de ácidos orgânicos, açúcar, compostos bioativos e FODMAPs no pão <i>sourdough</i> .....	169
CONCLUSÕES GERAIS .....	187
ANEXOS: DEMAIS PUBLICAÇÕES.....	188

## INTRODUÇÃO GERAL

Há indícios de que os primeiros alimentos fermentados tenham sido os pães, cuja produção teria se iniciado em meados de 15 mil anos a.C. pelos egípcios (Arora et al., 2021). Estes descobriram que uma mistura de água e farinha, em proporções pré-definidas e mantidas em condições ideais de temperatura, era capaz de fermentar espontaneamente, fenômeno desempenhado pela microbiota autóctone das farinhas utilizadas, bem como do ambiente, especialmente por bactérias lácticas (BAL) e leveduras que se desenvolvem natural e espontaneamente na massa (Menezes et al., 2020). O produto resultante desse tipo de fermentação é denominado de *sourdough* (palavra do inglês que significa “massa fermentada/azedada”; do francês *levain*; do italiano *massa madre*). O *sourdough* produzido através da mistura é, portanto, o agente fermentativo empregado na produção de pães *sourdough*, popularmente conhecidos com pães de fermentação natural (Reese et al., 2020).

O consumo de pães tipo *sourdough* tem aumentado nos últimos anos diante da crescente demanda de consumidores por alimentos *clean label* (Asioli et al., 2017; Lima et al., 2023). Assim, esses pães têm sido compreendidos sobre uma nova perspectiva, muitas vezes relacionados à promoção da saúde e bem-estar em decorrência do seu apelo funcional, das melhorias tecnológicas e até mesmo de aspectos sensoriais diferenciados. Tais características têm sido atribuídas ao consórcio microbiano do fermento *sourdough*, cuja composição pode variar de maneira significativa; *sourdough* produzidos em lugares distintos, por exemplo, podem apresentar significativa diferença em termos de diversidade, resultando, por conseguinte, em pães com propriedades distintas, assim como pães elaborados a partir de matérias-primas diversas (Minervini et al., 2014; Lhomme et al., 2015).

A composição da microbiota *sourdough* é influenciada por vários fatores, tanto intrínsecos quanto extrínsecos; tipo de farinha utilizada, local de produção e parâmetros do processo fermentativo, como temperatura, pH, rendimento da massa e número de etapas de retroalimentação (*backslopping*) são os principais fatores associados (Garofalo et al., 2008). Estes, bem como sua interação, cumprem um papel relevante para o estabelecimento de uma microbiota específica, conferindo propriedades e padrões de qualidade distintos aos pães *sourdough* (Lattanzi et al., 2013; Minervini et al., 2014). Assim, a qualidade do produto é resultado da combinação entre matéria-prima, condições do processo de fermentação e microbiota fermentadora (Brandt, 2019).

Nesse contexto, a farinha contribui para a adaptação dos microrganismos ao ambiente da massa fermentada principalmente em decorrência de seus constituintes, que condizem com os de parâmetros físico-químicos e os nutrientes fermentescíveis, triviais para o desenvolvimento microbiano (De Vuyst et al., 2014). A estrutura da microbiota da farinha e sua atividade metabólica, bem como as características intrínsecas da própria matéria-prima afetam as características do *sourdough* maduro (Ercolini, 2013). Trabalhos avaliando farinhas nacionais no contexto de modulação da microbiota de *sourdough* foram realizados na Albânia e no Irã (Nionelli et al., 2014; Pontonio et al., 2015). No Brasil, estudos sobre os pães de fermentação natural são relativamente limitados. Até o presente momento, as mudanças no consórcio microbiano de *sourdough* foram avaliadas apenas sob a ótica de diferentes temperaturas (Menezes et al., 2020). Ainda que parte do trigo utilizado no Brasil seja importado de outros países, o que resulta em farinhas aqui processadas pouco padronizadas (Siepmann et al., 2019), não há estudos investigando sua influência no desenvolvimento do fermento *sourdough* e dos pães produzidos.

Nesta perspectiva, e no contexto da sinecologia, o objetivo deste estudo foi investigar a influência de seis diferentes farinhas brasileiras tipos refinada e integral sobre o desempenho fermentativo do fermento *sourdough* utilizado na produção dos pães de fermentação natural, bem como determinar de que maneira as diferenças na matéria-prima afetam o consórcio microbiano e, conseqüentemente, a qualidade dos pães *sourdough*. Os resultados aqui apresentados podem fornecer novos *insights* acerca da influência da microbiota autóctone das farinhas brasileiras na fermentação *sourdough*, contribuindo para o setor de panificação no país.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GERAL

- Avaliar a influência do microbioma na performance fermentativa de fermento natural (*sourdough*) desenvolvido a partir de seis farinhas de trigo brasileiras tipos refinada e integral.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar a microbiota das farinhas de trigo utilizadas;
- Desenvolver fermentos *sourdough* utilizando como matéria-prima as respectivas farinhas de trigo;
- Avaliar a dinâmica populacional do *sourdough* no decorrer das etapas de *backslopping*;
- Caracterizar a microbiota do *sourdough* estabilizado;
- Avaliar as características físico-químicas, centesimais e reológicas dos pães elaborados a partir dos respectivos *sourdough*;
- Avaliar sensorialmente os pães obtidos com os diferentes *sourdough*;
- Identificar compostos bioativos, ácidos orgânicos e açúcares residuais nos pães produzidos;
- Determinar o teor de FODMAPs dos pães *sourdough*.

## REFERÊNCIAS

- Arora, K., Ameer, H., Polo, A., Di Cagno, R., Rizzello, C. G., & Gobbetti, M. (2021). Thirty years of knowledge on sourdough fermentation: A systematic review. *Trends in Food Science and Technology*, 108, 71-83. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.12.008>
- Asioli, D., Aschemann-Witzel, J., Caputo, Vi., Vecchio, R., Annunziata, A., Naes, T., & Varela, P. (2017). Making sense of the “clean label” trends: A review of consumer food choice behavior and discussion of industry implications. *Food Research International*, 99, 58-71. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.022>
- Brandt, M. J. (2019). Industrial production of sourdoughs for the baking branch – An overview. *International Journal of Food Microbiology*, 302, 3–7. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.09.008>
- De Vuyst, L., Van Kerrebroeck, S., Harth, H., Huys, G., Daniel, H. M., & Weckx, S. (2014). Microbial ecology of sourdough fermentations: Diverse or uniform? *Food Microbiology*, 37, 11–29. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.06.002>
- Ercolini, D., Pontonio, E., De Filippis, F., Minervini, F., Storia, A. L., Gobbetti, M., & Di Cagno, R. (2013). Microbial ecology dynamics during rye and wheat sourdough preparation. *Applied and Environmental Microbiology*, 79, 7827–7836. <https://doi.org/10.1128/AEM.02955-13>
- Garofalo, C., Silvestri, G., Aquilanti, L., & Clementi, F. (2008) PCR-DGGE analysis of lactic acid bacteria and yeast dynamics during the production processes of three varieties of Panettone. *Journal of Applied Microbiology*, 105(1), 243–254. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03768.x>
- Lattanzi, A., Minervini, F., Di Cagno, R., Diviccaro, A., Antonielli, L., Cardinali, G., Cappelle, S., De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2013). The lactic acid bacteria and yeast microbiota of eighteen sourdoughs used for the manufacture of traditional Italian sweet leavened baked goods. *International Journal of Food Microbiology*, 163, 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.02.010>
- Lima, T. T. M., Hosken, B. O., De Dea Lindner, J., Menezes, L. A. A., Pirozi, M. R., & Martin, J. G. P. (2023). How to deliver sourdough with appropriate characteristics for the bakery industry? The answer may be provided by microbiota. *Food Bioscience*, 56, 103072. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103072>
- Lhomme, E., Lattanzi, A., Dousset, X., Minervini, F., De Angelis, M., Lacaze, G., Onno, B., & Gobbetti, M. (2015). Lactic acid bacterium and yeast microbiotas of sixteen French traditional sourdoughs. *International Journal of Food Microbiology*, 215, 161–170. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.09.015>
- Menezes, L. A. A., Savo Sardaro, M. L., Duarte, R. T. D., Mazzon, R. R., Neviani, E., Gatti, M., & De Dea Lindner, J. (2020). Sourdough bacterial dynamics revealed by metagenomic analysis in Brazil. *Food Microbiology*, 85, 103302. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103302>

- Minervini, F., De Angelis, M., Di Cagno, R., & Gobbetti, M. (2014). Ecological parameters influencing microbial diversity and stability of traditional sourdough. *International Journal of Food Microbiology*, 171, 136–146. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.11.021>
- Minervini, F., Lattanzi, A., De Angelis, M., Celano, G., & Gobbetti, M. (2015). House microbiotas as sources of lactic acid bacteria and yeasts in traditional Italian sourdoughs. *Food Microbiology*, 52, 66–76. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.06.009>
- Nionelli, L., Curri, N., Curiel, J. A., Di Cagno, R., Pontonio, E., Cavoski, I., Gobbetti, M., & Rizzello, C. G. (2014). Exploitation of Albanian wheat cultivars: Characterization of the flours and lactic acid bacteria microbiota, and selection of starters for sourdough fermentation. *Food Microbiology*, 44, 96–107. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.05.011>
- Pontonio, E., Nionelli, L., Curiel, J. A., Sadeghi, A., Di Cagno, R., Gobbetti, M., & Rizzello, C. G. (2015). Iranian wheat flours from rural and industrial mills: Exploitation of the chemical and technology features, and selection of autochthonous sourdough starters for making breads. *Food Microbiology*, 47, 99–110. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.10.011>
- Reese, A. T., Madden, A. A., Joossens, M., Lacaze, G., & Dunn, R. R. (2020). Influences of Ingredients and Bakers on the Bacteria and Fungi in Sourdough Starters and Bread. *mSphere*, 5(1):e00950-19. <https://doi.org/10.1128/msphere.00950-19>
- Siepmann, F. B., de Almeida, B. S., Ripari, V., da Silva, B. J. G., Peralta-Zamora, P. G., Waszczynskyj, N., & Spier, M. R. (2019). Brazilian sourdough: microbiological, structural, and technological evolution. *European Food Research and Technology*, 245, 1583–1594. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03254-8>

**CAPÍTULO 1: How to deliver sourdough with appropriate characteristics for the bakery industry? The answer may be provided by microbiota.**

*Review article published in the journal Food Bioscience*

Link: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103072>

**Authors:** Thamylles Thuany Mayrink Lima<sup>a</sup>, Bianca de Oliveira Hosken<sup>a</sup>, Juliano De Dea Lindner<sup>b</sup>, Leidiane Andreia Acordi Menezes<sup>c</sup>, Mônica Ribeiro Pirozi<sup>d</sup>, José Guilherme Prado Martin<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Microbiology of Fermented Products Laboratory (FERMICRO), Department of Microbiology, Federal University of Viçosa, Viçosa, MG, Brazil

<sup>b</sup> Food Technology and Bioprocess Research Group, Department of Food Science and Technology, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brazil

<sup>c</sup> Supervisor Senior of Research and Development, Production and Application. PMAN - Integrated Solutions for Bakery, Guarulhos, SP, Brazil

<sup>d</sup> Department of Food Technology, Federal University of Viçosa, Viçosa, MG, Brazil

\*Corresponding author:

E-mail address: [guilherme.martin@ufv.br](mailto:guilherme.martin@ufv.br) (J.G.P. Martin).

**Keywords:** Food fermentation; Microbiome; Food industry; *sourdough*; Lactic acid bacteria; Yeasts.

## ABSTRACT

Sourdough production and consumption have significantly increased in recent years due to factors such as extended shelf life, nutritional benefits, particular flavour and the absence of food additives. These characteristics have attracted both consumers and baking industry. The advantages associated with sourdough fermentation are related to the microbial metabolism of sourdough, including lactic acid and acetic bacteria, *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* yeasts. This review explores how microbial diversity can impact the bakery industry, enhancing sourdough bread's safety, sensorial and nutritional properties. However, the standardization on sourdough production is still a challenge. Therefore, modulating the microbiota becomes a crucial strategy for scaling up the production of sourdough. Understanding how parameters such as temperature, pH, dough yield and flour type impacts on sourdough microbiota and bread quality is essential for improving sourdough bread production in an industrial context. In this work, we pose the following question: how to deliver sourdough with appropriate characteristics for the bakery industry? The answer may be provided by microbiota.

## 1. Introduction

The production and consumption of sourdough (called *levain* in French, *sauerteig* in German, *pasta madre* or *lievito madre* in Italian, and *massa madre* in Spanish) bread have increased considerably in the last decade. The recent transformation in the baking scenario triggered by the rebirth of natural fermentation is related to the distinctive attributes of sourdough breads, such as characteristic flavor and aroma, lower Fermentable Oligosaccharides, Disaccharides, Monosaccharides, and Polyols (FODMAPs) content, longer shelf life, presence of bioactive compounds, absence of additives, and the homemade appeal (Torrieri et al., 2014; Callejo et al., 2015; Jonkuvienė et al., 2016; Laatikainen et al., 2017; Fraberger, Ammer, & Domig, 2020; Canesin & Cazarin, 2021; Amann, Frank, Dawid, & Hofmann, 2022; D'Amico et al., 2023; Trif et al., 2023). In addition, the nutritional improvement provided by sourdough fermentation impacts the bioavailability of micronutrients, protein digestibility, and functional properties (e.g., low glycemic index and FODMAP content), stimulating the interest of consumers concerned with well-being and health issues and creating new market opportunities for the bakery sector (Sanlier, Gokcen, & Sezgin, 2017).

Sourdough fermentation also consists of a strategy to improve various aspects of gluten-free (GF) bread, a product aimed at individuals with intolerance, celiac disease, or some gluten sensitivity. In this context, producing GF breads with sensory characteristics that meet the expectations of this market niche is a challenge for the bakery industry since the viscoelastic properties essential for bread quality require a well-structured gluten network. As a strategy to solve this problem, the industry uses additives; however, consumers of clean-label products have increasingly criticized their use. In this context, sourdough fermentation has been considered a promising alternative for obtaining GF breads with improved texture, aroma, and nutritional value, contributing to its greater acceptance (Moroni, Bello, & Arendt, 2009).

In addition, sourdough fermentation favors the use of unconventional raw materials, such as cereal milling by-products (e.g., bran, germ), pseudocereals (e.g., quinoa, amaranth, chickpeas), and legumes (e.g., fava beans, lentils, kidney beans). It can contribute to the mitigation of environmental problems due to the disposal of high organic matter agroindustrial wastes, as well as the use of raw materials associated with anti-nutritional factors or less accepted sensory attributes (Gobbetti et al., 2019; Poutanen & Katina, 2014). Thus, this type of fermentation is a sustainable alternative, contributing to developing innovative products with high-added value (Arora et al., 2021; Brandt, Loponen, & Capelle, 2023; Gobbetti et al., 2019).

The main benefits associated with sourdough fermentation come from the microbial metabolism of sourdough. It includes especially lactic acid bacteria (LAB) but also *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* yeasts (Van Kerrebroeck et al., 2017). In general, the ratio of LAB:yeasts is 100:1, ranging from 10:1 to 1000:1 (Gobbetti et al., 2016). This microbiota is influenced by ingredients used (especially flour), fermentation conditions, and the processing environment. The metabiotic succession observed during the development of sourdough results in a diverse and stable microbiota in the mature ferment, in which species better adapted to environmental conditions predominate (Lhomme et al., 2015; Minervini et al., 2014).

Considering the phenomenon of sourdough fermentation in recent years, its impact on the global bakery industry is undeniable. The emergence of new business models aimed at artisanal bakeries, the offer of ingredients intended exclusively for this niche, the development of equipment aimed at sourdough bakers, and the demand for bakery products in a clean label context reinforce this influence. In this work, we elucidate how these impacts are directly related to sourdough's microbial diversity, which refers to the crucial point of modulation to meet the demands of the industry. In this sense, we pose the question: how to deliver sourdough bread with appropriate characteristics? As we discuss below, the microbiota may provide the answer.

## **2. Sourdough worldwide market**

In recent years, products obtained from sourdough fermentation, such as breads, cookies, pizzas, pies, toast, and cakes have been included in the portfolio of major bakery industries. Companies such as Bauducco (Brazil), Bellsolà (Spain), Bertinet (UK), Bread SRSLY (United States), Ernst Böcker GmbH & Co KG (Germany), IREKS GmbH (Germany), Jason's (UK), Kampffmeyer Food Innovation GmbH (Germany), Knead Love (United States), Lesaffre (France), Madison Sourdough (Austria), Marilan (Brazil), Puratos (Belgium), Schär (Italy), Wickbold (Brazil), and Young Kobras (United States), has been included in the sourdough segment, reinforcing the relevance of this technology and its impacts on the world bakery industry. Regulatory sourdough definitions differ widely among the countries. Discrepancies could be mitigated if there were an internationally recognized legal definition for sourdough products. For example, sourdough is defined according to the maximum amount of baker's yeast added and a minimum level of acidity in France, Spain and the Netherlands. On the other hand, in Austria, Czech Republic and Germany, it is defined as the dough containing LAB metabolically active (Brandt, Lopenen, & Capelle, 2023).

In 2020, the global sourdough market was valued at US\$2.19 billion with a Compound Annual Growth Rate (CAGR) of 8% up to 2030. Europe holds the largest market share, with Poland

and Sweden standing out. Spanish, German, French, and Italian are also important consumers of sourdough bread. North America represents the second largest market share, with the United States standing out. Projections also point to significant growth in the Asian continent, especially China, Japan, and India, due to abundant raw resources and the change in the population's lifestyle (Albagli et al., 2021; Market Research Future, 2023).

Unlike Europe, sourdough fermentation is an emerging technology in Brazil, whose market is still small but with a great possibility of expansion (Mordor Intelligence, 2021). Wickbold company pioneered natural fermentation breads in the Brazilian market, offering the Padaria Wickbold line with versions of traditional and wholemeal breads. In addition to this, Bauducco and Marilan companies later entered this segment. Despite well-known brands, 95% of Brazilian bakery companies are small or medium-sized. During the Covid-19 pandemic, small producers increased by 90% compared to previous years in the country (Brown, 2020; SEBRAE, 2020), a trend observed in other countries and related to behavioral changes resulting from social isolation (The Guardian, 2020). Sourdough patents are concentrated at a higher level in companies (45.98%), followed by small producers (26.44%) and universities (21.84%). However, neither company has many patents, with Puratos being the only one in the top 10 patent holders. Most patents are related to a starter culture or product, while companies focus on the market (Albagi et al., 2023).

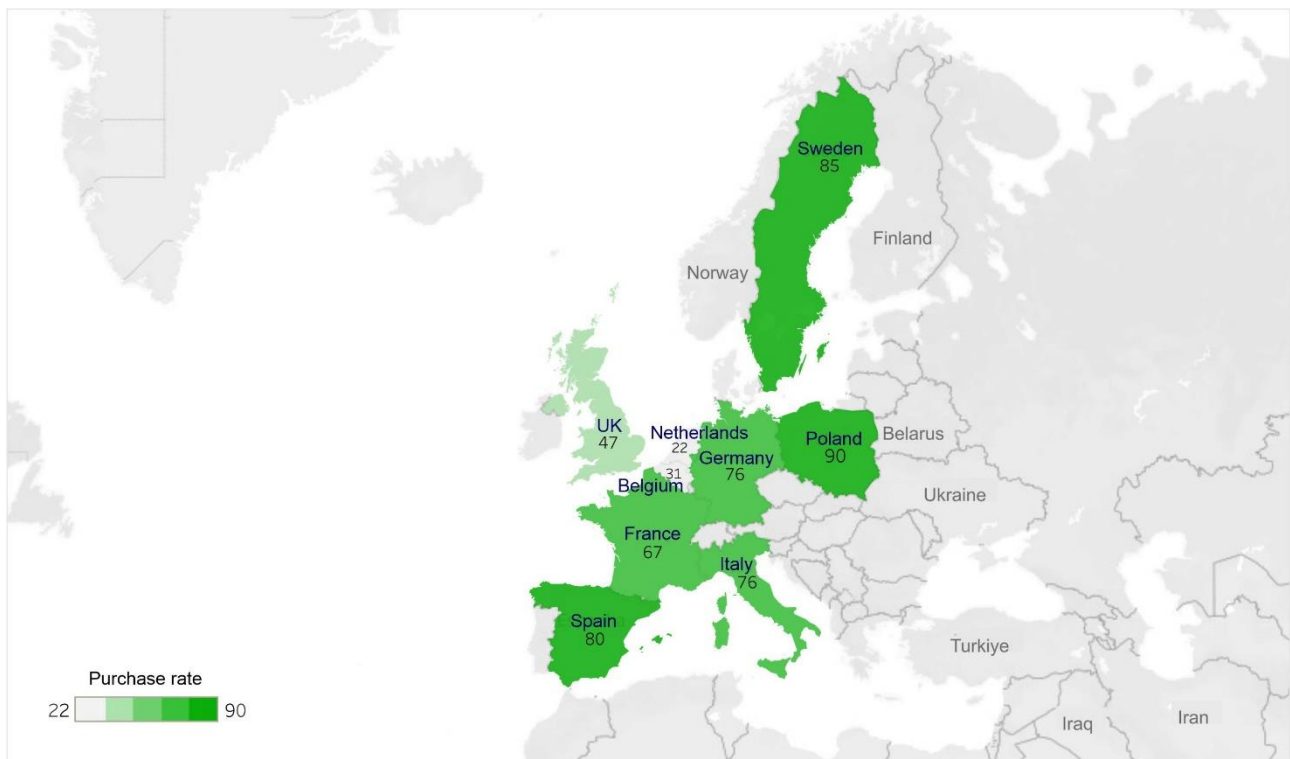
The Asia-Pacific region, including China, Japan, India and Australia, is experiencing the fastest market growth (Mordor Intelligence, 2021). Its sourdough bread consumption increased from 8.5 million tons in 2017 to 9.2 million tons in 2021. This phenomenon can be attributed to economic growth, fast urbanization and the increasing demand for convenient products due to an increasingly busy lifestyle (Lesaffre, 2022). South Korea has been the largest holder of sourdough patents in the past decade, followed by China, indicating a potential future market leadership (Albagi et al., 2023). China's sourdough market, for example, is growing around 7.5% CAGR on the next ten years (FMI, 2022).

A study carried out in nine European countries involving more than 5000 bread consumers showed that two in three of them prefer sourdough breads; 52% of the consumers buy it from time to time, 17% always, 21% never and 10% do not know this type of product (Fig. 1) (Fedima, 2019). According to the data, Poland presents the highest purchase rate of sourdough bread; however, it is not the country with the greatest diversification of products obtained from sourdough. It is worth highlighting that there is a lack of studies about sourdough market in most countries, which difficult comparison about the buying intent of sourdough worldwide.

Several daily feeding cycles are necessary for sourdough ferment stabilization for sourdough type I, providing the required characteristics for bread production. In addition, the need for reactivation before its use represents challenges for the industry, making the production process

expensive, unlike the processes well consolidated and widely used in the conventional bakery industry. This partly explains the predominance of small and medium 100% sourdough fermentation bakeries. Furthermore, this is reflected in the higher prices of products obtained from sourdough fermentation, which partially limits the population's access to this type of product (Albagli et al., 2021).

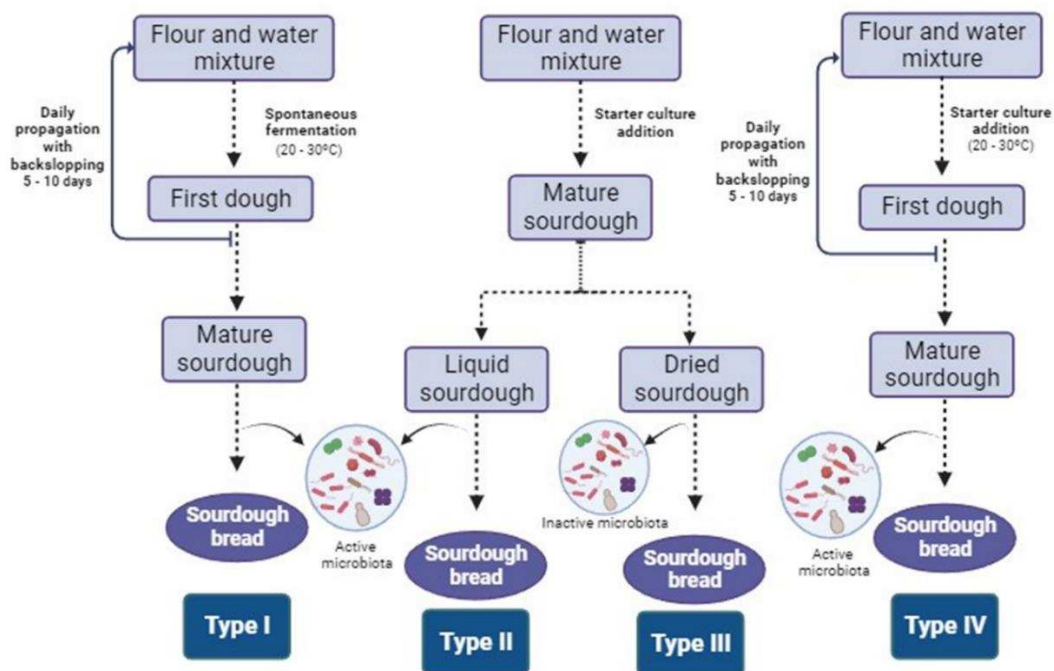
Aiming to facilitate the production of sourdough breads, many companies have focused on innovative products. However, for the industrial context, type I sourdough becomes very costly and laborious, requiring other types of sourdough. In Brazil, Lesaffre was the first company to market refrigerated sourdough ferment, an initiative that guaranteed the company the first-place prize in the Baker Top 2022 Award (innovation category). In addition to this product, the company also sells dry biological yeast with non-viable sourdough (type III sourdough ferment), which acts as a technological support in the sensorial aspect. Both carry a microbiota responsible for producing organic acids that enrich breads, conferring the characteristic sensory attributes of sourdough products.



**Fig. 1:** Sourdough bread purchase rates in different European countries obtained by assessing more than 5.000 bread buyers. Adapted from Fedima (2019). Created with Tableau®.

### 3. Sourdough ferment types and potential use by the bakery industry

The advantages of sourdough fermentation and its effects on bread have been presented by several studies (Canesin & Cazarin, 2021; Ribet et al., 2023; Subaşı & Ercan, 2023). However, there are still significant challenges to its use in the industrial context, mainly depending on the type of sourdough ferment used. Fig. 2 represents the four types of sourdough, highlighting, in bold, the steps inherent to each type. Type I ferment [dough yield (DY) < 200] has an exclusively autochthonous microbiota; it can be obtained at room temperature for about ten days and requires successive backslopping steps to stimulate microbial activity by adding nutrients to the substrate (Dimidi et al., 2019; Scheirlinck et al., 2007; Siragusa et al., 2009; Xu et al., 2020). As a result, its use by industry is a challenge, as the lack of microbiota standardization and the long fermentation time result in greater susceptibility to microbial contamination and low reproducibility. Type II ferment (DY >200) is characterized by the addition of starter cultures to the substrate consisting of flour and water, and its production occurs at temperatures above 30 °C. The process is relatively quick, requiring only one fermentation cycle before the use (varying between 15 and 24 h). Thus, this ferment type has particularities that facilitate its application in industry, especially the greater fluidity that allows its transport through pumping systems – that is why type II ferment is known as “commercial starters”.



**Fig. 2:** Flowchart of sourdough fermentation types according to the method applied. Created with BioRender.com.

Type III ferment is obtained from the dehydration of type II (De Vuyst et al., 2014). Also known as “ready-to-use” (RTU), their microbiota can be active or not. In the first case, the strains must be able to resist the dehydration process. The most important problem regarding active RTU ferment is related to the short shelf life and the need for refrigerated storage. On the other hand, type III ferment with an inactive microbiota is generally used not as a ferment *per se* but as a food additive to confer sensory properties of interest (Menezes et al., 2022). Finally, type IV ferment (also known as mixed ferment), more recently characterized, consists of a mixture of types I and II. It involves adding a starter culture; however, the fermentation process is conducted as in type I ferment, with a greater number of feeding cycles and duration. The starter culture must be highly adaptable and able to compete with the autochthonous microbiota. The feasibility of using this type of yeast in the industrial context is still debatable, given the need for several backslipping steps, which makes the process costly and time-consuming, in the same way as type I (Arora et al., 2021; De Vuyst et al., 2014; Siepmann et al., 2019). Therefore, types II and III are the most recommended and used in industries, including the particularity of microbial selection aimed at achieving specific characteristics required in the product. Comparing types II and III, the last one has a significant advantage: it can be stored and transported more easily when dehydrated (Calvert et al., 2021).

The bakery industry has invested especially in dehydrated type III ferment to optimize and standardize the production of sourdough products. Bread produced with this type of sourdough has sensory characteristics similar to those made with fresh type I. The most used drying technologies for the production of type III sourdough are spray drying and freeze drying. Gu et al. (2023) analyzed the effect of replacing type II sourdough with pure freeze-dried strain (FDSS) on bread structure and flavor quality; the results reinforce the potential use of FDSS by the bread-making industry. However, its use in emerging countries may be hampered by the high cost, impacting the still-incipient sourdough bakery industry (Brandt, 2019; Marco et al., 2022). Spray-drying is the cheapest method, making it possible to apply the ferment on a large scale. Nevertheless, aspects such as microbial strain, conditions for rehydration, and adequate packaging must be strictly observed to preserve its viability as much as possible. In this sense, optimizing drying parameters and using protective agents must be employed to ensure better cell viability rates (Peighambardoust et al., 2011). Freeze drying, a well-established technique in other food sectors, especially dairy products, enables higher rates of cell viability, easier rehydration, better preservation of nutrients, and absence of oxidation reactions; however, the high cost represents one of the main disadvantages (Marco et al., 2022).

The cost of freeze-drying ferment represents one of the biggest obstacles for the sourdough industry. In Brazil, for example, despite the growing sector, the difficulty of investing in the production of lyophilized ferment for this purpose still needs to be addressed. In contrast, in Italy,

where sourdough production is better consolidated, with more than 200 different types of sourdough breads, including products with the Denomination of Protected Origin (DPO) and Protected Geographical Indication (PGI), the high investment in freeze-dried sourdough is justified, considering its already established consumer audience (Capelle et al., 2012; Reale, Di Renzo, Preziuso, et al., 2019). An alternative technique widely used in the production of type III ferment is drum drying. The material is dried at relatively low temperatures over rotation, resulting in sheets of drum-dried product. However, the technique requires caution since, depending on the binomial time  $\times$  temperature, the ferment or dough may present malted, caramelized, or toasted aspects, impairing the taste and appearance of the final product (Decock & Cappelle, 2005).

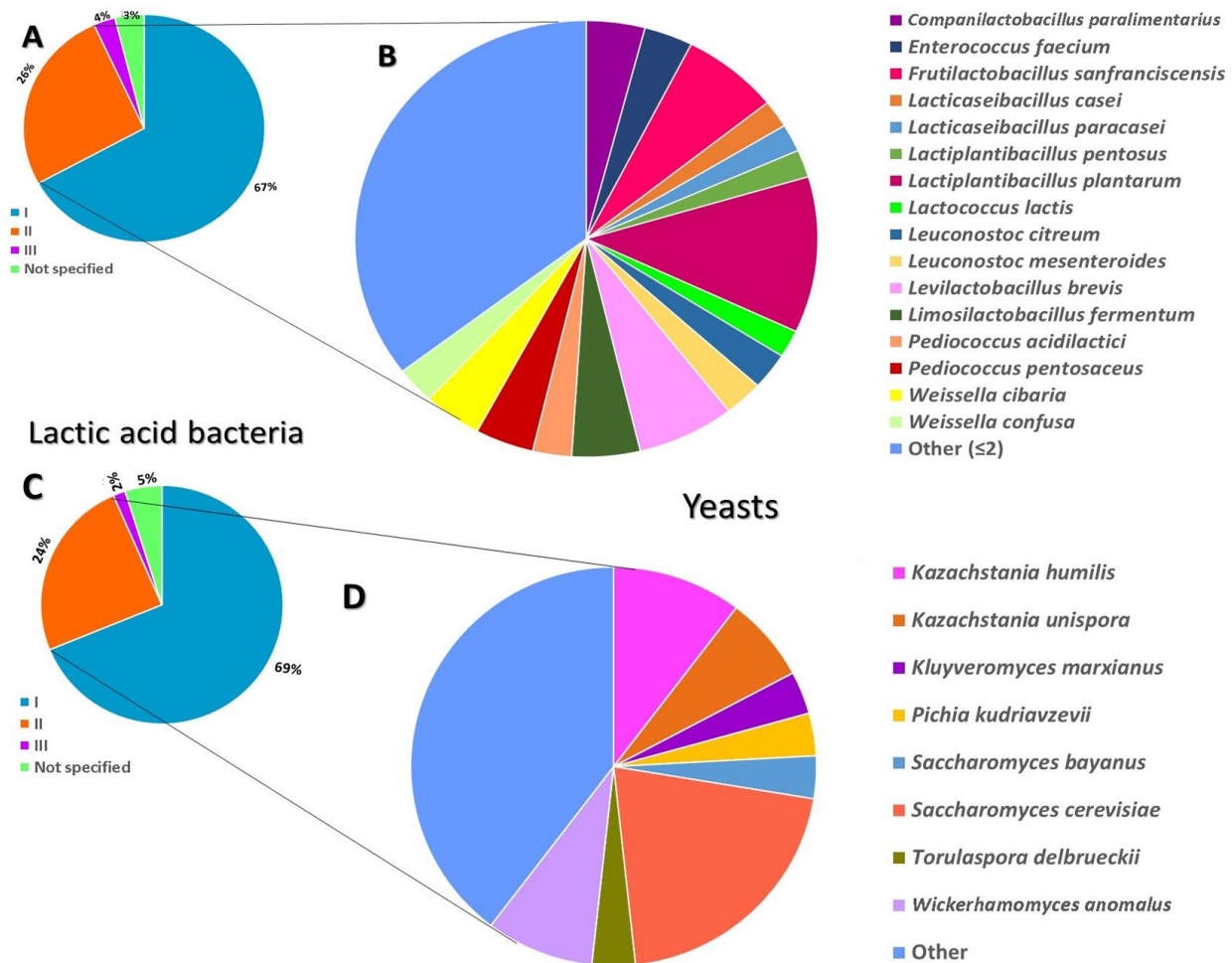
Another challenge in using dried cultures is related to the fact of sourdough starters are diverse, and the drying conditions can impact the flavour of the product (Albagli et al., 2021). This process is essential to ensure a good performance of types II and III (for this, resistance to high temperatures is still required). Both are microbiologically stable, making them safer than traditional sourdough for use by industries. Besides that, they are also easier to use and prevent unexpected variations in the product (Chiva et al., 2021). Sourdough inoculated with starter culture is characterized by faster acidification, which is indispensable for conducting sourdough fermentation in a short period on an industrial scale (Gunduz et al., 2022).

Most of the studies have evaluated type I sourdough since it contains the greatest diversity of autochthonous microorganisms. First of all, the species isolated from type I are evaluated about their technological performance; after, they are used in other types of sourdough. Fig. 3 illustrates the sourdough types most studied (Supplementary Tables 1 and 2) considering the characterization of LAB community (A) and yeasts (C). These studies highlight most frequent LAB and yeasts from type II sourdough (B, D) according to papers published in the last ten years (2013–2023) in SCOPUS, Web of Science, Google Scholar, PubMed and ScienceDirect databases. “Lactic acid bacteria AND sourdough”, “Yeasts AND sourdough”, “Starter AND sourdough” “Microbial community sourdough” are the descriptors used in the search.

#### **4. Sourdough microbiota**

In the industrial context, the critical point for obtaining sourdough bread with characteristics of interest consists of modulating the ferment microbiota. Therefore, it is essential to know the characteristics of the ferment used and how it responds to processing conditions. More than 70 bacterial species have been isolated in sourdough ferment, emphasizing the genus *Lactobacillus* (recently reclassified into 23 new genera) (Oshiro et al., 2020; Zheng et al., 2020). The species *Levilactobacillus brevis*, *Limosilactobacillus fermentum*, *Lactiplantibacillus plantarum*,

*Companilactobacillus paralimentarius*, and *Fructilactobacillus sanfranciscensis* are typical representatives of the sourdough microbiota. Due to inherent characteristics to the microorganisms, some species are more used as starter cultures than others. For example, 62.96% of the studies published in last ten years (Supplementary Table 1) about type II sourdough indicate *L. plantarum* as the main bacteria. For 37,04% of studies, *F. sanfranciscensis* and *L. brevis* are highlighted.



**Fig. 3:** Percentage of 100 studies regarding lactic acid bacteria (LAB) in sourdough ferment types (A) and 60 studies regarding yeast (C). (B) LAB species identified in type II sourdough ferment in studies published last ten years (2013 – 2023) (Supplementary Table 1). Each colour refers to the frequency of microorganisms in the 100 evaluated studies. “Other” indicate species with frequency  $\leq 2$  in the studies being assessed. (D) Yeast species identified in type II sourdough ferment studies published last ten years (2013-2023) (Supplementary Table 2). Each colour refers to the frequency of microorganisms in the 60 papers evaluated. “Other” indicates species with frequency  $\leq 1$  in studies being assessed.

Regarding yeasts, more than 30 species have already been detected, with a predominance of *Saccharomyces cerevisiae*, *Kazachstania humilis*, *Kazachstania unispora*, and *Wickerhamomyces anomalus*. Among these, *S. cerevisiae* is the most common (85.71% of studies) in type II sourdough

(Supplementary Table 2) followed by *K. humilis* (42.86%) and *W. anomalus* (35.71%). *S. cerevisiae* was not detected in 8/48 papers related to type I sourdough (19.05%), probably due to the influence of cross-contamination. It should be noted that the commercial repertoire of baking yeasts is still limited, resulting in novel studies focused on identifying yeasts in the sourdough ecosystem for use as starter. For many years the use of yeast in baking was centered on *S. cerevisiae*. However, an increasing interest in non-conventional yeasts (non-*Saccharomyces*) for use in baking process has been observed in last years (Chiva et al., 2021). In addition to the dominant populations of both LAB and yeast, subdominant populations are also found in the sourdough ecosystem since this substrate allows the establishment of diverse microbial consortia, from the simplest to the most complex ones (Arora et al., 2021; De Vuyst et al., 2014; Dimidi et al., 2019; Gobbetti et al., 2016; Iosca et al., 2020).

For *L. plantarum*, robustness and good technological performance may be related to the extensive genome, ensuring ecological versatility, adaptability to different types of substrates and the environment, rapid acidification (homofermentative species), synthesis of diacetyl, hydrogen peroxide, and production of bacteriocins (Minervini et al., 2014; Ventimiglia et al., 2015). Its ability to ferment all carbohydrates and use alternative energy sources such as amino acids and nucleotide sugars favours metabolic competition with yeasts. Furthermore, another peculiarity is the resistance to the inhibitory activity of phenolic compounds found in sourdough. Organic flours have a higher phenolic content, which can inhibit some microbial species, but not *L. plantarum*, which has greater resistance to phenolics, including the ability to solubilize them, thus increasing the antioxidant activity of the raw material (Rizzello et al., 2015).

*F. sanfranciscensis* is also ribosomal robust, with high-density ribosomal RNA operons; these intrinsic characteristics can induce a more agile response to stressful conditions in the sourdough environment (Minervini et al., 2014). These characteristics make *F. sanfranciscensis* a good fermenting LAB to be used on non-traditional substrates, such as chia, hemp, and quinoa flour (Jagelaviciute & Cizeikiene, 2021). *Pediococcus* sp. can also be an option, depending on the technological conditions employed in the fermentation process since it grows better at lower temperatures (Oshiro et al., 2020).

Type II ferment has a predominance of acid-tolerant LAB, such as *Limosilactobacillus pontis*, *Limosilactobacillus panis*, *Limosilactobacillus frumentin*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus crispatus*, and *Limosilactobacillus reuteri* (Ganzle & Zheng, 2019; Van Kerrebroeck et al., 2017). In type III ferment, bacteria with greater thermal resistance predominate, such as *L. amylovorus*, *L. fermentum*, *L. pontis*, and *L. reuteri* (Minervini et al., 2011). Type II and III ferment eventually require the addition of conventional yeast (*S. cerevisiae*) or another specie since the temperature conditions initially favour the development of

LAB to the detriment of yeasts; concurrently, LAB can overly acidify the substrate, resulting in inhibition of relevant yeasts for fermentation. Therefore, in these ferment types, the presence of *S. cerevisiae* is commonly observed in relatively high populations (Martín-García et al., 2021; Van Kerrebroeck et al., 2017). The abundance and diversity of microorganisms during fermentation are mainly influenced by synergistic and antagonistic interactions between the microbial groups present and by their relationship with the substrate from different patterns of metabolic adaptation (Minervini et al., 2014). Throughout metabiosis, metabolic patterns change until the ferment reaches stability (Menezes et al., 2019a).

The persistence and viability of starter cultures in sourdough is a critical point, since other species can colonize the dough. However, they will probably be less abundant in the dough than the added microorganisms, which will predominate during the fermentation process (Calvert et al., 2021). This phenomenon was evaluated by Sidari et al. (2020). A starter culture composed by *F. sanfranciscensis*, *Leuconostoc citreum* and *Candida milleri* (*K. humilis*) was evaluated after two months; among the species used, *F. sanfranciscensis* and *K. humilis* were the predominant in the ferment. Thus, it observed that the starters have a persistent characteristic. Some species can be suppressed when a better competitor is present, such as *Ln. Citreum*.

## 5. Main modulators in sourdough microbiota

Sourdough microbiota can be affected by endogenous (i.e., temperature, pH) and exogenous (i.e., flour, water) factors, with significant effects on the quality of the final product (Canesin et al., 2021; Lau et al., 2021; Siepmann et al., 2019). Their control plays an important role in selecting species better adapted to the sourdough environment, modulating the population dynamics so that the desired properties (Menezes et al., 2020; Minervini et al., 2014). Thus, the combination of different factors, such as technological parameters, ingredients, and production environment, allows the microbiota to be modulated, directing the fermentation process to obtain sourdough products with the characteristics required by the industry (Brandt, 2019). For example, dough consistency, flour type and fermentation time were able to modulate the yeast community on sourdough (Chiva et al., 2021).

Temperature and pH are the exogenous factors that most impact the diversity of the sourdough microbiota, being decisive in selecting the most abundant species. Higher temperatures impair the growth of yeasts and some LAB genera, such as *Leuconostoc* sp. (Vrancken et al., 2010). Elevated pH values can harm population dynamics; in more acid ferments, for example, lactobacilli predominate; in the less acidic ones, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, and *Weissella* are the most abundant. No wonder these genera are usually found at

the beginning of the fermentation process, where acidity values are generally lower (De Vuyst et al., 2014). NaCl concentration is also a relevant factor; as it increases, the yeast:LAB ratio rises, and it is even possible to equalize the proportion of populations of these microbial groups (1:1) (Minervini et al., 2014). DY also influences this relationship; liquid sourdough (DY > 200) favours LAB growth over yeast; in firmer sourdough (DY < 200), yeasts predominate since they multiply better under conditions of reduced water activity (Di Cagno et al., 2014; Minervini et al., 2014).

The oxidation-reduction potential also influences the sourdough microbiota; it tends to be gradually reduced from the successive backslopping steps, favoring the growth of aerotolerant LAB and yeasts (Siepmann et al., 2019). As new propagation cycles occur, microbial diversity tends to reduce as substrate conditions become more stressful, selecting only the most adapted species. The length of intervals between backslopping steps also plays an important role; shorter intervals favour yeast growth; on the other hand, more extended periods favour species adapted to conditions of lower nutrient availability, such as *L. plantarum* and *F. sanfranciscensis* (Iosca et al., 2020; Martín-García et al., 2021; Minervini et al., 2014). Regarding the amount of inoculum, low proportions (<2% of the sourdough concerning the final volume of dough) favour the growth of lactobacilli; high proportions (up to 50%) the development of yeasts.

Regarding the ingredients, in general, water does not contribute significantly to the increase of the sourdough microbiota since it does not consist of a natural reservoir of microorganisms. However, its quality is relevant as it corresponds to one of the main bread ingredients, and its chemical composition can vary significantly. Minervini et al. (2019) demonstrated that differences in mineral water composition impacted the ferment microbiota. For example, sodium concentration favoured a greater relative abundance of *L. brevis* and *L. plantarum*.

Conversely, flour corresponds to the primary source of microorganisms and is considered a key element in the establishment of the sourdough microbiota (Menezes et al., 2020; Rocha & Malcata, 2012). The type of flour, type of grain, flour coarseness, its nutritional composition (which varies according to the cultivar, planting location, physiological stage of the grains, seasonality, time, and harvest batch), cultivar genotype (Ercolini et al., 2013; Minervini et al., 2011), type of agricultural system (Costa et al., 2021; Rizzello et al., 2015), and presence of endophytic microorganisms (Minervini, Celano, et al., 2015) play an important role in the ferment microbiota. Besides that, the inherent variability of flours may also be related to the presence of endogenous enzymes since enzymatic activity in flour is seasonal (Minervini et al., 2018). The use of unconventional ingredients can also carry microorganisms into the dough, impacting the properties of the final product; sourdough bread made with honey and grape must, for example, had a lower abundance of yeasts, possibly due to the presence of antimicrobial compounds, such as aromatic acids in honey and phenolic acids in grape must (Minervini et al., 2016).

It is worth emphasizing the influence of the production environment on establishing the sourdough microbiota. Naturally, non-sterile and open batch production conditions allow for greater microbial diversity coming from the environment, hands, and equipment used in dough preparation (such as mixers and storage boxes), constituting what is known as “house microbiota” (Gobbetti et al. al., 2016). When production occurs under aseptic conditions, for example, in laboratory conditions, the final microbiota comes from the raw material (flour) (Vrancken et al., 2010). The influence of house microbiota, including environment, ingredients and bakers as potential sources of microorganisms, was demonstrated by Reese et al. (2020). In this study, bakers from different places (Europe and North America) produced bread using the same recipe and standardized ingredients. The microbial communities of breads were closer each other than that one found in the flour. Approximately 26% of all bacterial and yeast’s amplicon sequence variant (ASVs) were observed in the baker’s skin microbiome, and not in the raw material. Therefore, the bakers’s microbiota influenced the sourdough microbiota.

Considering type II ferment, the use of specific microbial groups in the starter culture can modulate the sourdough microbiota, such as acetic acid bacteria (AAB). Li et al. (2022) investigated the effect of an AAB strain on sourdough production. The authors demonstrated that co-culturing LAB with yeast and AAB resulted in the highest fermentation ability of the ferment. The LAB species released fermentative substrates from protein degradation process; besides that, the presence of AAB in the sourdough affected the growth and metabolism of yeast and LAB. Consequently, the synergistic interactions among yeast, LAB and AAB contributed for an enhanced fermentation ability of the yeast. Additionally, this treatment exhibited the highest flavor and quality compared to the other starter cultures evaluated.

Acid-tolerant LAB, such as *L. brevis*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, and *F. sanfranciscensis*, are commonly used as starter cultures, either alone or mixed with yeasts, being *Saccharomyces cerevisiae* the most prevalent specie. Strains are primarily chosen based on their ability to rapidly acidify the dough and/or produce specific flavor compounds. These attributes are interesting and improve the quality of sourdough additives used as flavor enhancers in bread manufacturing (Calvert et al., 2021; Hernandez-Parada et al., 2022). Menezes et al. (2021) selected six LAB strains (*L. brevis*, *Weissella minor*, *L. plantarum*, *Ln. citreum*, *L. fermentum*, and *Companilactobacillus farciminis*) to prepare a sourdough type II; the breads showed notable lower content of fructans, higher acidity, volume, and extended shelf life in comparison with breads produced with yeast. Gül; Gül, Gül, and Çon (2022) used three selected LAB (*L. curvatus* N19, *Weissella cibaria* N9, and *L. brevis* ED25) lyophilized with optimum cryoprotective agent formulations as Type II sourdough culture. Its specific volume, crust and crumb color, and texture were significantly improved in comparison with the control treatment (yeast).

Sánchez-Adriá et al. (2023) demonstrated the impact of flour type on sourdough microbiota modulation. Using different industrial sourdough, with several flour types, DY, and applying different time and temperature conditions for backslopping steps, the authors observed differences in the volatile compound contents, attributed to the wheat flours used. The microbial diversity of industrial sourdough and the parameters of production also played a role in the bread quality.

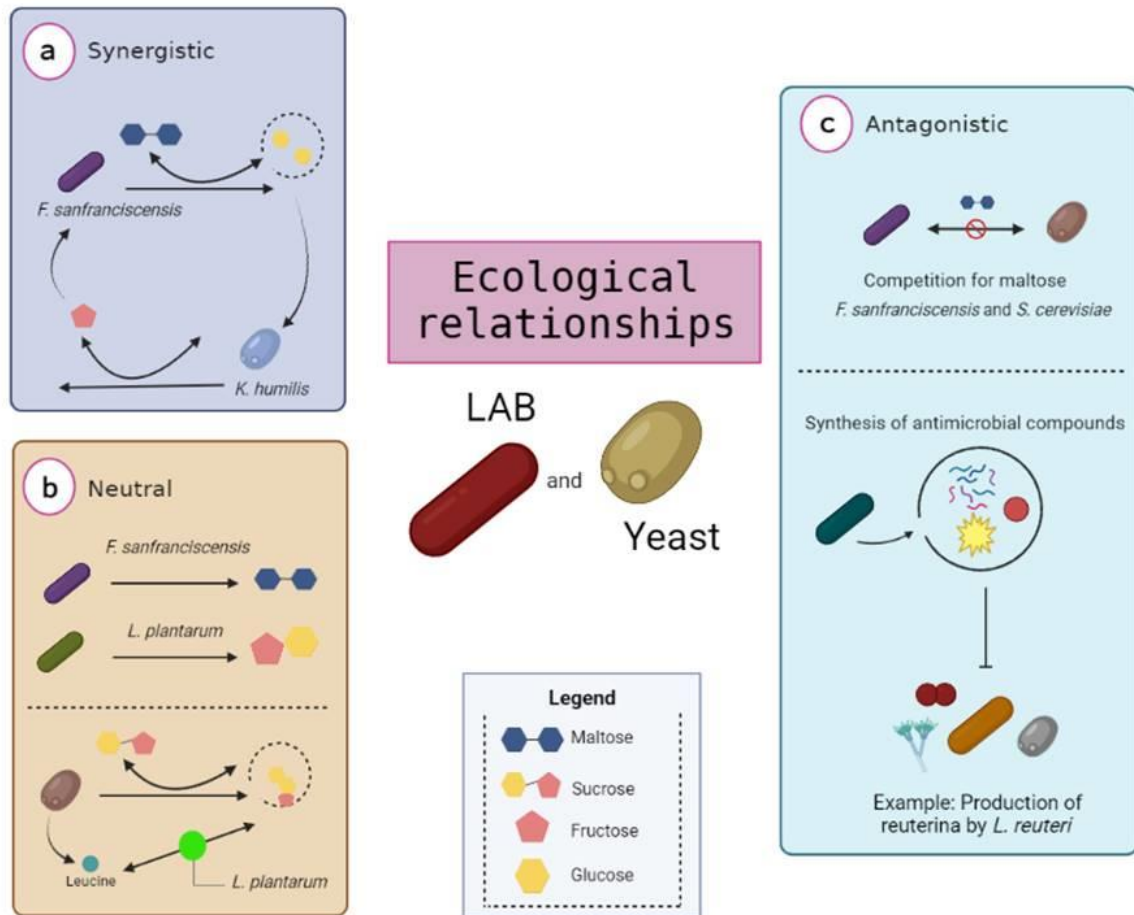
## 6. Sourdough microbial synecology

The adaptability and intrinsic robustness of bacterial and yeast species can interfere with the stability of sourdough and, consequently, with the establishment of a core microbiota. In sourdough, predominant species are better adapted to low pH conditions. This may be related to different cellular mechanisms, such as i) the presence of a proton translocating ATPase system; ii) minimum permeability for protons in the plasmatic membrane; iii) catabolism of glutamine and arginine with NH<sub>3</sub> synthesis, limiting the decrease in intracellular pH; iv) amino acid decarboxylation, combined with amino acid antiporter, consuming protons; v) synthesis of acid shock proteins (ASPs) (De Angelis & Gobbetti, 2004; Oshiro et al., 2020).

LAB can establish a stable association with yeasts, considering the nutritional, trophic, and metabolic interactions (Martín-García et al., 2021). The synecological relationships responsible for the modulation of the sourdough microbiota can be synergistic, antagonistic, or neutral; these include competition for nutrients (antagonistic interaction), amensalism (antagonistic), mutualism (synergistic), and commensalism (neutral), as highlighted in Fig. 4.

*S. cerevisiae* and *F. sanfranciscensis* compete with each other for maltose and glucose; the yeast, by consuming these carbon sources more quickly, affects the metabolism of the LAB (Gobbetti et al., 1994; De Vuyst & Neysens, 2005). On the other hand, antimicrobial peptides produced by LAB can inhibit yeast growth, such as reuterin produced by *L. reuteri* and plantaricin by *L. plantarum* (antagonistic) (Minervini et al., 2014; Axel et al., 2016).

*F. sanfranciscensis* establishes a strong association with the maltosenegative yeast *K. humilis*, characterizing a synergistic cross-feeding relationship. *F. sanfranciscensis* metabolizes maltose and releases glucose, which can be used by *K. humilis*; this relationship avoids nutritional competition and catabolic repression by glucose (De Vuyst & Neysens, 2005; Corsetti & Settanni, 2007). *K. humilis*, in turn, supplies fructose to *F. sanfranciscensis* from the hydrolysis of sucrose by invertase, demonstrating a mutual collaboration between the species. *F. sanfranciscensis* has an ecological advantage due to its ability to use fructose as an alternative final electron acceptor, providing energy gain (Van Kerrebroeck et al., 2017).



**Fig. 4:** Synechology in the sourdough environment. Created with BioRender.com.

*F. sanfranciscensis* is a key bacteria identified in several works about the microbial community of sourdough. Its ubiquity is partially due to its high competitiveness. This phenomenon was demonstrated by Rogalski et al. (2020); they examined the competitiveness of eight *F. sanfranciscensis* strains. The results allowed the classification of strains into three groups: i) competitiveness independent of the presence/absence of yeasts, ii) yeast species-dependent competitiveness, and iii) non-competitive strains. Thus, the authors concluded that the specie's competitiveness is specific, not an inherent characteristic. Some strains depend on the presence/absence of specific yeast species; therefore, a spontaneous occurrence of *S. cerevisiae* or *K. humilis* was reported.

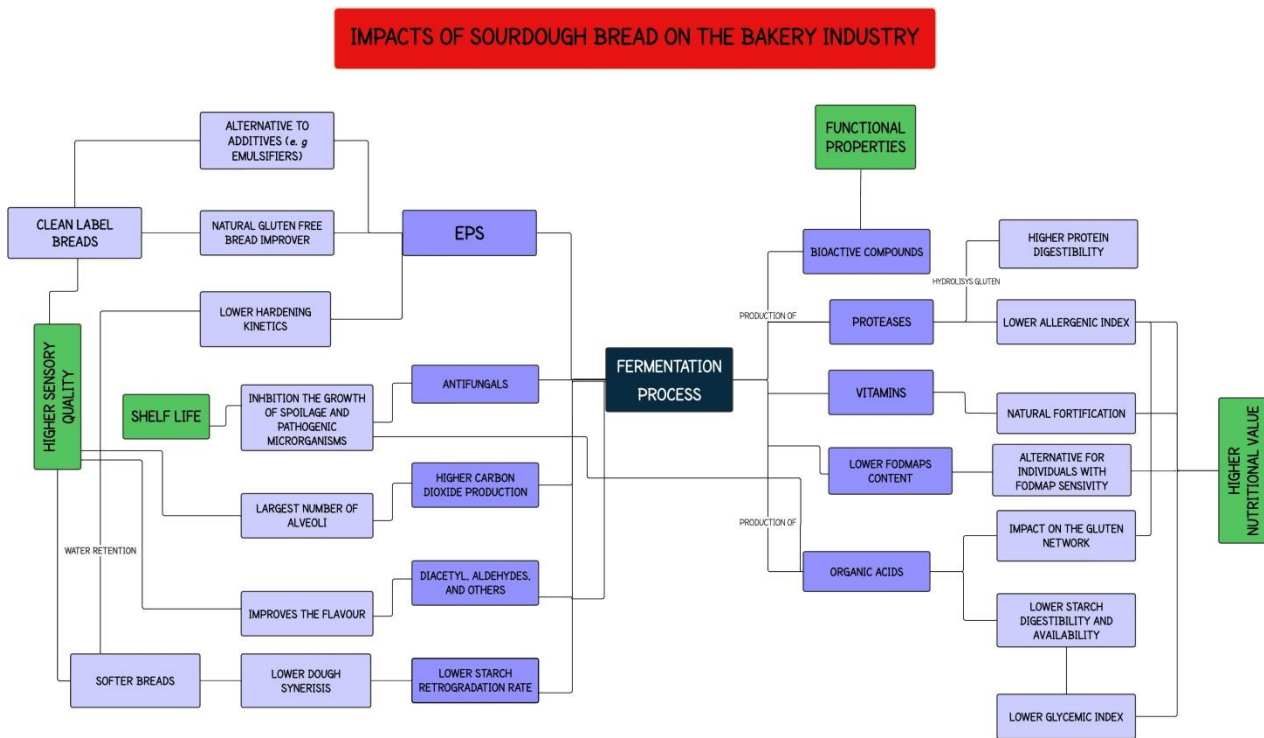
The coexistence of maltose-positive and maltose-negative species is not limited to LAB and yeasts. Van Kerrebroeck et al. (2017) demonstrated the simultaneous occurrence of maltose-negative strains (*C. paralimentarius* and *L. plantarum*) and *F. sanfranciscensis*. For example, a non-competitive association was observed between *F. sanfranciscensis* and *L. plantarum* since the first uses maltose and the second glucose and fructose (Minervini et al., 2014). Comasio et al. (2020) observed that AAB were negatively associated with *F. sanfranciscensis* but positively associated

with *K. humilis* and *S. cerevisiae*. The hydrolysis of sucrose and the production of valine and leucine by *S. cerevisiae* can even stimulate the growth of *L. plantarum* (Siewewerts et al., 2018). Due to the ability to produce organic acids with an inhibitory effect, *Lactobacillus* sp. is often negatively correlated with *Bacillus*, *Clostridium*, *Escherichia*, and *Pseudomonas* (Venturi et al., 2012).

## 7. Impacts of sourdough technology on the bakery industry

The possibility of relating the microbiota of sourdough ferment with the technological parameters represents a significant potential for the bakery industry; knowing how the fermentation conditions of sourdough products can impact its quality can provide breads with high added value. Thus, knowing the characteristics of each species, it is possible to select the most appropriate starter culture to achieve a specific objective. There are several studies demonstrating the beneficial effects of sourdough fermentation on extending the shelf life, nutritional, sensory, and functional quality of bread, as illustrated in Fig. 5 (Fernández-Pelaez, Paesani, & Gomez, 2020; Arora et al., 2021; Canesin; Cazarin, 2021; D'Amico et al., 2023). Most of them relate to the effects of sourdough technology *per se* without investigating the main role of each species present, an essential point for application in the industrial context.

After days of storage, sourdough bread has less hardness when compared to conventional breads made with baker's yeast. In general, this lower hardness is due to the reduction in the rate of starch retrogradation on sourdough bread, which, in turn, reduces dough syneresis. Similarly, this effect is observed after  $\alpha$ -amylase adding in baking, reducing the starch retrogradation. Considering the increased demand for clean-label products, the use of additives should be avoided, making the sourdough technology a promising alternative for the bakery sector (Taglieri et al., 2020). Genomic analysis of *L. plantarum* YXY418 isolated from sourdough showed a putative maltogenic amylase called LpMA. Its gene was expressed in *E. coli* BL21 to evaluate the specific activity under the starch. The results showed an excellent amyolytic activity with good pH stability. The application of reLpMA (recombinant LpMA) in baking could increase bread volume and decrease hardness during storage; therefore, *L. plantarum* YXY418 can be considered a potential candidate for application in the bakery industry (Lin et al., 2023).



**Fig. 5:** Potential of sourdough to provide nutritional and technological improvements in bread. EPS: exopolysaccharide; FODMAPs: Fermentable Oligosaccharides, Disaccharides, Monosaccharides, and Polyols. Created with BioRender.com.

The production of exopolysaccharides (EPS) by LAB slows down the hardening kinetics, helping water retention in the dough and leaving the bread soft for longer. Ferments with a greater abundance of suitable EPS-producing species (such as *F. sanfranciscensis*) can be used to extend the shelf life of bread as an alternative to additives such as xanthan and emulsifiers (Kezer, 2022). Menezes et al. (2021) identified five species with the ability to produce EPS. *Ln. citreum* 4900 had the most expressive EPS production. The benefits related to the production of EPS are not restricted to traditional breads made with gluten-containing flour. EPS in gluten-free bread results in products closer to conventional bread's characteristics, acting as a natural bread improver (Menezes, 2019b). Mygdalia et al. (2022) compared GF breads made with sourdough versus yeast, revealing a slower aging rate for sourdough breads.

$\beta$ -Glucans, a type of EPS, contribute for the viscoelastic properties of dough. Bockwoldt et al. (2021) evaluated the production of  $\beta$ -glucans by *Pediococcus claussenii* and *L. brevis*; the results showed that sourdough containing *P. claussenii* produced more  $\beta$ -glucans in a shorter time than *L. brevis*. In addition, the temperature affected the production, with best results for *P. claussenii* at 25 °C and *L. brevis* at 35 °C. *Ln. citreum* PB220 and *W. confusa* PB332 were positive for EPS

production in the work by Milanović et al. (2020), leading to a  $\beta$ -glucan increase of up to 7.32% and 6.86%, respectively.

In addition to reducing the degree of bread staling, LAB in sourdough plays an important role in inhibiting the growth of spoilage microorganisms, reinforcing the potential use of sourdough technology as an alternative to preservatives widely used in the bakery industry. Petkova et al. (2021) evaluated the efficiency of 11 LAB strains against bacterial and fungal spoilage and pathogens. *L. brevis* 01M22 and 07B198, *L. plantarum* 08B217 and *P. pentosaceus* 12R2192 were the species with the highest activity against bacteria (for example, *B. subtilis*) and fungi (*Penicillium chrysogenum*, *Fusarium graminearum*, *Rhizopus stolonifera*, and *Aspergillus nidulans*). Specific species can produce some antifungal compounds, such as phenylactic acid and cyclic dipeptides produced by *L. plantarum* (Dal Bello et al., 2007). The bioconservation is mainly (but not restricted) related to the production of organic acids (acetic, caproic, and propionic) by LAB species. Sourdough technology can be used to obtain clean-label products, even representing a strategy to reduce costs related to the use of additives and preservatives. Mistakenly, several works have associated the extension of sourdough shelflife merely to the production of organic acids by LAB. However, by comparing chemically acidified breads, it has already been shown that other active compounds released during fermentation contribute in equal or more significantly than acids to antifungal activity (Axel et al., 2017).

Furthermore, in addition to *S. cerevisiae*, heterofermentative LAB also contributes to the production of carbon dioxide (CO<sub>2</sub>), which results in a greater volume of gas produced during fermentation. Besides that, the effect of folding procedures commonly used in sourdough bread production to create tension and reorient the gluten chains results in the reorganization of the CO<sub>2</sub> into small-sized gas cells, which partly explains the higher number of alveoli per cm<sup>2</sup> observed in this type of product (Arora et al., 2021). Despite the simultaneous production of CO<sub>2</sub> by LAB and yeast, a slower CO<sub>2</sub> concentration is produced compared to bread made using yeast. It contains specific strains of yeast selected for fast and efficient gas production (Struyf et al., 2017). The advantages of the consortium of LAB and yeast, in terms of CO<sub>2</sub> consist of greater aeration of the dough, characterizing a bread with more alveoli (Srivastava et al., 2023).

However, it is worth to highlight some inconsistencies about the impact of sourdough technology on the bread's specific volume. Verdonck et al. (2023) evaluated three types of bread: (i) a type I sourdough, (ii) a type I sourdough combined with yeast, or (iii) only yeast. The authors observed that for the sourdough treatment, a lower amount of water was needed to maximize the specific volume of the breads. However, its fermentation time was longer (4 h 11 min) in comparison with the other treatments (around 2 h of fermentation). Issues related to lower volume can be even more pronounced when using organic flour (Lazo-Vélez, Caroca-Cáceres, et al.,

2021a). Therefore, the fermentation time is crucial for the industry (Albagli et al., 2023). Probably, this is the reason for some companies producing sourdough added by yeast (Calvert et al., 2021).

The flavour is also one of the main factors relevant to consumer acceptance, which is directly impacted by the diversity of the sourdough ferment. Depending on the diversity, different metabolites are produced, resulting in unique and complex flavours in the bread. The metabolic activity of LAB and yeasts are important for the bread flavour; however, the role of LAB is now better understood. Homofermentative LAB supply mainly aldehydes, ketones, and, in some strains, diacetyl. Heterofermentative LAB provide ethanol and esters. In addition, the fermentation time and the formulation used also impact the bread flavour, such as the salt content (Liu et al., 2019; Zhou et al., 2022). Aslankoochi et al. (2016) observed that *T. delbrueckii* and *S. bayanus*, species that are not currently used in bread-making, produced aroma profiles that were very different from those produced by commercial bread-making yeast. It was breads made with these yeasts as starters that were preferred by most trained panelists subjected to sensory analysis. Katsi et al. (2021) compared volatile compounds between sourdough bread and bread with baker's yeast. Sourdough breads had a higher concentration of aldehydes, organic acids, and aromatic compounds, for example, 3-methyl-butanal (malty odor), contributing to the pleasant aroma of the bread, making it more appetizing. Acetic acid has only been identified in sourdough bread. A lower concentration of ketones, esters, and hydrocarbons was observed in sourdough bread. The total alcohol concentration was higher in yeast bread compared to sourdough bread.

Regarding functionality, the vitamin content can be increased by fermentation with LAB and yeast in sourdough ferment; thus, some products are naturally fortified (Tsafrakidou, Michaelidou, & Biliaderis, 2020). Capozzi et al. (2011) demonstrated fortification in sourdough bread with a three-fold increase in vitamin B2 (riboflavin) content. LAB has been studied due to its ability to produce riboflavin. Aiming at the vitamin fortification of breads, the use of riboflavin-producing LAB, such as *L. plantarum* UNIFG1 and UNIFG2 isolated from sourdough, has emerged as a tool to produce fermented and fortified foods (Thakur, Tomar, & De, 2015). Zhang et al. (2023) investigated the use of *Propionibacterium freudenreichii*, a producer of vitamin B12, and LAB for the sourdough bread production. The authors demonstrated the B12 vitamin enrichment in the bread obtained. Dough fermented with *K. humilis* and *T. delbrueckii* had 4-fold increased vitamin B9 content (Kariluoto et al., 2014). *Meyerozyma carpophila* and *Meyerozyma guilliermondii* overproduce vitamin B2, even in larger amounts (~4000 µg/L) than *L. fermentum* (~1203 µg/L) (Chiva et al., 2021).

Sourdough fermentation has been related to reducing levels of FODMAPs (Galgano et al., 2023). Wheat-based products provide the majority of FODMAPs ingested in the human diet; in this context, the potential use of sourdough technology to reduce its intake is of clinical, scientific, and

industrial interest. It is due to the intense activity of sourdough microbiota; *S. cerevisiae*, for example, is responsible for the production of invertase, which hydrolyses sucrose into fructose and glucose; although fructose in high concentrations can be considered a FODMAP, it is better metabolized by this specie. On the other hand, *K. marxianus* produces inulinases responsible for the degradation of fructans, the most important subgroup of FODMAPs. Its concentration in sourdough bread can be reduced by more than 60% compared to conventional bread (Menezes et al., 2019a).

Regarding FODMAPs content, a decreasing from 92.6 to 70.4% in the total fructans content for different combinations of LAB starter cultures was observed by Menezes et al. (2021). Some LAB species, such as *F. sanfranciscensis* and *L. curvatus*, metabolize fructose but produce mannitol, another type of FODMAP. In this case, the use of a mixed culture of LAB species such as *L. plantarum* (fermenting fructose) and *L. delbrueckii* (fermenting mannitol), as well as yeasts, could be an alternative to degrade both fructans, fructose, and mannitol, reducing the total levels of FODMAPs in sourdough products (Papadimitriou et al., 2019; Struyf et al., 2017). *L. crispatus*, *L. amylovorus*, *L. paracasei* and *Kluyveromyces lactis* produce extracellular fructanase, which confer fast hydrolysis of all fructans, reducing significantly FODMAP content (D'Amico et al., 2023). Therefore, a microbiota with targeted metabolic aptitudes can help to obtain bread with less diversity and content of FODMAPs, representing a promising alternative for individuals with some type of sensitivity to these components in wheat-based products.

During sourdough fermentation, starch digestibility and availability also decrease; this phenomenon is related to the pH reduction of the dough, which favours the interaction between gluten and starch, reducing its bioavailability. Consequently, a lower glycemic index is observed after consumption compared to bread with baker's yeast, an important effect for diabetics (Melini, Melini, Luziatelli, Ficca, & Ruzzi, 2019). Polese et al. (2017) evaluated the gastric emptying, gastrointestinal fermentation, and some symptoms in healthy people after sourdough bread or yeast bread consumption. Gastric emptying was reduced by 11%, and the overall severity of postprandial symptoms was 36% lower after sourdough consumption compared to bread made with yeast, promoting better postprandial gastrointestinal function in healthy adults. Similar results were also observed by Rizzello et al. (2019). Demirkesen-Bicak et al. (2021) evaluated the impacts of different fermentation conditions (25 °C and 30 °C) and methods (type-I and type-II) on the glycemic index and starch digestibility. Resistant starch values were significantly higher in type-II than in type-I at the same temperature; however, regarding temperature, the values were higher at 25 °C. There were no differences in the glycemic index related to the type of sourdough. However, the effect of temperature was significant, with a greater reduction being observed at 30 °C.

Protein digestibility is also improved by sourdough fermentation, from producing proteases that act mainly on glutenin and gliadin, promoting their breakdown into smaller amino acids and

peptides (Tsafrakidou et al., 2020). Gluten hydrolysis also promotes a reduction in the allergenic index, providing benefits for consumers with gluten intolerance or allergy and, therefore, alleviating symptoms in celiac individuals and with wheat allergy (Gobbetti et al., 2018). Sourdough fermentation can degrade even the 33-mer peptide of  $\alpha$ -gliadin, considered the most immunogenic factor (Menezes, 2019b). Rizzello et al. (2019) also observed an increasing around 8% and 16% in the protein digestibility for breads produced with sourdough + yeast, and sourdough, respectively, in comparison with breads made with only yeast. Considering cardiometabolic risk factors, Pagliai et al. (2020) demonstrated a reduction of 2.07% in LDL cholesterol and of 10.7% in vascular endothelial growth factor for sourdough breads in comparison with conventional breads.

In addition to the role of gluten,  $\alpha$ -amylase/trypsin inhibitors (ATI) have been identified as triggers of the innate immune response in celiac disease and non-celiac wheat sensitivity. For example, ATIs represent up to 4% of total proteins in wheat grains. ATIs exhibit potent inflammatory activity. However, when sourdough fermentation is used, ATI tetramers are degraded, resulting in lower pro-inflammatory bioactivity. On the other hand, in fermentation with baker's yeast, ATI tetramers remain intact, which leads to allergenicity. These results corroborate other studies, indicating a reduction in the severity of celiac disease and nonceliac sensitivity to wheat from sourdough breads (Huang et al., 2020).

Another benefit of sourdough fermentation is related to the reduction in the anti-nutritional factors' content, such as phytates, natural constituents of cereals, and, consequently, cereal-based products. Phytate content can be reduced by more than 50% using sourdough fermentation (Arora et al., 2021). In addition, with the reduction of phytates, the absorption of minerals is improved, especially calcium, sodium, magnesium, iron, and zinc, given their chelating power (Arora et al., 2021; Tsafrakidou et al., 2020; Canesin; Cazarin, 2021). Although it has already been demonstrated that *S. cerevisiae* reduces the phytate content of breads (Palla et al., 2020), the phytase activity is more efficient in sourdough breads due to the decreasing of pH by LAB during the fermentation process, which favors the simultaneous activity of microbial and endogenous phytases (Mietton et al., 2022).

Among the phytase-positive microbial species, *L. pentosus*, *F. rossiae*, *S. cerevisiae*, and *K. humilis* stand out (Arora et al., 2021). For example, *L. acidophilus* ATCC4356 increases the nutritional value of bread due to the bioavailability of Fe and Zn (Zahra et al., 2022), and *L. brevis* LD65 and *L. plantarum* PB241 have high phytase activity (De Vero et al., 2021). Similar results were observed for *L. brevis* LD65 and *L. plantarum* PB241 by Milanović et al. (2020), with low or no phytase activity for *Weissella confusa*. Chiva et al. (2021) observed phytase activity for all *K. humilis* and *W. anomalus* strains evaluated.

Phenolic compounds with beneficial health properties also increase their content on sourdough bread (Rizzello et al., 2016). The dephosphorylation of phytate via phytases also leads to the release of phenolic compounds (Pérez-Alvarado et al., 2022). Taglieri et al. (2021) observed a significant influence related to the leavening agent (sourdough versus yeast). Sourdough breads had higher levels of total phenols (0.867 mg GAE/g dry matter versus 0.589 mg GAE/g dry matter of yeast). The functional properties of sourdough bread are also related to the greater availability of bioactive compounds in the sourdough, such as cannabinoids, flavonoids, phenolic, terpenoids, with antioxidant, anti-inflammatory, anti-cancer, and anti-obesity activities (Almeida, 2015). Borneol, thymol, and terpineol, compounds already detected in sourdough, are recognized as modulators of the intestinal microbiome, in addition to their anti-inflammatory and antioxidant activities (Nissen, Samaei, Babini, & Gianotti, 2020). Gamma-aminobutyric acid (GABA), a neurotransmitter with important physiological functions, can be found in fermented cereals, with beneficial effects in treating anxiety and depression, for example. Most GABA-producing strains correspond to *Lactobacillus* sp., LAB widely detected in sourdough; its activity, therefore, can increase the levels and availability of GABA in the product, whose consumption can contribute to the reduction of symptoms related to mental disorders (Aslam et al., 2020; Villegas, Brown, de Giori, & Hebert, 2016).

*Kluyveromyces marxianus*, *Kluyveromyces lactis*, and *Kluyveromyces aestuarii* isolated from sourdough were evaluated by Fekri et al. (2020) about their ability to degrade phytate, antioxidant capacity, EPS production, phenolic compound content and in vitro starch digestion. The highest amount of phenolic compound production (7.71 mg gallic acid equivalent/100 g) and the lowest amount of phytic acid (17.49 mg/5 g) were observed for *K. marxianus*. The highest antioxidant, for *K. aestuarii* (12.45  $\mu$ M ascorbic acid/g), and the production of total EPS (47.55  $\mu$ g/mL), for *K. aestuarii*. *K. lactis* showed the highest starch hydrolysis index (90.91%). Zahra et al. (2022) demonstrated the ability of *L. brevis* E120 to improve sensory qualities (crust color, acidic flavor and aroma, texture, chewiness, and acceptability) of sourdough breads.

## 8. Microbial metabolites and their impacts on sourdough bread

Sourdough technology provides a complex environment for microbiome, where microorganisms produce significant amounts of metabolites which play several relevant roles, such as dough acidification, leavening, development of aroma, flavour. In this context, microbial diversity and ecology are essential for the bread quality (Sadeghi et al., 2023). LAB metabolism results in organic acids, aromatic and bioactive compounds, besides antimicrobials. Yeasts produce several metabolites such as esters, aldehydes and acetoin, that contribute to particular flavours. *S.*

*cerevisiae* metabolism is often associated with balsamic, malty, honey, rose, and buttery notes. On the other hand, *K. humilis* has been recognized for its contribution to fruity and green flavors. Furthermore, yeasts contribute for the bread texture by producing compounds such as glutathione, glycerol, and pyruvic acid, which effectively improve the integrity and strength of the gluten network (Calvert et al., 2021; Hernández-Parada et al., 2022). Due to the unique core microbiota of each sourdough environment, distinct metabolites specific to the sourdough community are also produced, resulting in characteristic aspects in the product.

Fang et al. (2023) demonstrated a lower alcohol content but a significant increase in acids, aldehydes, and esters when comparing dough fermented with LAB + yeast with dough fermented only by yeast. Pacularu-Burada, Georgescu, Vasile, Rocha, and Bahrim (2020) compared two sourdoughs with different pH values: i) 4.0 and ii) less than 4.0. At pH 4.0, an increase in the metabolic activity of different LAB was observed, which was reflected in the production of postbiotic compounds. On the other hand, at pH < 4.0, higher volatile compounds content was observed, improving the flavor. LAB also contributes to antimicrobial activity, improving bread's microbiological safety and extending its shelf life.

Sadeghi et al. (2019) investigated the effect of *L. reuteri* as a protective culture against *Aspergillus niger*. *L. reuteri* showed antiaflatoxic activity, reducing the amount of aflatoxins type B1, B2, G1, and G2. Using Gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS), they detected n-decanoic acid, 3-hydroxydecanoic acid, and 3-hydroxydodecanoic acid with antifungal action. The growth of *A. niger* in bread containing *L. reuteri* as a protective culture also decreased compared to bread produced using spontaneous sourdough (type I) and control bread (yeast). The results highlight that *L. reuteri* can be a protective starter culture for the bakery industry. Currently, the importance of researches about protective starter cultures for the bakery industry has been highlighted, given the challenge related to the extension of shelf-life in a clean label context. LAB confer microbiological safety to breads due to natural preservatives targeting mycotoxigenic fungi. The protective action of LAB can also be related to pariental adsorption toxins. Mycotoxins can be adsorbed on the peptidoglycan of LAB, removing them from the substrate. *L. plantarum* and *L. brevis*, for example, are efficient in removing ochratoxin by the adsorption method; *L. rhamnosus* and *L. reuteri* for aflatoxin B1 via peptidoglycan and/or pariental teichoic acids (Houssni et al., 2023).

*Loigolactobacillus coryniformis*, *L. curvatus*, *L. farraginis* and *Lc. mesenteroides* have been demonstrated as good antifungal producers, including hydroxy fatty acids, phenyllactic acid, and cyclic dipeptides. Caproic acid produced by *F. sanfranciscensis* has also been reported as an effective antifungal agent, preventing the bread spoilage (Bartkiene; Ozogul; Rocha, 2022; Corsetti & Settanni, 2007; De Vuyst et al., 2017). Syrokou et al. (2021) identified LAB with protective

effect against *A. niger*, *Penicillium chrysogenum* and *Penicillium olsonii*, in addition to *Listeria monocytogenes*. *L. plantarum* and *W. anomalus* stood out about their safety (and technological) potential, exhibiting anti-mold, antibacterial, proteolytic, and lipolytic activity.

Strains able to produce antimicrobials can also be applied as biopreservative cultures, playing a crucial role for the shelf-life extension of bakery products. Calabrese et al. (2022) evaluated the effectiveness of a type III sourdough combined with a mixture of probiotic strains (*L. acidophilus*, *L. casei*, *Bifidobacterium* sp., and *Bacillus coagulans*) in a fresh base-pizza and focaccia stored in a modified atmosphere packaging (MAP). It resulted in distinct microbiological and metabolite enhancements in both products. As a result, their shelf life was extended by 10 days. Zhou et al. (2022) analyzed the microbial diversity of Tartary buckwheat sourdoughs and demonstrated that the microbiota and the fermentation time impact the production of metabolites and the bread quality. *Lactococcus* and *Weissella* were the predominant LAB genera, followed by fungi such as *Wickerhamomyces*, *Penicillium* and *Aspergillus*. After 12 h of fermentation, a large amount of alcohol and esters were produced, resulting in an improvement on the bread flavour. Wang et al. (2023) adopted continuous propagation of Chinese traditional sourdough (CTS) to simulate the industrial production of sourdough steamed bread made by retarded sponge-dough method (SSB). The authors analyzed the metabolites by high-performance liquid chromatography (HPLC) and observed major changes in metabolite content in the first three days of fermentation. Therefore, volumetric and texture, as well as volatile flavor compounds, were established during the initial stage of the fermentation process.

Several beneficial effects in human health and nutrition have been related to metabolites produced by microorganisms during sourdough fermentation. Luti et al. (2021) used lactobacilli strains to produce peptides with anti-inflammatory and/or antioxidant properties, activities retained after sourdough bread cooking. It could be used to mitigate inflammation and prevent the occurrence of chronic degenerative diseases, such as Irritable Bowel Syndrome and type 1 diabetes. Colosimo et al. (2020), using Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP), 2,2-DiPhenyl-1-Picryl Hydrazyl (DPPH), and Cellular Antioxidant Activity on Red Blood Cells (CAA-RBC) assay demonstrated that the fermentation of *Triticum dicoccum* by sourdough technology improves the nutritional profile of the product. An extended shelf life can be related to the production of organic acids, besides that improvement in the taste and digestibility. The protein hydrolysis resulting from microbial activity increases the potential bioavailability of amino acids and may facilitate the production of bioactive peptides with potential medical and biological activities. In addition, the reduction of certain peptides associated with cereal intolerance in humans can provide novel opportunities for developing innovative products catering to patients with celiac disease. The fermentation process of spelt significantly increases its protein and mannitol content, and decreases

its dietary fiber content, as well as the concentration of fructose, glucose, sucrose, maltose, and raffinose (Pozzo et al., 2022). When investigating the modulatory effect of spelt on gut human microbiota under normal conditions, the growth of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* sp. Was stimulated, followed by a higher production of lactate, acetate, and propionate in non-obese and obese individuals.

The use of extra ingredients in sourdough process may provide as a source of metabolites, as it stimulates the microbial growth. Comasio et al. (2021) added lemon and apple juice in sourdough as a source of citrate and malate, respectively. These juices stimulate the growth and activity of the citrate- and malate-positive *Companilactobacillus crustorum* LMG 23699 strain. Long fermentation for type II sourdough production and backslopping with repetitive addition of juice along the whole process for type III sourdough production were evaluated. Both methods resulted in noticeable flavor variations in the baked products. The adding of lemon juice facilitated the conversion of citrate, resulting in higher levels of lactic and acetic acid, acetoin, and diacetyl. On the other hand, the use of apple juice promoted malolactic fermentation, resulting in enhanced production of lactic acid.

## **9. How to deliver sourdough bread with improved characteristics for the bakery industry?**

Globalization and the recent growth in the production and consumption of fermented foods in the artisanal context resulted in one of the main emblematic issues: irreproducibility, considered one of the main obstacles in the industrial context. In this sector, production is highly standardized in order to guarantee consistency and quality. In addition to the irreproducibility, the backslopping process is, in a way, laborious, since it demands daily feedings. In bakeries, backslopping is not performed only on 1 day per week (D'Amico et al., 2023). In this context, several studies have been developed to better understand the sources of variation in sourdough fermentation to obtain a more standardized production and efficient. It has been demonstrated that using starter cultures (sourdough type II or III) allows for greater control of the fermentation process, ensuring the reproducibility of sourdough fermentation (Boyaci Gunduz et al., 2022). Facilities for type II industrial fermentations are mostly located in Central, Northern and Eastern Europe (D'Amico et al., 2023).

The bakery industry can obtain better fermentation control from a ferment with a stable microbiota, with more satisfactory results that meet the expected attributes. However, this standardization, especially when using type I sourdough ferment (without added starter culture), still represents a major challenge. To solve the various factors inherent to the fermentation process, the use of type I ferment must invariably be conditioned to the use of raw materials and ingredients

with constant composition (especially flour), as well as greater control of the production environment to avoid contamination by the house microbiota (Reale, Di Renzo, Boscaino, et al., 2019). Therefore, by reducing such sources of variation as much as possible, the reproducibility required for industrial sourdough production could be more efficiently achieved. In this context, the bakery industry mostly uses type II or III ferment due to their well-known microbiota; on the other hand, type I ferment is obtained by autochthonous microorganisms, making its use harder.

In general, starter cultures are produced from autochthonous microorganisms isolated from sourdough. However, the use of microorganisms from other fermented foods has been a strategy in recent years (Arora et al., 2021). Curiously, not only fermented foods represent a source of starter culture for sourdough production, but also non-fermented foods derived from plants or animals. Hernández-Parada et al. (2022) reported several types of food matrices able to be used as a source of starter cultures, such as yogurt, corn bran, coconut water, fermented sausage, water and milk kefir grains, pear, orange, and kimchi. The potential use of these them provides a range of possibilities to diversify bread-making practices, enhancing sourdough bread's physicochemical, sensory, and nutritional properties.

The performance of each starter and substances produced by them affect the rheology and features of breads. *Lacticaseibacillus paracasei* K5 strain, recently isolated from Greek Feta type cheese, was evaluated as a potential sourdough starter. The sourdough breads obtained showed good quality in terms of rising and acidity, as well as sensory properties; in addition, the spoilage was delayed in comparison with the control (traditional sourdough) (Mantzourania et al., 2019). *L. paracasei* SP5, isolated from kefir grains, presented a good performance (Kazakos et al., 2022). It showed the greatest reduction of phytate (83.3–90.7%) compared to the control (traditional sourdough) samples (71.4%). The use of water and milk kefir grains as starter cultures for producing GF sourdough bread, for example, represent a significant source of healthier bioingredients for the manufacture of safe bakery products for specific market niches (Pacularu-Burada, Georgescu, Vasile, Rocha, & Bahrim, 2020). Aryashad et al. (2022) used *P. pentosaceus* isolated from fermented sprouted mung beans as protective starter culture to produce a clean-label fortified wheat bread. It had the most extended mold-free shelf life (4 days) and the lowest growth rate of *A. niger*, in addition to an increase in the content of amino acids (e.g., histidine, serine, threonine, valine, phenylalanine and tryptophane).

Roby et al. (2020) produced sourdough bread from an encapsulated kombucha starter culture without bakery yeast. The dough had its volume increased to 976.7 mL in comparison with sourdough (916.7 mL) and the yeast (803.3 mL) treatments. A significant reduction was observed in crumb firmness (116.07 g) in relation to traditional sourdough bread (316.67 g) and yeast bread (267.94 g). Thee results reinforce the importance of non-indigenous microorganisms as sourdough

starters, resulting in breads with extended shelf life and high quality. The results support the use of the new strains, which does not necessarily need to be isolated from the sourdough matrix, for good-quality sourdough bread.

Regarding autochthonous starters, in addition to their technological properties, sourdough ferment's microbiota can contribute to developing innovative products for the bakery industry with sensory or functional characteristics of interest. Several studies have used starter cultures with beneficial technological properties, aimed to improve sourdough bread's nutritional composition and functional aspects without compromising its sensorial aspects. The most part of autochthonous starter cultures belong to lactobacilli group, probably due to their high adaptability to the sourdough environment. Montemurro et al. (2020) investigated forty-one non-*Lactobacillus* species to be used as starter, with *Pediococcus pentosaceus* OA1 and S3N3 and *L. citreum* PRO17 resulting in the best results due to their optimal acidification, intense proteolytic activity, phytic acid degradation and increased phenols and antioxidant. In an industrial context, the use of selected starter cultures has been considered a valuable strategy; however, the use of sourdough in industrial conditions requires the development of efficient starter cultures able to dominate the environment and to perform consistently.

Korcari et al. (2021) demonstrated the effect of starter cultures on technological, sensory, and shelf-life improvement of sourdough produced with spelt flour. Two consortia were set up, containing a yeast strain (either a commercial *Saccharomyces cerevisiae* strain or a maltose-negative *Kazachstania unispora* strain) and two strains of LAB, *Weissella cibaria* and *Pediococcus pentosaceus*. The ferment with *S. cerevisiae* showed a superior crumb texture maintained through 5 days of storage. Furthermore, both consortia improved the mold-free shelf-life. Maidana et al. (2020) produced a sourdough bread based on chia and flaxseed flour using autochthonous LAB from sourdough. The bread showed good acceptability according to the taster profile and better functional characteristics than conventional bread (chemically acidified).

In addition to the improvements for baked goods produced using sourdough technology, several studies have still focused on developing formulations for improved sourdough breads. The enrichment with different combinations of legume flours, cereal, pseudocereal and sprouted flours offers novel alternatives (Table 1). Products with enriched attributes are potential candidates for investment by industries due to the growing appeal by consumers for functional foods. In this way, the bakery industry, using sourdough technology and by leveraging formulations with additional ingredients, can deliver products with even greater nutritional value to the consumers. The effects can be even more pronounced when using selected starter cultures, which optimize certain characteristics. Ultimately, using unconventional raw materials, such as millet flour, has been

shown promise in preparing sourdough bread, resulting in products with low glycemic index, high fiber content, and good acceptance by consumers (Das et al., 2021).

**Table 1:** Ingredients added to the formulation of sourdough breads to increase the product's nutritional value.

Year	Improved feature	Technology employed	Main flour	Reference
2017	Decreased in gluten content Higher protein digestibility Lowest glycemic index	Enrichment of faba bean flour	Wheat	Coda et al., 2017b
	Increased content of g-Aminobutyric acid (GABA) Increased concentration of the essential amino acids (Thr, Val, Phe, and Lys)			
2018	Higher nutritional profile in terms of fatty acid composition High protein content Occurrence of essential amino acids	Enrichment with cricket powder ( <i>Acheta domesticus</i> )	Wheat	Osimani et al., 2018
2019	Higher specific volume Softer crumb after three days of storage (higher shelf-life) Highest antioxidant activity	Fortification with rice bran	Wheat	Irakli et al., 2019
	Highest specific volume Lowest firmness Enrichment in protein content Increase in the content of free amino acids (Tyr, Met, Ile, and Leu)	Enrichment of mealworm ( <i>Tenebrio molitor</i> L.) powder	Wheat	Roncolini et al., 2019
2020	Increased phenols, flavonoids, and antioxidant power Increased monounsaturated fatty acids and polyunsaturated fatty acids Decreased saturated fatty acids Higher levels of n-3 alpha-linolenic acid	Fortification with flaxseed	Wheat	Sanmartin et al., 2020
2021	Increased protocatechuic acid and 4-hydroxybenzoic acid content Increased free total phenolic content and antioxidant capacity	Replacement (25%) with yellow pea flour	Wholemeal rice (GF)	Drakula et al., 2021

	<p>Better profile of volatile compounds</p> <p>Highest antioxidant activity</p> <p>Lower glycemic index</p> <p>Decreased glucose absorption</p> <p>Reduced postprandial hyperglycemia</p>	<p>Enrichment with mealworm powder (<i>Tenebrio molitor</i>) and buffalo worm (<i>Alphitobius diaperinus</i>)</p>	<p>Wheat semolina</p>	<p>Gaglio et al., 2021</p>
	<p>Increased LAB and AAB</p> <p>Fewer carbohydrates</p>	<p>Enrichment with chickpeas sprouted</p>	<p>Wheat</p>	<p>Lazo-Vélez et al., 2021<sup>a</sup></p>
	<p>Decreased crumb resilience</p> <p>Higher density and lower number of gas cells</p> <p>Luminosity decreased</p>			
	<p>More tenacious and less extensible products</p> <p>Increased total phenolic compounds and the antioxidant capacity</p> <p>Increased total dietary fiber content</p>	<p>Fortification with grape pomace powder</p>	<p>Wheat</p>	<p>Tolve et al., 2021</p>
2022	<p>Higher protein proteolysis degree, improved protein digestibility</p> <p>Increase of peptide and free amino nitrogen content</p> <p>Greater crumb softness</p> <p>Solubilization of phenolic compounds</p> <p>Increase of DPPH radical scavenging and ferric-reducing power</p> <p>Delayed the staling</p> <p>Reduction of glycemic index</p>	<p>Natural yogurt as a starter culture</p>	<p>Wheat</p>	<p>Graça et al., 2022</p>
	<p>Greater dough volume</p> <p>Finer porous crumb</p> <p>Lower crust moisture content</p>	<p>Chickpea extract as a starter culture</p>	<p>Rice and corn flour (GF)</p>	<p>Mygdalia et al., 2022</p>
	<p>Increased total phenolic contents and antioxidant activities</p> <p>Yeast growth promotion in the dough</p> <p>Lower sugar content and higher dietary fiber</p> <p>Lower total aerobic bacteria count in storage</p> <p>Increased shelf-life by two days</p>	<p>Enrichment with water from Asian pears and Assam tea leaves</p>	<p>Wheat</p>	<p>Supasil et al., 2022</p>

	Higher number of proteins and polyunsaturated free fatty acids High content of health-promoting and aroma precursors lipids Lowest biogenic amine index	Fortification with cricket powder hydrolysate	Wheat	Rossi et al., 2022
2023	Reduced the total biogenic amines content	Enrichment with cricket flour ( <i>Acheta domesticus</i> )	Wheat	Bartkiene et al., 2023
	Highest specific volume Highest intensity of the emotion “happy” in sensory analysis Increased bread porosity			
	Increased loaf-specific volumes Decreased the mold count on storage Increased protein content Increased in % DPPH inhibition Less bread hardness	Enrichment with chickpea and carob	Wheat	Eraslan et al., 2023

The use of sourdough technology to obtain GF products has been increasing, providing properties closer to those observed in wheat-based breads; since the quality and characteristics of sourdough are intrinsically related to the microbiota, a well-known ferment composition and related metabolic activities is essential (Yang, Rutherford-Markwick, & Mutukumira, 2021). Gharekhani et al. (2021) evaluated the use of LAB isolates (*F. sanfranciscensis*, *L. plantarum*, *L. brevis*, and *C. paralimentarius*) to improve the quality of maize-based bread. They compared 17 treatments with or without sourdough involving single and multiple LAB species. The optimal treatments involved using sourdough seeded with a single strain, specifically *L. brevis* and *L. plantarum*. Additionally, the use of two or three strains, such as *L. brevis* + *C. paralimentarius*, and *F. sanfranciscensis* + *L. brevis* + *L. paralimentarius*, demonstrated to be highly effective. Incorporating these LAB-fermented sourdough resulted in reduced hardness, improved elasticity, and minimized baking loss. These strains demonstrated great potential as starter cultures for GF sourdough breads.

Caponio et al. (2022) used two-selected LAB and a yeast to increase the antioxidant features and the phenol profile of the GF breadsticks fortified with an olive cake with the perspective of producing a functional food. The findings revealed that the inclusion of olive cake and the process of fermentation had a positive impact on the overall phenolic content and antioxidant activity of the baguettes. Additionally, the incorporation of olive cake and the fermentation of the dough showed a notable influence on the predicted glycaemic index of the bread. Indeed, the study emphasizes olive

cake's potential when used in fermentation to produce GF baked goods with an enhanced nutritional profile. Kulatunga et al. (2023) evaluated the effect of different starter cultures and stone mill settings on the nutritional attributes of sourdough bread. They observed that mill settings, flour particle size, and starter culture play a considerable role in determining the nutritional attributes. The quantity of soluble dietary fibers, arabinoxylan and total starch content, and protein digestibility were different among sourdough bread samples with rye and wheat starter cultures. For example, sourdough with rye starter culture showed higher protein digestibility values compared to the sourdough with wheat starter culture. The protein digestibility also was affected by flour particles. The finer the particle size fraction, the higher the digestibility.

Nowadays, many different kinds of baking processes use sourdough technology, such as delayed dough, sponge dough, no-time, frozen dough, and partial cooking. For the delayed dough, the fermentation takes place at refrigerated temperature (2–6 °C) for a more extended period, which results in more complex flavor and improved gluten development in the product. Sponge dough, in turn, is a two-step process and is sometimes considered pre-fermentation. It consists of a mixture of flour, water, and yeast, which is left to ferment for some time before being added to the main bread dough. The sponge dough is added to the main bread dough along with the remaining ingredients like flour, water, salt, etc. Sponge dough is characteristic of traditional Chinese steamed buns. In the no-time dough method, the bulk fermentation period is given to the dough after mixing and before splitting. The dough is split immediately after mixing (Wang, Zhao, & Yuan, 2020).

Wang et al. (2020) evaluated the delayed sponge dough method in producing steamed Chinese buns. The fermentation process was delayed for 24 h, and the formation and accumulation of flavor and aroma precursors was verified. The authors consider that the ideal sensorial parameters were obtained within 24 h, using 40% of sourdough. In addition to a higher specific volume, finer crumb texture, and highersensory score, more flavor compounds were produced compared to the control (made by no-time dough method using yeast). The total ion chromatogram of volatile compounds from retarded sponge mass exhibited more response peaks and higher abundance.

In baking, a minimum amount of 15% sourdough is typically used in relation to the quantity of flour (baker's formula) (García-Gómez et al., 2022). This percentage, however, may be different when dry-type sourdough is added, as highlighted by Voinea and Codina (2021). The authors investigated the effect of dry sourdough addition on the final product in concentrations ranging from 0 to 4%. The bread with the highest dry yeast content had the lowest volume and porosity values and the highest level of elasticity, chewiness, and viscosity. Despite that, samples with higher levels of sourdough were the most appreciated by tasters due to the better structure of the crumb and aromatic profile. D'Amico et al. (2023) reported different percentages of sourdough

related to flour, considering types I, II and III. For the type-I, 20–30% of the flour are fermented for more than 6 h; for the type-II, 10–20%; and for the type III, 3–5%. In this case, sourdough is a technological aid and the metabolic activity is attributed to baker's yeast, which can be added in a proportion of 1–4% of the dough. Subas,ı and Ercan (2023) investigated the influence of different percentages of sourdough (0, 10, 20, 30%) and other parameters of phytic acid, dietary fiber, phenolic content, and antioxidant activity in whole wheat bread. They concluded that the nutritional attributes of whole wheat bread could be enhanced by using LAB starters and incorporating 30% of sourdough. In the study conducted by Tomic et al. (2023), bread prepared with a 50 g/100 g sourdough showed significantly higher specific loaf volumes, similar to the yeast-fermented control bread, compared to bread with a 25 g/100 g sourdough addition. A similar phenomenon was observed for chewiness and cohesiveness.

Dough kneading time is another important factor to control in industrial processing to obtain better results. Xi et al. (2021) evaluated a 3–11 min interval on the rheological and volatile properties of the dough. The dough kneaded for 7 min showed the highest volume and porosity. However, the beating performed for 9 min gave the best aroma, with inconsistent improvements related to the beating time. Therefore, further studies related to the time of beating are necessary since this feat can differ depending on the product type.

With the daily routine increasingly accelerated, the search for ready-to-eat frozen foods has increased considerably. However, the freezing process and frozen storage lead to a loss of product quality, especially when it comes to slow freezing, which induces changes in texture due to the greater number and size of ice crystals formed. The formed ice crystals damage the structures and the microbial cells, which can reduce the fermentative efficiency of the dough, resulting in products with compromised attributes. A strategy to mitigate the effects of freezing can be the addition of cryoprotective solutes mixed with the dough, such as, for example, trehalose (Zhu, 2021), or the treatment of microorganisms with  $\epsilon$ -Poly-L-lysine, according to Lu et al. (2020). The steamed bread made from the dough containing  $\epsilon$ -Poly-L-lysine showed porous crumb, soft texture, and high specific volume after four cycles of freezing-thawing, different from the dough without  $\epsilon$ -Poly-L-lysine.

The performance of frozen dough also depends on flour components such as starch and gluten. Chen et al. (2023) suggest that basil seed gum can mitigate the mechanical damage caused by ice crystals to the gluten network structure of the frozen dough, making the dough more continuous and uniform, giving properties very similar to fresh dough; thus, it may be a promising cryoprotectant. Lou et al. (2023) evaluated the impact of natural inulin, at various levels, on frozen dough. Natural inulin at 5 g/100 g gave the best results, increasing the stability of the gluten network structure and reducing water loss from the dough by promoting the interaction of water

with proteins and starch polymers. Regarding to sourdough, more studies are needed to understand the effects of freezing, in addition to verifying the feasibility of making frozen sourdough products available without compromising their characteristics.

## 10. Final remarks

Sourdough fermentation has a promising future in the bakery industry and can play an important role in the diversification and innovation of bakery products worldwide. In this article, we reinforce the relevance of knowledge about the sourdough microbiota and its impacts on bread quality; its modulation is a relevant strategy to enable the scale production of sourdough products. Recent studies have shed light on which parameters can be used to facilitate the use of sourdough ferment in an industrial context to obtain relatively standardized products. Types II and III are the most used on an industrial scale due to their ability to standardize and use cultures directed toward specific characteristics desired by the industry and/or consumers.

So far, many LAB and yeast have been evaluated for use as starter cultures. It is worth to highlight the underexplored potential of AAB in sourdough fermentation. The specific interactions between LAB, AAB, and yeast are poorly characterized, being a gap in the context of sourdough. As they have not been searched for systematically, it is unclear how widespread they are in sourdough. With the information available on these starters, further researches should be carried out to optimize the production process, determining the type of flour, fermentation, and cooking time depending on the starter used, aiming to improve breads. A better understanding of these parameters could shape the staggered production of sourdough bread. Therefore, the highlighted evidence indicates that sourdough fermentation will increasingly influence the bakery industry, whose microbiota will play a decisive role in its direction. It should also be noted that it is trivial to develop more *in vivo* studies to prove, in fact, the benefits of sourdough fermentation and thus be able to approve the health claims related to sourdough products, given that most of the experiments are carried out *in vitro*, but not confirmed *in vivo*.

FoodOmics, in the context of sourdough, is a new approach that is associated with numerous possibilities for discoveries and could be widely used, as though it is possible to correlate microbial metabolites with effects on product quality, such as texture characteristics and attributes enhanced sensory, extended shelf life, in addition to the effects related to diseases prevention, health modulation, and nutrition promotion. Thus, innovative studies of high-throughput omics-based approaches are the new trend for sourdough field.

## Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

## Data availability

No data was used for the research described in the article.

## Acknowledgment

The current study was partly funded by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) Finance Code 001.

## References

- Albagli, G., Finotelli, P. V., Ferreira, T. F., & Amaral, P. F. F. (2023). Toward Sourdough Microbiome Data: A Review of Science and Patents. *Foods*, 12(2), 420. <https://doi.org/10.3390/foods12020420>
- Albagli, G., Schwartz, I. M., Amaral, P. F. F., Ferreira, T. F., & Finotelli, P. V. (2021). How dried sourdough starter can enable and spread the use of sourdough bread. *LWT - Food Science and Technology*, 149, 111888. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111888>
- Alfonzo, A., Ventimiglia, G., Corona, O., Di Gerlando, R., Gaglio, R., Francesca, N., Moschetti, G., & Settanni, L. (2013). Diversity and technological potential of lactic acid bacteria of wheat flours. *Food Microbiology*, 36(2), 343–354. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.07.003>
- Almeida, E. B. (2015). Efeito da sova nas características e aceitabilidade do pão de forma. Dissertation, Federal University of Ceara, Fortaleza, Brazil.
- Amann, L. S., Frank, O., Dawid, C., & Hofmann, T. F. (2022). The sensory-directed elucidation of the key tastants and odorants in sourdough bread crumb. *Foods*, 11(15), 2325. <https://doi.org/10.3390/foods11152325>
- Aponte, M., Boscaino, F., Sorrentino, A., Coppola, R., Masi, P., & Romano, A. (2013). Volatile compounds and bacterial community dynamics of chestnut-flour-based sourdoughs. *Food Chemistry*, 141(3), 2394–2404. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.052>
- Arici, M., Ozulku, G., Yildirim, R. M., Sagdic, O., & Durak, M. Z. (2018). Biodiversity and technological properties of yeasts from Turkish sourdough. *Food Science and Biotechnology*, 27(2), 499–508. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0282-0>

- Arora, K., Ameer, H., Polo, A., Di Cagno, R., Rizzello, C. G., & Gobbetti, M. (2021). Thirty years of knowledge on sourdough fermentation: A systematic review. *Trends in Food Science & Technology*, 108, 71–83. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.12.008>
- Aryashad, M., Sadeghi, A., Nouri, M., Ebrahimi, M., Kashaninejad, M., & Aalami, M. (2022). Use of fermented sprouted mung bean (*Vigna radiata*) containing protective starter culture LAB to produce clean-label fortified wheat bread. *International Journal of Food Science + Technology*. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16236>
- Aslam, H., Green, J., Jacka, F. N., Collier, F., Berk, M., Pasco, J., & Dawson, S. L. (2020). Fermented foods, the gut and mental health: a mechanistic overview with implications for depression and anxiety. *Nutritional Neuroscience*, 23(9), 659-671. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2018.1544332>
- Aslankoohi, E., Herrera-Malaver, B., Rezaei, M. N., Steensels, J., Courtin, C. M., & Verstrepen, K. J. (2016). Non-conventional yeast strains increase the aroma complexity of bread. *PLoS ONE*, 11, e0165126. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165126>
- Axel, C., Brosnan, B., Zannini, E., Peyer, L. C., Furey, A., Coffey, A., & Arendt, E. K. (2015). Antifungal activities of three different *Lactobacillus* species and their production of antifungal carboxylic acids in wheat sourdough. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(4), <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7051-x>
- Axel, C., Zannini, E., & Arendt, E. K. (2017). Mold spoilage of bread and its biopreservation: A review of current strategies for bread shelf life extension. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(16), 3528–42. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1147417>
- Baev, V., Apostolova, E., Gotcheva, V., Koprinarova, M., Papageorgiou, M., Rocha, J. M., Yahubyan, G., & Angelov, A. (2023). 16S-rRNA-Based metagenomic profiling of the bacterial communities in traditional bulgarian sourdoughs. *Microorganisms*, 11(3), 803. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030803>
- Bartkiene, E., Lele, V., Ruzauskas, M., Domig, K. J., Starkute, V., Zavistanaviciute, P., Bartevis, V., Pugajeva, I., Klupsaite, D., Juodeikiene, G., Mickiene, R., & Rocha, J. M. (2020). Lactic acid bacteria isolation from spontaneous sourdough and their characterization, including antimicrobial and antifungal properties evaluation. *Microorganisms*, 8(1), 64. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010064>
- Bartkiene, E., Ozogul, Fatih., & Rocha, J. M. (2022). Bread sourdough lactic acid bacteria — technological, antimicrobial, toxin-degrading, immune system-, and faecal microbiota-modelling biological agents for the preparation of food, nutraceuticals and feed. *Foods*, 11(3), 452. <https://doi.org/10.3390/foods11030452>
- Bartkiene, E., Zokaityte, E., Starkute, V., Zokaityte, G., Kaminskaite, A., Mockus, E., Klupsaite, D., Cernauskas, D., Rocha, J. M., Özogul, F., & Guiné, R. P. F. (2023). Crickets (*Acheta domesticus*) as wheat bread ingredient: Influence on bread quality and safety characteristics. *Foods*, 12(2), 325; <https://doi.org/10.3390/foods12020325>
- Bazalová, O., Cihlář, J. Z., Dlouhá, Z., Bár, L., Dráb, V., & Kavková, M. (2022). Rapid sourdough yeast identification using panfungal PCR combined with high resolution melting analysis. *Journal of Microbiology Methods*, 199, 106522. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2022.106522>

- Bessmeltseva, M., Viiard, E., Simm, J., Paalme, T., & Sarand, I. (2014). Evolution of bacterial consortia in spontaneously started rye sourdoughs during two months of daily propagation. *PLoS One*, 9, 10–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095449>
- Bockwoldt, J. A., Fellermeier, J., Steffens, E., Vogel, R. F., & Ehrmann, M. A. (2021).  $\beta$ -Glucan production by *Levilactobacillus brevis* and *Pediococcus claussenii* for in situ enriched rye and wheat sourdough breads. *Foods*, 10(3), 547. <https://doi.org/10.3390/foods10030547>
- Boreczek, J., Litwinek, D., Żylińska-Urban, J., Izak, D., Buksa, K., Gawor, J., Gromadka, R., Bardowski, J. K., & Kowalczyk, M. (2020). Bacterial community dynamics in spontaneous sourdoughs made from wheat, spelt, and rye wholemeal flour. *Microbiology Open*, 9, e1009. <https://doi.org/10.1002/mbo3.1009>
- Brandt, M. J. (2019). Industrial production of sourdoughs for the baking branch – An overview. *International Journal of Food Microbiology*, 302, 3–7. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.09.008>
- Brandt, M., Loponen, L., & Capelle, S. (2023). Technology of sourdough fermentation and sourdough application In: M Gänzle and M Gobbetti, editors. Handbook of sourdough biotechnology. 2nd ed. Heidelberg: Springer International Publishing.
- Brown, A. (2020). Lockdown's unexpected stars: the bread influencers. 2020. Available in: <<https://www.forbes.com/sites/abrambrown/2020/04/19/lockdowns-unexpected-stars-the-bread-influencers/>>. Accessed: 29 Jun. 2023.
- Calabrese, F. M., Ameer, H., Nikoloudaki, O., Celano, G., Vacca, M., Lemos Junior, W. J. F., Manzari, C., Vertè, F., Di Cagno, R., Pesole, G., De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2022). Metabolic framework of spontaneous and synthetic sourdough metacommunities to reveal microbial players responsible for resilience and performance. *Microbiome*, 10(1), 148. <https://doi.org/10.1186/s40168-022-01301-3>
- Calasso, M., Marzano, M., Caponio, G. R., Celano, G., Fosso, B., Calabrese, F. M., de Palma, D., Vacca, M., Notario, E., Pesole, G., De Angelis, M., & De Leo, F. (2023). Shelf-life extension of leavened bakery products by using bio-protective cultures and type-III sourdough. *LWT - Food Science and Technology*, 177, 114587. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114587>
- Callejo, M. J., Vargas-Kostiuk, M.-E., & Rodríguez-Quijano, M. (2015). Selection, training and validation process of a sensory panel for bread analysis: Influence of cultivar on the quality of breads made from common wheat and spelt wheat. *Journal of Cereal Science*, 61, 55-62. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2014.09.008>
- Calvert, M. D., Madden, A. A., Nichols, L. M., Haddad, N. M., Lahne, J., Dunn, R. R., & McKenney, E. A. (2021). A review of sourdough starters: ecology, practices, and sensory quality with applications for baking and recommendations for future research. *PeerJ*, 9, e11389. <https://doi.org/10.7717/peerj.11389>
- Canesin, M. R., & Cazarin, C. B. B. (2021). Nutritional quality and nutrient bioaccessibility in sourdough bread. *Current Opinion in Food Science*, 40, 81–86. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.02.007>
- Caponio, G. R., Difonzo, G., Gennaro, G., Calasso, M., De Angelis, M., & Pasqualone, A. (2022). Nutritional improvement of gluten-free breadsticks by olive cake addition and sourdough fermentation: how texture, sensory, and aromatic profile were affected? *Frontiers in Nutrition*, 9, 830932. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.830932>

- Capozzi, V., Menga, V., Digesu, A. M., De Vita, P., Sinderen, D. V., Cattivelli, L., Fares, C., & Spano, G. (2011). Biotechnological production of vitamin B2-enriched bread and pasta. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(14), 8013-8020. <https://doi.org/10.1021/jf201519h>
- Cappelle, S., Guylaine, L., Gänzle, M., & Gobbetti, M. (2012). History and Social Aspects of Sourdough. In M. Gobbetti & M. Gänzle (Eds). *Handbook on Sourdough Biotechnology*, pp. 1–10. US, EUA: Springer. [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5425-0\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5425-0_1)
- Chen, N., Yang, Q., Zhang, C.-C., & Chen, H.-Q. (2023). Impact of basil seed gum on the textural, rheological properties, water state, gluten depolymerization and microstructure of frozen dough. *Journal of Cereal Science*, 112, 103728. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2023.103728>
- Chiva, R., Celador-Lera, L., Uña, J. A., Jiménez-López, A., Espinosa-Alcantud, M., Mateos-Horganero, E., Vega, S., Santos, M. A., Velázquez, E., & Tamame, M. (2021). Yeast biodiversity in fermented doughs and raw cereal matrices and the study of technological traits of selected strains isolated in Spain. *Microorganisms*, 9(1), 47. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010047>
- Coda, R., Kianjam, M., Pontonio, E., Verni, M., Di Cagno, R., Katina, K., Rizzello, C. G., & Gobbetti, M. (2017a). Sourdough-type propagation of faba bean flour: Dynamics of microbial consortia and biochemical implications. *International Journal of Food Microbiology*, 248, 10–21. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.02.009>
- Coda, R., Verni, M., Rizzello, C. G., & Katina, K. (2017b). Improvement of the protein quality of wheat bread through faba bean sourdough addition. *LWT - Food Science and Technology*, 82, 296-302. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.04.062>
- Colosimo, R., Gabriele, M., Cifelli, M., Longo, V., Domenici, V., & Pucci, L. (2020). The effect of sourdough fermentation on *Triticum dicoccum* from Garfagnana: <sup>1</sup>H NMR characterization and analysis of the antioxidant activity. *Food Chemistry*, 305, 125510. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125510>
- Comasio, A., Verce, M., Van Kerrebroeck, S., & De Vuyst, L. (2020). Diverse microbial composition of sourdoughs from different origins. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01212>
- Comasio, A., Van Kerrebroeck, S., & De Vuyst, L. (2021) Lemon juice and apple juice used as source of citrate and malate, respectively, enhance the formation of buttery aroma compounds and/or organic acids during Type 2 and Type 3 sourdough productions performed with *Companilactobacillus crustorum* LMG 23699. *International Journal of Food Microbiology*, 339, 109020. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.109020>
- Corsetti, A., & Settanni, L. (2007). Lactobacilli in sourdough fermentation. *Food Research International*, 40(5), 539–558. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.11.001>
- Costa, L. F. V., Kothe, C. I., Grassotti, T. T., Garske, R. R., Sandoval, B. N., Varela, A. P. M., Prichula, J., Frazzon, J., Mann, M. B., Thys, R. C. S., & Frazzon, A. P. G. (2021). Effect of leavening time in sourdough microbiota: An approach using organic and 2 conventional whole wheat flours. *SSRN Electronic Journal*. <https://doi.org/10.2139/ssrn.3911918>
- Costa, L. F. X., Kothe, C. I., Grassotti, T. T., Garske, R. P., Sandoval, B. N, Varela, A. P. M., Prichula, J., Frazzon, J., Mann, M. B., Thys, R. C. S., & Frazzon, A. P. G. (2022). Evolution of the spontaneous *sourdoughs* microbiota prepared with organic or conventional whole wheat flours from South Brazil. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, 94(4), 1-14. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202220220091>

- Dal Bello, F., Clarke, C. I., Ryan, L. A. M., Ulmer, H., Schober, T., Ström, K., Sjögren, J., Sinderen, D. V., Schnürer, J., & Arendt, E. K. (2007). Improvement of the quality and shelf life of wheat bread by fermentation with the antifungal strain *Lactobacillus plantarum* FST 1.7. *Journal of Cereal Science*, 45(3), 309-318. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2006.09.004>
- Das, S., Pegu, K., & Arya, S. S. (2021). Functional sourdough millet bread rich in dietary fibre -an optimization study using fuzzy logic analysis. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 26, 100279. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2021.100279>
- D'Amico, V., Gänzle, M., Call, L., Zwirzitz, B., Grausgruber, H., D'Amico, S., & Brouns, F. (2023). Does sourdough bread provide clinically relevant health benefits? *Frontiers in Nutrition*, 10. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1230043>
- De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2004). Environmental stress responses in *Lactobacillus*: A review. *Proteomics*, 4(1), 106–122. <https://doi.org/10.1002/pmic.200300497>
- Demirkesen-Bicak, H., Arici, M., Yaman, M., Karasu, S., & Sagdic, O. (2021). Effect of different fermentation condition on estimated glycemic index, in vitro starch digestibility, and textural and sensory properties of sourdough bread. *Foods*, 10(3), 514. <https://doi.org/10.3390/foods10030514>
- De Vero, L., Iosca, G., Gullo, M., & Pulvirenti, A. (2021). Functional and healthy features of conventional and non-conventional sourdoughs. *Applied Sciences*, 11(8), 3694. <https://doi.org/10.3390/app11083694>
- De Vuyst, L., & Neysens, P. (2005). The sourdough microflora: Biodiversity and metabolic interactions. *Trends in Food Science & Technology*, 16, 43–56. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.02.012>
- De Vuyst, L., Van Kerrebroeck, S., & Leroy, F. (2017). Microbial Ecology and Process Technology of Sourdough Fermentation. *Advances in Applied Microbiology*, 100, 49–160. <https://doi.org/10.1016/bs.aams.2017.02.003>
- De Vuyst, L., Van Kerrebroeck, S., Harth, H., Huys, G., Daniel, H. M. & Weckx, S. (2014). Microbial ecology of sourdough fermentations: Diverse or uniform? *Food Microbiology*, 37, 11–29. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.06.002>
- Decock, P., & Cappelle, S. (2005). Bread technology and sourdough technology. *Trends in Food Science & Technology*, 16, 113–120. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.04.012>
- Dertli, E., Mercan, E., Arici, M., Yilmaz, M. T., & Sağdıç, O. (2016). Characterisation of lactic acid bacteria from Turkish sourdough and determination of their exopolysaccharide (EPS) production characteristics. *LWT - Food Science and Technology*, 71, 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.03.030>
- Di Cagno, R., Pontonio, E., Buchin, S., De Angelis, M., Lattanzi, A., Valerio, F., Gobbetti, M., & Calasso, M. (2014). Diversity of the lactic acid bacterium and yeast microbiota in the switch from firm- to liquid-sourdough fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(10), 3161–3172. <https://doi.org/10.1128/AEM.00309-14>
- Dimidi, E., Cox, S. R., Rossi, M., & Whelan, K. (2019). Fermented foods: Definitions and characteristics, impact on the gut microbiota and effects on gastrointestinal health and disease. *Nutrients*, 11(8), 1806. <https://doi.org/10.3390/nu11081806>
- Drakula, S., Novotni, D., Mustač, N. C., Voučko, B., Krpan, M., Hruškar, M., & Čurić, D. (2021). Alteration of phenolics and antioxidant capacity of gluten-free bread by yellow pea flour addition

- and sourdough fermentation. *Food Bioscience*, 44, 101424. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101424>
- Eraslan, H., Wehbeh, J., & Ermis, E. (2023). Effect of sourdough prepared with the combination of chickpea and carob on bread properties. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 32, 100753. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2023.100753>
- Ercolini, D., Pontonio, E., De Filippis, F., Minervini, F., Storia, A. L., Gobbetti, M., & Di Cagno, R. (2013). Microbial ecology dynamics during rye and wheat sourdough preparation. *Applied and Environmental Microbiology*, 79, 7827–7836. <https://doi.org/10.1128/AEM.02955-13>
- Fang, L., Wang, W., Dou, Z., Chen, J., Meng, Y., Cai, L., & Li, Y. (2023). Effects of mixed fermentation of different lactic acid bacteria and yeast on phytic acid degradation and flavor compounds in sourdough. *LWT - Food Science and Technology*, 174, 114438. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114438>
- Fedima (Federation of European Manufacturers and Suppliers of Ingredients to the Bakery, Confectionery and Patisserie Industries). (2019). How bread consumers perceive sourdough in Europe. Available at: <[https://www.fedima.org/images/Fedima\\_Infographic\\_How\\_bread\\_consumers\\_perceive\\_sourdough.pdf](https://www.fedima.org/images/Fedima_Infographic_How_bread_consumers_perceive_sourdough.pdf)>. Accessed: 8 April 2020.
- Fekri, A., Torbati, M., Khosrowshahi, A. Y., Shamloo, H. B., & Azadmard-Damirchi, S. (2020). Functional effects of phytate-degrading, probiotic lactic acid bacteria and yeast strains isolated from Iranian traditional sourdough on the technological and nutritional properties of whole wheat bread. *Food Chemistry*, 306, 125620. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125620>
- Ferrara, M., Sisto, A., Mulè, G., Lavermicocca, P., & De Bellis, P. (2021). Metagenetic analysis for microbial characterization of focaccia doughs obtained by using two different starters: traditional baker's yeast and a selected *Leuconostoc citreum* strain. *Foods*, 10(6), 1189. <https://doi.org/10.3390/foods10061189>
- Fernández-Peláez, J., Paesani, C., & Gómez, M. (2020). Sourdough technology as a tool for the development of healthier grain-based products: An update. *Agronomy*, 10(12), 1962. <https://doi.org/10.3390/agronomy10121962>
- FMI (Future market insights). (2022). Sourdough market. Available at: <<https://www.futuremarketinsights.com/reports/sourdough-market>>. Accessed: 29 Jun. 2023.
- Fraberger, V., Ammer, C., & Domig, K. J. (2020a). Functional properties and sustainability improvement of sourdough bread by lactic acid bacteria. *Microorganisms*, 8(12), 1985. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8121895>
- Fraberger, V., Unger, C., Kummer, C., & Domig, K. J. (2020b). Insights into microbial diversity of traditional Austrian sourdough. *LWT - Food Science and Technology*, 127, 109358. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109358>
- Franco, W., Pérez-Díaz, I. M., Connelly, L., & Diaz, J. T. (2020). Isolation of exopolysaccharide-producing yeast and lactic acid bacteria from quinoa (*Chenopodium quinoa*) sourdough fermentation. *Foods*, 9(3), 337. <https://doi.org/10.3390/foods9030337>
- Fu, W., Rao, H., Tian, Y., & Xue, W. (2020). Bacterial composition in sourdoughs from different regions in China and the microbial potential to reduce wheat allergens. *LWT - Food Science and Technology*, 117, 108669. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108669>

- Fu, L., Nowak, A., Zhao, H., & Zhang, B. (2022). Relationship between microbial composition of sourdough and texture, volatile compounds of chinese steamed bread. *Foods*, 11(13), 1908. <https://doi.org/10.3390/foods11131908>
- Fujimoto, A., Ito, K., Narushima, N., & Miyamoto, T. (2018). Identification of lactic acid bacteria and yeasts, and characterization of food components of sourdoughs used in Japanese bakeries. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 127(5), 575–581. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2018.10.014>
- Gaglio, R., Cirlincione, F., Di Miceli, G., Franciosi, E., Di Gerlando, R., Francesca, N., Settanni, L., & Moschetti, G. (2020). Microbial dynamics in durum wheat kernels during aging. *International Journal of Food Microbiology*, 324, 108631. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108631>
- Gaglio, R., Barbera, M., Tesoriere, L., Osimani, A., Busetta, G., Matraxia, M., Attanzio, A., Restivo, I., Aquilanti, L., & Settanni, L. (2021). Sourdough “ciabatta” bread enriched with powdered insects: Physicochemical, microbiological, and simulated intestinal digesta functional properties. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 72, 102755. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102755>
- Galgano, F., Mele, M. C., Tolve, R., Condelli, N., Cairano, M. D., Ianiro, G., D’Antuono, I., & Favati, I. (2023). Strategies for producing low FODMAPs foodstuffs: Challenges and perspectives. *Foods*, 12(4), 856. <https://doi.org/10.3390/foods12040856>
- Gänzle, M. G., & Zheng, J. (2019). Lifestyles of lactobacilli - Do they matter for microbial ecology and bread quality? *International Journal of Food Microbiology*, 302, 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.08.019>
- García-Gómez, B., Fernández-Canto, N., Vázquez-Odériz, M. L., Quiroga-García, M., Muñoz-Ferreiro, N., & Romero-Rodríguez, M. A. (2022). Sensory descriptive analysis and hedonic consumer test for Galician type breads. *Food Control*, 134, 108765. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108765>
- Gastrow, L.V., Amelot, R., Segond, D., Guézennec, S., Valence, F., & Sicard, D. (2021). Microbial community dispersal in sourdough. *bioRxiv preprint*. <https://doi.org/10.1101/2021.10.18.464797>
- Gharekhani, M., Nami, Y., Aalami, M., & Hejazi, M. A. (2021). Sourdoughs fermented by autochthonous *Lactobacillus* strains improve the quality of gluten-free bread. *Food Science Nutrition*, 27, 9(11), 6372-6381. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2609>
- Gobbetti, M., Corsetti, A., Rossi, J., Rosa, F. L., & De Vincenzi, S. (1994). Identification and clustering of lactic acid bacteria and yeasts from wheat sourdoughs of central Italy. *Italian Journal of Food Science*, 1, 85–94.
- Gobbetti, M., Minervini, F., Pontonio, E., Di Cagno, R., & De Angelis, M., (2016). Drivers for the establishment and composition of the sourdough lactic acid bacteria biota. *International Journal of Food Microbiology*, 239, 3–18. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.05.022>
- Gobbetti, M., Cagno, R. Di, Calasso, M., Neviani, E., Fox, P. F., & De Angelis, M. (2018). Drivers that establish and assembly the lactic acid bacteria biota in cheeses. *Trends in Food Science and Technology*, 78, 244-254. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.06.010>
- Gobbetti, M., De Angelis, M., Di Cagno, R., Polo, A., & Rizzello, C. G. (2019). The sourdough fermentation is the powerful process to exploit the potential of legumes, pseudo-cereals and milling by-products in baking industry. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(13), 1–16. [10.1080/10408398.2019.1631753](https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1631753)

- Gordún, E., Del Valle, L. J., Ginovart, M., & Carbó, R. (2014). Comparison of the microbial dynamics and biochemistry of laboratory sourdoughs prepared with grape, apple and yogurt. *Food Science and Technology International*, 21(6), 428–439. <https://doi.org/10.1177/1082013214543033>
- Gordún, E., Puig, A., Piñol, L., & Carbó, R. (2018). Identification of yeast isolated from laboratory sourdoughs prepared with grape, apple, and yogurt. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 7(4), 399–403. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2018.7.4.399-403>
- Graça, C., Edelmann, M., Raymundo, A., Sousa, I., Coda, R., Sontag-Strohm, T., & Huang, X. (2022). Yoghurt as a starter in sourdough fermentation to improve the technological and functional properties of sourdough-wheat bread. *Journal of Functional Foods*, 88, 104877. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104877>
- Gu, Y., Luo, X., Qian, H., Li, Y., Fan, M., & Wang, L. (2023). Effects of freeze-dried pure strains to replace type II sourdough in bread production. *Food Bioscience*, 53, 102752. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102752>
- Gül, L. B., Gül, O. & Çon, A. H. (2022). Potential of three different lactic acid bacteria to use as starter culture for production of type II sourdough breadmaking. *Food Measure*, 16, 3998–4008. <https://doi.org/10.1007/s11694-022-01493-0>
- Gunduz, C. P. B., Gaglio, R., Franciosi, E., Settanni, L., & Erten, H. (2020). Molecular analysis of the dominant lactic acid bacteria of chickpea liquid starters and doughs and propagation of chickpea sourdoughs with selected *Weissella confusa*. *Food Microbiology*, 91, 103490. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103490>
- Gunduz, C. P. B., Agirman, B., Gaglio, R., Franciosi, E., Francesca, N., Settanni, L., & Erten, H. (2022). Evaluation of the variations in chemical and microbiological properties of the sourdoughs produced with selected lactic acid bacteria strains during fermentation. *Food Chemistry*, 14, 100357. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100357>
- Harth, H., Van Kerrebroeck, S., & De Vuyst, L. (2016). Community dynamics and metabolite target analysis of spontaneous, backslopped barley sourdough fermentations under laboratory and bakery conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 228, 22–32. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.04.011>
- Hernández-Parada, N., González-Ríos, O., Suárez-Quiroz, M. L., Hernández-Estrada, Z. J., Figueroa-Hernández, C. Y., Figueroa-Cárdenas, J. D., Rayas-Duarte, P., & Figueroa-Espinoza, M. C. (2023). Exploiting the native microorganisms from different food matrices to formulate starter cultures for sourdough bread production. *Microorganisms*, 11(1), 109. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010109>
- Houssni, I. E. L., Khedid, K., Zahidi, A., & Hassikou, R. (2023). The inhibitory effects of lactic acid bacteria isolated from sourdough on the mycotoxigenic fungi growth and mycotoxins from wheat bread. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 50, 102702. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102702>
- Huang, X., Schuppan, D., Tovar, L. E. R., Zevallos, V. F., Loponen, J., & Gänzle, M. (2020). Sourdough fermentation degrades wheat Alpha-Amylase/Trypsin Inhibitor (ATI) and reduces pro-inflammatory activity. *Foods*, 9(7), 943. <https://doi.org/10.3390/foods9070943>

- Iosca, G., Vero, L. De, Gullo, M., Licciardello, F., Quartieri, A., & Pulvirenti, A. (2020). Exploring the microbial community of traditional sourdoughs to select yeasts and lactic acid bacteria. *MDPI*, 66(1), 3. <https://doi.org/10.3390/proceedings2020066003>
- Irakli, M., Mygdalia, A., Chatzopoulou, P., & Katsantonis, D. (2019). Impact of the combination of sourdough fermentation and hop extract addition on baking properties, antioxidant capacity and phenolics bioaccessibility of rice bran-enhanced bread. *Food Chemistry*, 258, 231-239. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.145>
- Ispirli, H., Demirbaş, F., Yüzer, M. O., & Dertli, E. (2018). Identification of lactic acid bacteria from spontaneous rye sourdough and determination of their functional characteristics. *Food Biotechnology*, 32(3), 222–235. <https://doi.org/10.1080/08905436.2018.1507913>
- Jagelaviciute, J., & Cizeikiene, D. (2021). The influence of non-traditional sourdough made with quinoa, hemp and chia flour on the characteristics of gluten-free maize/rice bread. *LWT - Food Science and Technology*, 137, 110457. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110457>
- Jonkuvienė, D., Vaičiulytė-Funk, L., Šalomskienė, J., Alenčikienė, G., & Mieželienė, A. (2016). Potential of *Lactobacillus reuteri* from spontaneous sourdough as a starter additive for improving quality parameters of bread. *Food Technology & Biotechnology*, 54(3), 342-350. <https://doi.org/10.17113/ftb.54.03.16.4143>
- Kariluoto, S., Edelmann, M., Nyström, L., Sontag-Strohm, T., Salovaara, H., Kivelä, R., Herranen, M., Korhola, M., & Piironen, V. (2014). In situ enrichment of folate by microorganisms in beta-glucan rich oat and barley matrices. *International Journal of Food Microbiology*, 176, 38–48. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.01.018>
- Katsi, P., Kosma, I. S., Michailidou, S., Argiriou, A., Badeka, A. V., & Kontominas, M. G. (2021). Characterization of artisanal spontaneous sourdough wheat bread from central greece: evaluation of physico-chemical, microbiological, and sensory properties in relation to conventional yeast leavened wheat bread. *Foods*, 10(3), 635. <https://doi.org/10.3390/foods10030635>
- Kazakos, S., Mantzourani, I., & Plessas, S. (2022). Quality characteristics of novel sourdough breads made with functional *Lactocaseibacillus paracasei* SP5 and prebiotic food matrices. *Foods*, 11(20), 3226. <https://doi.org/10.3390/foods11203226>
- Kezer, G. (2022). Functional Perspective on Sourdough Bread. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 10(8), 1410–1414. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v10i8.1410-1414.4860>
- Khlestkin, V. K., Lockachuk, M. N., Savkina, O. A., Kuznetsova, L. I., Pavlovskaya, E. N., & Parakhina, O. I. (2022). Taxonomic structure of bacterial communities in sourdoughs of spontaneous fermentation. *Vavilovskii Zhurnal Genet Seleksii*, 26(4), 385-393. <https://doi.org/10.18699/VJGB-22-47>
- Korcari, D., Ricci, G., Quattrini, M., & Fortina, M. G. (2020). Microbial consortia involved in fermented spelt sourdoughs: dynamics and characterization of yeasts and lactic acid bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 70(1), 48–54. <https://doi.org/10.1111/lam.13241>
- Korcari, D., Secchiero, R., Laureati, M., Marti, A., Cardone, G., Rabitti, N. S., Ricci, G., & Fortina, M. G. (2021). Technological properties, shelf life and consumer preference of spelt-based sourdough bread using novel, selected starter cultures. *LWT - Food Science and Technology*, 151, 112097. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112097>

- Kulatunga, J., Whitney, Kristin., & Simsek, S. (2023). Impact of starter culture on biochemical properties of sourdough bread related to composition and macronutrient digestibility. *Food Bioscience*, 53, 102640. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102640>
- Laatikainen, R., Koskenpato, J., Hongisto, S.-M., Loponen, J., Poussa, T., Huang, X., Sontag-Strohm, T., Salmenkari, H., & Korpela, R. (2017). Pilot Study: Comparison of sourdough wheat bread and yeast-fermented wheat bread in individuals with wheat sensitivity and irritable bowel syndrome. *Nutrients*, 9(11), 1215. <https://doi.org/10.3390/nu9111215>
- Lancetti, R., Salvucci, E., Moiraghi, M., Pérez, G. T., & Sciarini, L. S. (2022). Gluten-free flour fermented with autochthonous starters for sourdough production: Effect of the fermentation process. *Food Bioscience*, 47, 101723. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101723>
- Landis, E. A., Oliverio, A. M., McKenney, E. A., Nichols, L. M., Kfoury, N., Biango-Daniels, M., Shell, L. K., Madden, A. A., Shapiro, L., Sakunala, S., Drake, K., Robbat, A., Booker, M., Dunn, R. R., Fierer, N., & Wolfe, B. E. (2021). The diversity and function of sourdough starter microbiomes. *eLife*, 10, 1–24. <https://doi.org/10.7554/eLife.61644>
- Lattanzi, A., Minervini, F., Di Cagno, R., Diviccaro, A., Antonielli, L., Cardinali, G., Cappelle, S., De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2013). The lactic acid bacteria and yeast microbiota of eighteen sourdoughs used for the manufacture of traditional Italian sweet leavened baked goods. *International Journal of Food Microbiology*, 163(2-3), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.02.010>
- Lau, S. W., Chong, A. Q., Chin, N. L., Talib, R. A., & Basha, R. K. (2021). Sourdough Microbiome Comparison and Benefits. *Microorganisms*, 9(7), 1355. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071355>
- Lazo-Vélez, M. A., Garzon, R., Guardado-Félix, D., Serna-Saldivar, S. O., & Rosell, C. M. (2021a). Selenized chickpea sourdoughs for the enrichment of breads. *LWT - Food Science and Technology*, 150, 112082. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112082>
- Lazo-Vélez, M. A., Caroca-Cáceres, R., Suárez-Estrella, D., & Saldivar, S. O. S. (2021b). Chapter 3 - Organic farming of wheat and sourdough quality. In: Galanakis, C. M. *Trends in Wheat and Bread Making*. Academic Press, p. 67-94. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821048-2.00003-9>
- Lesaffre. (2022). Opportunity in Asia-Pacific baking: The rise of sourdough. Available at: <<https://lesaffre.com.sg/insights/the-rise-of-sourdough>>. Accessed 29 Jun. 2023.
- Lhomme, E., Orain, S., Courcoux, P., Onno, B., & Dousset, X. (2015). The predominance of *Lactobacillus sanfranciscensis* in French organic sourdoughs and its impact on related bread characteristics. *International Journal of Food Microbiology*, 213, 40–48. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.05.010>
- Lhomme, E., Urien, C., Legrand, J., Dousset, X., Onno, B., & Sicard, D. (2016). Sourdough microbial community dynamics: An analysis during French organic bread-making processes. *Food Microbiology*, 53, 41–50. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.11.014>
- Li, H., Hu, S., & Fu, J. (2022). Effects of acetic acid bacteria in starter culture on the properties of sourdough and steamed bread. *Grain & Oil Science and Technology*, 5(1), 13-21. <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2021.11.003>
- Li, Z., Li, H., & Bian, K. (2016). Microbiological characterization of traditional dough fermentation starter (Jiaozi) for steamed bread making by culture-dependent and culture-independent methods.

*International Journal of Food Microbiology*, 234, 9–14.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.06.024>

Lin, W., Zhang, D., Huang, J., Lei, Y., Su, X., Huang, W., & Wu, M. (2023). Expression and characterization of a maltogenic amylase from *Lactobacillus plantarum* in *Escherichia coli* and its application in extending bread shelf life. *Systems Microbiology and Biomanufacturing*. <https://doi.org/10.1007/s43393-022-00155-y>

Liu, T., Li, Y., Chen, J., Sadiq, F. A., Zhang, G., Li, Y., & He, G. (2016). Prevalence and diversity of lactic acid bacteria in Chinese traditional sourdough revealed by culture dependent and pyrosequencing approaches. *LWT - Food Science and Technology*, 68, 91–97. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.12.025>

Liu, T., Li, Y., Yang, Y., Yi, H., Zhang, L., & He, G. (2020). The influence of different lactic acid bacteria on sourdough flavor and a deep insight into sourdough fermentation through RNA sequencing. *Food Chemistry*, 307, 125529. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125529>

Lou, X., Yue, C., Luo, D., Li, P., Zhao, Y., Xu, Y., Wang, L., & Bai, Z. (2023). Effects of natural inulin on the rheological, physicochemical and structural properties of frozen dough during frozen storage and its mechanism. *LWT - Food Science and Technology*, 184, 114973. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114973>

Lu, L., Xing, J.-J., Guo, X.-N., Sun, X.-H., & Zu, K.-X. (2020). Enhancing the freezing–thawing tolerance of frozen dough using  $\epsilon$ -poly-L-lysine treated yeast. *Food Bioscience*, 37, 100699. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100699>

Luti, S., Galli, V., Venturi, M., Granchi, L., Paoli, P., & Pazzagli, L. (2021). Bioactive properties of breads made with sourdough of hull-less barley or conventional and pigmented wheat flours. *Applied Sciences (Switzerland)*, 11(7). <https://doi.org/10.3390/app11073291>

Maidana, S. D., Ficoseco, C. A., Bassi, D., Cocconcelli, P. S., Puglisi, E., Savoy, G., Vignolo, G., & Fontana, C. (2019). Biodiversity and technological-functional potential of lactic acid bacteria isolated from spontaneously fermented chia sourdough. *International Journal of Food Microbiology*, 316, 108425. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108425>

Maidana, S. D., Finch, S., Garro, M., Savoy, G., Gänzle, M., & Vignolo, G. (2020). Development of gluten-free breads started with chia and flaxseed sourdoughs fermented by selected lactic acid bacteria. *LWT - Food Science and Technology*, 125, 109189. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109189>

Mamhoud, A., Nionelli, L., Bouzaine, T., Hamdi, M., Gobbetti, M., & Rizzello, C. G. (2016). Selection of lactic acid bacteria isolated from Tunisian cereals and exploitation of the use as starters for sourdough fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 225, 9-19. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.03.004>

Manini, F., Brasca, M., Plumed-Ferrer, C., Morandi, S., Erba, D., & Casiraghi, M. C. (2014). Study of the chemical changes and evolution of microbiota during sourdoughlike fermentation of wheat bran. *Cereal Chemistry*, 91, 342–349. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-09-13-0190-CESI>

Mantzourania, I., Plessasa, S., Odatzidou, M., Alexopoulou, A., Galanisb, A., Bezirtzoglou, E., & Bekatorou, A. (2019). Effect of a novel *Lactobacillus paracasei* starter on sourdough bread quality. *Food Chemistry*, 271, 259-265. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.183>

Marco, E. de., Silva, C. M da., Moraes, J. de O., Menezes, L. A. A., Miotto, M., Laurindo, J. B., & De Dea Lindner, J. (2022). A systematic review of drying methods and their impact on

technological characteristics of sourdough type III. *Biotechnology Research and Innovation*, 6(1), e20222023. <http://dx.doi.org/10.4322/biori.202203>

Market Research Future. (2023). Sourdough market research report information by type (type I, type II, and type III), by ingredients (wheat, rye, oats, barley, and others), by application (bread & buns, pizza, cakes, and others), and by region (North America, Europe, Asia-Pacific, and rest of the world) – Market Forecast Till 2030. Available in: <<https://www.marketresearchfuture.com/reports/sourdough-market-1823>>. Accessed in: November 04<sup>th</sup>, 2022.

Martín-García, A., Riu-Aumatell, M., & López-Tamames, E. (2021). Influence of process parameters on sourdough microbiota, physical properties and sensory profile. *Food Reviews International*, 39(1), 1–15. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1906698>

Martorana, A., Giuffrè, A., Capocasale, M., Zappia, C., & Sidari, R. (2018). Sourdoughs as a source of lactic acid bacteria and yeasts with technological characteristics useful for improved bakery products. *European Food Research and Technology*, 244, 1873–1885. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3100-x>

Melini, F., Melini, V., Luziatelli, F., Ficca, A. G., & Ruzzi, M. (2019). Health-promoting components in fermented foods: An up-to-date systematic review. *Nutrients*, 11(5), 1189. <https://doi.org/10.3390/nu11051189>

Menezes, L. A. A., Molognoni, L., de Sá Ploêncio, L. A., Costa, F. B. M., Dagher, H., & De Dea Lindner, J. (2019a). Use of sourdough fermentation to reducing FODMAPs in breads. *European Food Research and Technology*, 245, 1183–1195. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03239-7>

Menezes, L. A. A. (2019b). Sourdough biotechnology for improving bread nutritional properties. Thesis, University Federal of Santa Catarina, Santa Catarina, Brazil.

Menezes, L. A. A., Sardaro, M. L. S., Duarte, R. T. D., Mazzon, R. R., Neviani, E., Gatti, M., & De Dea Lindner, J. (2020). Sourdough bacterial dynamics revealed by metagenomic analysis in Brazil. *Food Microbiology*, 85, 103302. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103302>

Menezes, L. A. A., De Marco, I., Santos, N. N. O., Nunes, C. C., Cartabiano, C. E. L., Molognoni, L., Pereira, G. V. M., Dagher, H., & De Dea Lindner, J. (2021). Reducing FODMAPs and improving bread quality using type II sourdough with selected starter cultures. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 72(7), 912–922. <https://doi.org/10.1080/09637486.2021.1892603>

Menezes, L. A. A., De Marco, I., Siepmann, F. B., Spier, M. R., & De Dea Lindner, J. (2022). Microbiologia e produção de pães de fermentação natural. In: Martin, J. G. P., Lindner, J. D. D., editors. *Microbiologia de Alimentos Fermentados*. São Paulo: Editora Blucher, p. 413–460.

Michel, E., Monfort, C., Deffrasnes, M., Guezenec, S., Lhomme, E., Barret, M., Sicard, D., Dousset, X., & Onno, B. (2016). Characterization of relative abundance of lactic acid bacteria *Especies* in French organic sourdough by cultural, qPCR and MiSeq high-throughput sequencing methods. *International Journal of Food Microbiology*, 239, 35–43. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.07.034>

Mietton, L., Samson, M.-F., Marlin, T., Godet, T., Nolleau, V., Guezenec, S., Segond, D., Nidelet, T., Desclaux, D., & Sicard, D. (2022). Impact of leavening agent and wheat variety on bread organoleptic and nutritional quality. *Microorganisms*, 10(7), 1416. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071416>

- Milanović, V., Osimani, A., Garofalo, C., Belleggia, L., Maoloni, A., Cardinali, F., Mozzon, M., Foligni, R., Aquilanti, L., & Clementi, F. (2020). Selection of cereal-sourced lactic acid bacteria as candidate starters for the baking industry. *PLoS ONE*, 15(7), e0236190. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236190>
- Minervini, F., Di Cagno, R., Lattanzi, A., De Angelis, M., Antonielli, L., Cardinali, G., Cappelle, S., & Gobbetti, M. (2011). Lactic acid bacterium and yeast microbiotas of 19 sourdoughs used for traditional/typical Italian breads: Interactions between ingredients and microbial species diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(4), 1251–1264. <https://doi.org/10.1128/AEM.07721-11>
- Minervini, F., De Angelis, M., Di Cagno, R., & Gobbetti, M. (2014). Ecological parameters influencing microbial diversity and stability of traditional sourdough. *International Journal of Food Microbiology*, 171, 136–146. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.11.021>
- Minervini, F., Celano, G., Lattanzi, A., Tedone, L., Mastro, G., Gobbetti, M., & De Angelis, M. (2015a). Lactic acid bacteria in durum wheat flour are endophytic components of the plant during its entire life cycle. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(19), 6736-6748. <https://doi.org/10.1128/AEM.01852-15>
- Minervini, F., Lattanzi, A., De Angelis, M., Celano, G., & Gobbetti, M. (2015b). House microbiotas as sources of lactic acid bacteria and yeasts in traditional Italian sourdoughs. *Food Microbiology*, 52, 66–76. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.06.009>
- Minervini, F., Celano, G., Lattanzi, A., De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2016). Added ingredients affect the microbiota and biochemical characteristics of durum wheat type-I sourdough. *Food Microbiology*, 60, 112–123. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.05.016>
- Minervini, F., Dinardo, F. R., Celano, G., De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2018). Lactic acid bacterium population dynamics in artisan sourdoughs over one year of daily propagations is mainly driven by flour microbiota and nutrients. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01984>
- Minervini, F., Dinardo, F. R., De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2019). Tap water is one of the drivers that establish and assembly the lactic acid bacterium biota during sourdough preparation. *Scientific reports*, 9, 570. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36786-2>
- Montemurro, M., Celano, G., De Angelis, M., Gobbetti, M., Rizzello, C. G., & Pontonio, E. (2020). Selection of non-*Lactobacillus* strains to be used as starters for sourdough fermentation. *Food Microbiology*, 90, 103491. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103491>
- Mordor Intelligence. (2021). Sourdough market - Growth, trends, Covid-19, impact & forecasts (2022-2027). Available in: <<https://www.mordorintelligence.com/pt/industry-reports/sourdough-market>>. Accessed in: November 04<sup>th</sup>, 2022.
- Moroni, A. V., Bello, F. D., & Arendt, E. K. (2009). Sourdough in gluten-free bread-making: An ancient technology to solve a novel issue? *Food Microbiology*, 26(7), 676-684. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.07.001>
- Mygdalia, A. S., Nouska, C., Hatzikamari, M., Biliaderis, C. G., & Lazaridou, A. (2022). A sourdough process based on fermented chickpea extract as leavening and anti-staling agent for improving the quality of gluten-free breads. *Food Research International*, 159, 111593. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111593>

- Nachi, I., Fhoula, I., Smida, I., Ouzari, H. I., & Hassouna, M. (2018). Microbiological analysis and assessment of biotechnological potential of lactic acid bacteria isolated from Tunisian flours. *Annals of Microbiology*, 69, 29–40. <https://doi.org/10.1007/s13213-018-1365-8>
- Nionelli, L., Curri, N., Curiel, J. A., Di Cagno, R., Pontonio, E., Cavoski, I., Gobbetti, M., & Rizzello, C. G. (2014). Exploitation of Albanian wheat cultivars: Characterization of the flours and lactic acid bacteria microbiota, and selection of starters for sourdough fermentation. *Food Microbiology*, 44, 96–107. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.05.011>
- Nissen, L., Samaei, S. P., Babini, E., & Gianotti, A. (2020). Gluten free sourdough bread enriched with cricket flour for protein fortification: Antioxidant improvement and Volatilome characterization. *Food Chemistry*, 333, 127410. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127410>
- Ogunsakin, A. O., Vanajakshi, V., Anu-Appaiah, K. A., Vijayendra, S. V. N., Walde, S. G., Banwo, K., Sanni, A. I., & Prabhasankar, P. (2017). Evaluation of functionally important lactic acid bacteria and yeasts from Nigerian sorghum as starter cultures for gluten-free sourdough preparation. *LWT - Food Science and Technology*, 82(4), 326–334. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.04.048>
- Oshiro, M., Momoda, R., Tanaka, M., Zendo, T., & Nakayama, J. (2019). Dense tracking of the dynamics of the microbial community and chemicals constituents in spontaneous wheat sourdough during two months of backslopping. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 128(2), 170-176. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2019.02.006>
- Oshiro, M., Tanaka, M., Zendo, T., & Nakayama, J. (2020). Impact of pH on succession of sourdough lactic acid bacteria communities and their fermentation properties. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, 39(3), 152–159. <https://doi.org/10.12938/bmfh.2019-038>
- Oshiro, M., Tanaka, M., Momoda, R., Zendo, T., & Nakayama, J. (2021). Mechanistic Insight into Yeast Bloom in a Lactic Acid Bacteria Relaying-Community in the Start of Sourdough Microbiota Evolution. *Microbiology Spectrum*, 9(2), e00662. <https://doi.org/10.1128/Spectrum.00662-21>
- Osimani, A., Milanović, V., Cardinali, F., Roncolini, A., Garofalo, C., Clementi, F., Pasquini, M., Mozzon, M., Foligni, R., Raffaelli, N., Zamporlini, F., & Aquilanti, L. (2018). Bread enriched with cricket powder (*Acheta domestica*): A technological, microbiological and nutritional evaluation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 48, 150-163. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.06.007>
- Păcularu-Burada, B., Georgescu, L. A., Vasile, M. A., Rocha, J. M., & Bahrim, G.-E. (2020). Selection of wild lactic acid bacteria strains as promoters of postbiotics in gluten-free sourdoughs. *Microorganisms*, 8(5), 643. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050643>
- Păcularu-Burada, B., Ceoromila (Cantaragiu), A.-M., Vasile, M. A., & Bahrim, G.-E. (2022). Novel insights into different kefir grains usefulness as valuable multiple starter cultures to achieve bioactive gluten-free sourdoughs. *LWT - Food Science and Technology*, 165, 113670. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113670>
- Pagliai, G., Venturi, M., Dinu, M., Galli, V., Colombini, B., Giangrandi, I., Maggini, N., Sofi, F., & Granchi, L. (2020). Effect of consumption of ancient grain bread leavened with sourdough or with baker's yeast on cardio-metabolic risk parameters: a dietary intervention trial. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 72(3), 367-374. <https://doi.org/10.1080/09637486.2020.1799956>
- Palla, M., Cristani, C., Giovannetti, M., & Agnolucci, M. (2017). Identification and characterization of lactic acid bacteria and yeasts of PDO Tuscan bread sourdough by culture dependent and independent methods. *International Journal of Food Microbiology*, 250, 19–26. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.03.015>

- Palla, M., Blandino, M., Grassi, A., Giordano, D., Sgherri, C., Quartacci, M. F., Reyneri, A., Agnolucci, M., & Giovannetti, M. (2020). Characterization and selection of functional yeast strains during sourdough fermentation of different cereal wholegrain flours. *Scientific Reports*, 10, 12856. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69774-6>
- Papadimitriou, K., Zoumpopoulou, G., Georgalaki, M., Alexandraki, V., Kazou, M., Anastasiou, R., & Tsakalidou, E. (2019). *Chapter 6 - Sourdough Bread*. In: Galanakis, C.M. Innovations in Traditional Foods. The Netherlands, Amsterdam: Elsevier Inc. 1st ed. pp. 127-158. ISBN 9780128148884.
- Peighambaroust, S. H., Golshan, T. A., & Hesari, J. (2011). Application of spray drying for preservation of lactic acid starter cultures: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 22(5), 215–224. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.01.009>
- Pérez-Alvarado, O., Zepeda-Hernández, A., Garcia-Amezquita, L. E., Requena, T., Vinderola, G., & García-Cayuela, T. (2022). Role of lactic acid bacteria and yeasts in sourdough fermentation during breadmaking: Evaluation of postbiotic-like components and health benefits. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.969460>
- Petkova, M., Stefanova, P., Gotcheva, V., & Angelov, A. (2021). Isolation and characterization of lactic acid bacteria and yeasts from typical Bulgarian sourdoughs. *Microorganisms*, 9(7), 1346. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071346>
- Pino, A., Russo, N., Solieri, L., Sola, L., Caggia, C., & Randazzo, C. L. (2022). Microbial consortia involved in traditional Sicilian sourdough: Characterization of lactic acid bacteria and yeast populations. *Microorganisms*, 10(2), 283. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020283>
- Polese, B., Nicolai, E., Genovese, D., Verlezza, V., Sala, C. N. L., Aiello, M., Inglese, M., Incoronato, M., Sarnelli, G., Rosa, T., Schiatti, A., Mondelli, F., Ercolini, D., & Cuomo, R. (2017). Postprandial gastrointestinal function differs after acute administration of sourdough compared with brewer's yeast bakery products in healthy adults. *The Journal of Nutrition*, 148(2), 202-208. <https://doi.org/10.1093/jn/nxx049>
- Pontonio, E., Nionelli, L., Curiel, J. A., Sadeghi, A., Di Cagno, R., Gobbetti, M., & Rizzello, C. G. (2015). Iranian wheat flours from rural and industrial mills: Exploitation of the chemical and technology features, and selection of autochthonous sourdough starters for making breads. *Food Microbiology*, 47, 99–110. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.10.011>
- Pontonio, E., Rizzello, C. G., Di Cagno, R., Dousset, X., Clément, H., Filannino, P., Onno, B., & Gobbetti, M. (2016). How organic farming of wheat may affect the sourdough and the nutritional and technological features of leavened baked goods. *International Journal of Food Microbiology*, 239, 44–53. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.07.013>
- Poutanen, K., & Katina, K. (2014). Preface: Sourdough – multifunctional process technology for future food challenges. *Food Microbiology*, 37(1). <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.10.006>
- Pozzo, L., Alcántara, C., Selma-Royo, M., Garcia-Mantrana, I., Bramanti, E., Longo, V., Collado, M. C., & Pucci, L. (2022). The impact of sourdough fermentation of spelt (*Triticum dicoccum*) from Garfagnana on gut microbiota composition and in vitro activity. *Journal of Functional Foods*, 91, 105007. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105007>
- Raimondi, S., Amaretti, A., Rossi, M., Fall, P. A., Tabanelli, G., Gardini, F., & Montanari, C. (2017). Evolution of microbial community and chemical properties of a sourdough during the production of Colomba, an Italian sweet leavened baked product. *LWT - Food Science and Technology*, 86, 31–39. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.07.042>

- Reale, A., Di Renzo, T., Boscaino, F., Nazzaro, F., Fratianni, F., & Aponte, M. (2019a). Lactic acid bacteria biota and aroma profile of Italian traditional sourdoughs from the Irpinian area in Italy. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01621>
- Reale, A., Di Renzo, T., Preziuso, M., Panfili, G., Cipriano, L., & Messia, M. C. (2019b). Stabilization of sourdough starter by spray drying technique: New breadmaking perspective. *LWT - Food Science and Technology*, 99, 468–475. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.016>
- Reese, A. T., Madden, A. A., Joossens, M., Lacaze, G., & Dunn, R. R. (2020). Influences of ingredients and bakers on the bacteria and fungi in sourdough starters and bread. *Applied and Environmental Science*, 5(1). <https://doi.org/10.1128/msphere.00950-19>
- Reidzane, S., Kruma, Z., Kazantseva, J., Traksmaa, A., & Klava, D. (2021). Determination of technological parameters and characterization of microbiota of the spontaneous sourdough fermentation of hull-less barley. *Foods*, 10(10), 2253. <https://doi.org/10.3390/foods10102253>
- Ribet, L., Dessalles, R., Lesens, C., Brusselaers, N., & Durand-Dubief, M. (2023). Nutritional benefits of sourdoughs: A systematic review. *Advances in Nutrition*, 14(1), 22-29. <https://doi.org/10.1016/j.advnut.2022.10.003>
- Ripari, V., Gänzle, M. G., & Berardi, E. (2016). Evolution of sourdough microbiota in spontaneous sourdoughs started with different plant materials. *International Journal of Food Microbiology*, 232, 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.05.025>
- Rizzello, C. G., Calasso, M., Campanella, D., De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2014). Use of sourdough fermentation and mixture of wheat, chickpea, lentil and bean flours for enhancing the nutritional, texture and sensory characteristics of white bread. *International Journal of Food Microbiology*, 180, 78-87. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.04.005>
- Rizzello, C. G., Cavoski, I., Turk, J., Ercolini, D., Nionelli, L., Pontonio, E., De Angelis, M., De Filippis, F., Gobbetti, M., & Di Cagno, R. (2015). Organic cultivation of *Triticum turgidum* subsp. *durum* is reflected in the flour-sourdough fermentation-bread axis. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(9), 3192–3204. <https://doi.org/10.1128/AEM.04161-14>
- Rizzello, C. G., Lorusso, A., Montemurro, M., & Gobbetti, M. (2016). Use of sourdough made with quinoa (*Chenopodium quinoa*) flour and autochthonous selected lactic acid bacteria for enhancing the nutritional, textural and sensory features of white bread. *Food Microbiology*, 56, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.11.018>
- Rizzello, C. G., Portincasa, P., Montemurro, M., Palo, D. M. D., Lorusso, M. P., De Angelis, M., Bonifrate, L., Genot, B., & Gobbetti, M. (2019). Sourdough fermented breads are more digestible than those started with baker's yeast alone: An in vivo challenge dissecting distinct gastrointestinal responses. *Nutrients*, 11(12), 2954. <https://doi.org/10.3390/nu11122954>
- Roby, B. H. M., Muhialdin, B. J., Abadl, M. M. T., Nor, N. A. M., Marzlan, A. A., Lim, S. A. H., Mustapha, N. A., & Hussin, A. S. M. (2020). Physical properties, storage stability, and consumer acceptability for sourdough bread produced using encapsulated kombucha sourdough starter culture. *Journal of Food Science*. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15302>
- Rocha, J. M. & Malcata, F. X. (2012). Microbiological profile of maize and rye flours, and sourdough used for the manufacture of traditional Portuguese bread. *Food Microbiology*, 31(1), 72–88. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.01.008>
- Rogalski, E., Ehrmann, M. A., & Vogel, R. F. (2020). Role of *Kazachstania humilis* and *Saccharomyces cerevisiae* in the strain-specific assertiveness of *Fructilactobacillus sanfranciscensis*

- strains in rye sourdough. *European Food Research and Technology*, 246(9), 1817-1827. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03535-7>
- Roncolini, A., Milanović, V., Cardinali, F., Osimani, A., Garofalo, C., Sabbatini, R., Clementi, F., Pasquini, M., Mozzon, M., Folignil, R., Raffaelli, N., Zamporlini, F., Minazzato, G., Trombetta, M. F., Buitenen, A. V., Campenhout, L. V., & Aquilanti, L. (2019). Protein fortification with mealworm (*Tenebrio molitor* L.) powder: Effect on textural, microbiological, nutritional and sensory features of bread. *PLoS ONE*, 14(2), e0211747. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211747>
- Rossi, S., Parrotta, L., Gottardi, D., Glicerina, V. T., Del Duca, M., Rosa, M. D., Patrignani, F., Schlüter, O., & Lanciotti, R. (2022). Unravelling the potential of cricket-based hydrolysed sourdough on the quality of an innovative bakery product. *Journal of Insects as Food and Feed*, 8(8), 921-935. <https://doi.org/10.3920/JIFF2021.0184>
- Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Mortazavi, S. A., & Abedfar, A. (2019). Application of the selected antifungal LAB isolate as a protective starter culture in pan whole-wheat sourdough bread. *Food Control*, 95, 298-307. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.08.013>
- Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Hajinia, F., Kharazmi, M. S., & Jafari, S. M. (2023). FoodOmics as a promising strategy to study the effects of sourdough on human health and nutrition, as well as product quality and safety; back to the future. *Trends in Food Science & Technology*, 136, 24-47. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.03.026>
- Sáez, G. D., Saavedra, L., Hebert, E. M., & Zárata, G. (2018). Identification and biotechnological characterization of lactic acid bacteria isolated from chickpea sourdough in northwestern Argentina. *LWT - Food Science and Technology*, 93, 249–256. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.040>
- Sakandar, H. A., Huang, W., Kubow, W., Sadiq, F. A., & Imran, M. (2020). Comparison of bacterial communities in gliadin-degraded sourdough (*Khamir*) sample and non-degraded sample. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 375–380. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04030-y>
- Sánchez-Adriá, I. E., Sanmartín, G., Prieto, J. A., Estruch, F., Fortis, E., & Randez-Gil, F. (2023). Technological and acid stress performance of yeast isolates from industrial sourdough. *LWT - Food Science and Technology*, 184, 114957. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114957>
- Sanmartin, C., Taglieri, I., Venturi, F., Macaluso, M., Zinnai, A., Tavarini, S., Botto, A., Serra, A., Conte, G., Flamini, G., & Angelini, L. G. (2020). Flaxseed cake as a tool for the improvement of nutraceutical and sensorial features of sourdough bread. *Foods*, 9(2), 204. <https://doi.org/10.3390/foods9020204>
- Scheirlinck, I., Van Der Meulen, R., Van Schoor, A., Vancanneyt, M., De Vuyst, L., Vandamme, P., & Huys, G. (2007). Influence of geographical origin and flour type on diversity of lactic acid bacteria in traditional belgian sourdoughs. *Applied and Environmental of Microbiology*, 73(19), 6262–6269. <https://doi.org/10.1128/AEM.00894-07>
- Sebrae. (2020). MPE Observatory Bulletin (Micro and Small Business). Available at: <[https://sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/estudos\\_pesquisas/boletim-observatorio-mpedetalhe59,a7de8d63b1152710VgnVCM1000004c00210aRCRD](https://sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/estudos_pesquisas/boletim-observatorio-mpedetalhe59,a7de8d63b1152710VgnVCM1000004c00210aRCRD)>. Accessed: 20 April 2020.
- Sevgili, A., Erkmen, O., & Koçaslan, S. (2021). Identification of lactic acid bacteria and yeasts from traditional sourdoughs and sourdough production by enrichment. *Czech Journal of Food Sciences*, 39(4), 312–318. <https://doi.org/10.17221/56/2021-CJFS>

- Sidari, R., Martorana, A., Zappia, C., Mincione, A., & Griuffrè. (2020). Persistence and effect of a multistrain starter culture on antioxidant and rheological properties of novel wheat sourdoughs and bread. *Foods*, 9(9), 1258. <https://doi.org/10.3390/foods9091258>
- Siepmann, F. B., de Almeida, B. S., Ripari, V., da Silva, B. J. G., Peralta-Zamora, P. G., Waszczynskyj, N., & Spier, M. R. (2019). Brazilian sourdough: microbiological, structural, and technological evolution. *European Food Research and Technology*, 245, 1583–1594. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03254-8>
- Sieuwert, S., Bron, P. A., & Smid, E. J. (2018). Mutually stimulating interactions between lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae* in sourdough fermentation. *LWT - Food Science and Technology*, 90, 201–206. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.022>
- Siragusa, S., Di Cagno, R., Ercolini, D., Minervini, F., Gobbetti, M., & De Angelis, M. (2009). Taxonomic structure and monitoring of the dominant population of lactic acid bacteria during wheat flour sourdough type I propagation using *Lactobacillus sanfranciscensis* starters. *Applied Environmental Microbiology*, 75(4), 1099–1109. <https://doi.org/10.1128/AEM.01524-08>
- Srivastava, S., Kollemperembil, A. M., Zettel, V., Claßen, T., Mobarak, M., Gattermig, B., Delgado, A., Jekle, M., & Hitzmann, B. (2023). A comparative analysis of partial replacement of yeast with CO<sub>2</sub> gas hydrates as leavening agents in baking of wheat bread. *Processes*, 11, 653. <https://doi.org/10.3390/pr11030653>
- Struyf, N., Maelen, E. V., Hemdane, S., Verspreet, J., Verstrepen, K. J., & Courtin, C. M. (2017). Bread dough and baker's yeast: An uplifting synergy. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12282>
- Subaşı, A. S., & Ercan, R. (2023). The effects of wheat variety, sourdough treatment and sourdough level on nutritional characteristics of whole wheat bread. *Journal of Cereal Science*, 110, 103637. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2023.103637>
- Supasil, R., Suttisansanee, U., Santivarangkna, C., Tangsuphoom, N., Khemthong, C., Chupeerach, C., & On-nom, N. (2022). Improvement of sourdough and bread qualities by fermented water of asian pears and assam tea leaves with co-cultures of *Lactiplantibacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Foods*, 11(14), 2071. <https://doi.org/10.3390/foods11142071>
- Syrokou, M. K., Themeli, C., Paramithiotis, S., Mataragas, M., Bosnea, L., Argyri, A. A., Chorianopoulos, N. G., Skandamis, P. N., & Drosinos, E. H. (2020). Microbial ecology of greek wheat sourdoughs, identified by a culture-dependent and a culture-independent approach. *Foods*, 9(11), 1603. <https://doi.org/10.3390/foods9111603>
- Syrokou, M. K., Tziompra, S., Psychogiou, E.-E., Mpisti, S.-D., Paramithiotis, S., Bosnea, L., Mataragas, M., Skandamis, P. N., & Drosinos, E. H. (2021). Technological and safety attributes of lactic acid bacteria and yeasts isolated from spontaneously fermented greek wheat sourdoughs. *Microorganisms*, 9(4), 671. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040671>
- Syrokou, M. K. (2022). Genotypic, physiological and technological attributes of lactic acid bacteria and yeasts isolated from spontaneously fermented Greek wheat sourdoughs. Thesis, Agricultural University of Athens, Athens, Grecey.
- Taglieri, I., Macaluso, M., Bianchi, A., Sanmartin, C., Quartacci, M. F., Zinnai, A., & Venturi, F. (2020). Overcoming bread quality decay concerns: main issues for bread shelf life as a function of biological leavening agents and different extra-ingredients used in formulation. A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(5), 1732-1743. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10816>

- Taglieri, I., Sanmartin, C., Venturi, F., Macaluso, M., Bianchi, A., Sgherri, C., Quartacci, M. F., De Leo, M., Pistelli, L., Palla, F., Flamini, G., & Zinnai, A. (2021). Bread fortified with cooked purple potato flour and citrus albedo: An evaluation of its compositional and sensorial properties. *Foods*, 10(5), 942. <https://doi.org/10.3390/foods10050942>
- Thakur, K., Tomar, S. K., & De, S. (2015). Lactic acid bacteria as a cell factory for riboflavin production. *Microbial Biotechnology*. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12335>
- The Guardian. (2020). Kneading to relax? How coronavirus prompted a surge in stress baking. Available at: <<https://www.theguardian.com/us-news/2020/apr/19/coronavirus-stress-baking-sourdough-kneading-relax>>. Accessed: 19 April 2020.
- Tolve, R., Simonato, B., Rainero, G., Bianchi, F., Rizzi, C., Cervini, M., & Giuberti, G. (2021). Wheat bread fortification by grape pomace powder: Nutritional, technological, antioxidant, and sensory properties. *Foods*, 10(1), 75. <https://doi.org/10.3390/foods10010075>
- Tomic, J., Dapcevic-Hadnadev, T., Skrobot, D., Maravic, N., Popovic, N., Stevanovic, D., & Hadnadev, M. (2023). Spontaneously fermented ancient wheat sourdoughs in breadmaking: Impact of flour quality on sourdough and bread physico-chemical properties. *LWT*, 175, 114482. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114482>.
- Torrieri, E., Pepe, O., Ventrino, V., Masi, P., & Cavella, S. (2014). Effect of sourdough at different concentrations on quality and shelf life of bread. *LWT - Food Science and Technology*, 56(2), 508-516. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.12.005>
- Trif, M., Socol, C. T., Bangar, S. P., & Rusu, A. V. (2023). Cereals and Cereal Sourdoughs as a Source of Functional and Bioactive Compounds. In: Garcia-Vaquero, M., Rocha, J. M. F. Sourdough Innovations: Novel uses of metabolites, enzymes and microbiota from sourdough processing. CRC Press, 1st Edition, 2023.
- Tsafrakidou, P., Michaelidou, A. M., & Biliaderis, C. G. (2020). Fermented cereal-based products: Nutritional aspects, possible impact on gut microbiota and health implications. *Foods*, 9(6) 734. <https://doi.org/10.3390/foods9060734>
- Urien, C., Legrand, J., Montalent, P., Casaregola, S., & Sicard, D. (2019). Fungal species diversity in French bread sourdoughs made of organic wheat flour. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00201>
- Van Kerrebroeck, S., Bastos, F. C. C., Harth, H., & De Vuyst, L. (2016). A low pH does not determine the community dynamics of spontaneously developed backslotted liquid wheat sourdoughs but does influence their metabolite kinetics. *International Journal of Food Microbiology*, 239, 54–64. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.07.019>
- Van Kerrebroeck, S., Maes, D., & De Vuyst, L. (2017). Sourdoughs as a function of their Espécies diversity and process conditions, a meta-analysis. *Trends in Food Science & Technology*, 68, 152–159. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.08.016>
- Vassileva, I., Baev, V., Yahubyan, G., Apostolova-Kuzova, E., Angelov, A., & Koprinarova, M. (2022). Identification of Bulgarian Sourdough Microbiota by Metagenomic Approach Using Three Commercially Available DNA Extraction Protocols. *Food Technology & Biotechnology*, 61(1). <https://doi.org/10.17113/ftb.61.01.23.7796>
- Ventimiglia, G., Alfonzo, A., Galluzzo, P., Corona, O., Francesca, N., Caracappa, S., Moschetti, G., & Settanni, L. (2015). Codominance of *Lactobacillus plantarum* and obligate heterofermentative

- lactic acid bacteria during sourdough fermentation. *Food Microbiology*, 51, 57–68. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.04.011/>
- Venturi, M., Guerrini, S., & Vincenzini, M. (2012). Stable and non-competitive association of *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida milleri* and *Lactobacillus sanfranciscensis* during manufacture of two traditional sourdough baked goods. *Food Microbiology*, 31(1), 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.02.011>
- Verdonck, C., Bondt, Y., Pradal, I., Bautil, A., Langenaeken, N. A., Brijs, K., Goos, P., De Vuyst, L., & Courtin, C. M. (2023). Impact of process parameters on the specific volume of wholemeal wheat bread made using sourdough- and baker's yeast-based leavening strategies. *International Journal of Food Microbiology*, 396, 110193. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110193>
- Viiard, E., Mihhalevski, A., Rühka, T., Paalme, T., & Sarand, I. (2013). Evaluation of the microbial community in industrial rye sourdough upon continuous back-slopping propagation revealed *Lactobacillus helveticus* as the dominant species. *Journal of Applied Microbiology*, 114(2), 404–412. <https://doi.org/10.1111/jam.12045>
- Viiard, E., Bessmeltseva, M., Simm, J., Talve, T., Aaspõllu, A., Paalme, T., & Sarand, I. (2016). Diversity and stability of lactic acid bacteria in rye sourdoughs of four bakeries with different propagation parameters. *PLoS ONE*, 11, 5–6. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148325>
- Villegas, J. M., Brown, L., de Giori, G. S., & Hebert, E. M. (2016). Optimization of batch culture conditions for GABA production by *Lactobacillus brevis* CRL 1942, isolated from quinoa sourdough. *LWT - Food Science and Technology*, 67, 22–26. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.11.027>
- Voinea, A., & Codină, G. G. (2021). Effect of dry sourdough addition in wheat flour on dynamic rheological properties and bread quality. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 27(1), 9-14.
- Vrancken, G., De Vuyst, L., Van Der Meulen, R., Huys, G., Vandamme, P., & Daniel, H. M. (2010). Yeast species composition differs between artisan bakery and spontaneous laboratory sourdoughs: Research article. *FEMS Yeast Research*, 10(4), 471–481. <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2010.00621.x>
- Vrancken, G., Rimaux, T., Weckx, S., Leroy, F., & De Vuyst, L. (2011). Influence of temperature and backslopping time on the microbiota of a type I propagated laboratory wheat sourdough fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(8), 2716–2726. <https://doi.org/10.1128/AEM.02470-10>
- Wang, X., Zhao, R., & Yuan, W. (2020a). Type I sourdough steamed bread made by retarded sponge-dough method. *Food Chemistry*, 126029. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126029>
- Wang, X., Zhu, X., Bi, Y., Zhao, R., Nie, Y., & Yuan, W. (2020b). Dynamics of microbial community and changes of metabolites during production of type I sourdough steamed bread made by retarded sponge-dough method. *Food Chemistry*, 330, 127316. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127316>
- Wang, X., Huangfu, X., Zhao, M., & Zhao, R. (2023). Chinese traditional sourdough steamed bread made by retarded sponge-dough method: Microbial dynamics, metabolites changes and bread quality during continuous propagation. *Food Research International*, 163, 112145. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112145>

- Xing, X., Ma, J., Fu, Z., Zhao, Y., Ai, Z., & Suo, B. (2020). Diversity of bacterial communities in traditional sourdough derived from three terrain conditions (mountain, plain and basin) in Henan Province, China. *Food Research International*, 133, 109139. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109139>
- Xi, J., Zhao, Q., Xu, D., Jin, Y., Wu, F., & Xu, X. (2021). Effect of dough kneading time on Chinese steamed bread quality and volatile compounds. *Food Bioscience*, 43, 101323. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101323>
- Xu, D., Zhang, Y., Tang, K., Hu, Y., Xu, X., & Gänzle, M. (2019). Effect of mixed cultures of yeast and lactobacilli on the quality of wheat sourdough bread. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02113>
- Xu, D., Zhang, H., Xi, J., Jin, Y., Chen, Y., Guo, L., & Xu, X. (2020). Improving bread aroma using low-temperature sourdough fermentation. *Food Bioscience*, 37, 100704. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100704>
- Yağmur, G., Tanguler, H., Leventdurur, S., Elmaci, S. B., Turhan, E. Ü., Francesca, N., Settanni, L., Moschetti, G., & Erten, H. (2016). Identification of predominant lactic acid bacteria and yeasts of turkish sourdoughs and selection of starter cultures for liquid sourdough production using different flours and dough yields. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 66, 99–107. <https://doi.org/10.1515/pjfn-2015-0041>
- Yan, B., Sadiq, F. A., Cai, Y., Fan, D., Chen, W., Zhang, H., & Zhao, J. (2019). Microbial diversity in traditional type I sourdough and jiaozi and its influence on volatiles in Chinese steamed bread. *LWT - Food Science and Technology*, 101, 764–773. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.004>
- Yang, Q., Rutherford-Markwick, K., & Mutukumira, A. N. (2021). Identification of dominant lactic acid bacteria and yeast in rice sourdough produced in New Zealand. *Current Research in Food Science*, 4, 729–736. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.10.002>
- Yu, Y., Wang, L., Qian, H., Zhang, H., & Qi, X. (2018). Contribution of spontaneously-fermented sourdoughs with pear and navel orange for the bread-making. *LWT - Food Science and Technology*, 89, 336–343. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.001>
- Zahra, A., Farooq, U., Saeed, M. T., Qudoods, M. Y., Hameed, A., Iftikhar, M., Noreen, A., Zahra, S. M., Hussain, A., Bukhari, S. R., Rafique, A., Naqvi, S. N., & Chaudhry, F. (2022). Enhancement of sensory attributes and mineral content of sourdough bread by means of microbial culture and yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). *Food Chemistry Advances*, 1, 100094. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100094>
- Zhang, G., Sadiq, F. A., Zhu, L., Liu, T., Yang, H., Wang, X., & He, G. (2015). Investigation of microbial communities of chinese sourdoughs using culture-dependent and DGGE approaches. *Journal of Food Science*, 80(11), 535-542. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13093>
- Zhang, G., Zhang, W., Sadiq, F. A., Arbab, S. H., & He, G. (2019). Microbiota succession and metabolite changes during the traditional sourdough fermentation of Chinese steamed bread. *CyTA - Journal of Food*, 17(1), 172-179. <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1569166>
- Zhang, Y., Momoisea, P., Lin, Q., Liang, J., Burrow, K., & Serventi, L. (2023). Evaluation of sensory and physicochemical characteristics of vitamin b12 enriched whole-meal sourdough bread fermented with *Propionibacterium freudenreichii*. *Sustainability*, 15(10), 8157. <https://doi.org/10.3390/su15108157>

Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., O'Toole, P. W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G. E., Gänzle, M. G., & Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2782-2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>

Zhou, Y., She, X., Zhu, S., & Zhou, X. (2022). The study of microbial diversity and volatile compounds in Tartary buckwheat sourdoughs. *Food Chemistry*, 14, 100353. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100353>

Zhu, F. (2021). Frozen steamed breads and boiled noodles: Quality affected by ingredients and processing. *Food Chemistry*, 349, 129178. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129178>

**Supplementary Table 1:** Lactic acid bacteria (LAB) species identified according to sourdough types in 100 articles published in the last 10 years (2013 - 2023), understanding different types of sourdough.

Reference	Species	Type of sourdough
Alfonzo et al., 2013	<i>Enterococcus mundtii</i> , <i>F. sanfranciscensis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. sakei</i> , <i>Leuconostoc lactis</i> , <i>Ln. citreum</i> , <i>Ln. mesenteroides</i> , <i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>W. cibaria</i> and <i>W. confusa</i>	Type I
Aponte et al., 2013	<i>C. farciminis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>W. cibaria</i> , <i>W. confusa</i> and <i>Weissella paramesenteroides</i>	Type II
Aryashad et al., 2022	<i>P. pentosaceus</i>	Type II
Baev et al., 2023	<i>C. farciminis</i> , <i>Holzappelia floricola</i> , <i>Lacticaseibacillus casei</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> , <i>Ligilactobacillus agilis</i> , <i>Ligilactobacillus salivarius</i> , <i>Limosilactobacillus mucosae</i> , <i>Liquorilactobacillus satsumensis</i> , <i>Loigolactobacillus coryniformis</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>Ln. mesenteroides</i> , <i>Paucilactobacillus oligofermentans</i> , <i>Pediococcus parvulus</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>Schleiferilactobacillus perolens</i> and <i>W. cibaria</i>	Not specified
Bartkiene et al., 2020	<i>Enterococcus pseudoavium</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. coryniformis</i> , <i>Latilactobacillus curvatus</i> , <i>Lentilactobacillus farraginis</i> , <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>Liquorilactobacillus uvarum</i> , <i>Ln. mesenteroides</i> , <i>Pediococcus acidilactici</i> and <i>P. pentosaceus</i>	Type I
Bartkiene; Ozogul; Rocha, 2022	<i>L. plantarum</i> , <i>L. uvarum</i> and <i>P. acidilactici</i>	Type II
Bessmeltseva et al., 2014	<i>C. crustorum</i> , <i>Companilactobacillus paralimentarius</i> , <i>Enterococcus casseliflavus</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>Latilactobacillus graminis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. sakei</i> , <i>P. acidilactici</i> , <i>P. pentosaceus</i> and <i>W. confusa</i>	Type I
Boreczek et al., 2020	<i>Enterococcus</i> sp., <i>L. brevis</i> , <i>L. coryniformis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. sp.</i> , <i>Lc. lactis</i> , <i>Leuconostoc</i> sp., <i>P. adicilactici</i> , <i>P. pentosaceus</i> and <i>Weissella</i> sp.	Type I
Calabrese et al., 2022	<i>F. rossiae</i> , <i>F. sanfranciscensis</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>Lc. lactis</i> , <i>Ln. citreum</i> , <i>P. pentosaceus</i> and <i>W. confusa</i>	Type I
Coda et al., 2017a	<i>E. casseliflavus</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Enterococcus</i> spp., <i>L. sakei</i> , <i>Lc. lactis</i> , <i>Leuconostoc</i> spp., <i>Ln. mesenteroides</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>Pediococcus</i> spp., <i>W. cibaria</i> and <i>W. korensis</i>	Type I

Comasio et al., 2020	<i>C. paralimentarius</i> , <i>F. sanfranciscensis</i> , <i>Levilactobacillus parabrevis</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. graminis</i> , <i>Levilactobacillus hammesii</i> , <i>Levilactobacillus koreensis</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. brevis</i> , <i>Ln. citreum</i> , <i>P. parvulus</i> and <i>W. cibaria</i>	Not specified
Comasio et al., 2021	<i>C. crustorum</i>	Type II and III
Costa et al., 2022	<i>Companilactobacillus nuruki</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. sakei</i> , <i>L. pontis</i> and <i>P. pentosaceus</i>	Type I
Dertli et al., 2016	<i>C. paralimentarius</i> , <i>F. rossiae</i> , <i>F. sanfranciscensis</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>Lactiplantibacillus paraplantarum</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>Ln. mesenteroides</i> , <i>Ln. pseudomesenteroides</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>W. cibaria</i> and <i>W. paramesenteroides</i>	Type I
Di Cagno et al., 2014	<i>F. sanfranciscensis</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. sakei</i> , <i>Lc. lactis</i> , <i>Ln. citreum</i> , <i>Ln. mesenteroides</i> and <i>W. cibaria</i>	Type I
Drakula et al., 2021	<i>L. brevis</i> , <i>L. fermentum</i> and <i>L. reuteri</i>	Type II
Ercolini et al., 2013	<i>F. sanfranciscensis</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. lactis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. sakei</i> , <i>Lactocaseibacillus zaeae</i> , <i>Lactobacillus spp.</i> , <i>Leuconostoc spp.</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> and <i>Weissella spp.</i>	Type I
Fang et al., 2023	<i>Lc. lactis</i> , <i>L. paracasei</i> and <i>L. plantarum</i>	Type II
Fekri et al., 2020	<i>E. faecium</i> , <i>Ln. citreum</i> and <i>P. pentosaceus</i>	Type I
Fraberger et al., 2020b	<i>C. paralimentarius</i> , <i>F. rossiae</i> , <i>F. sanfranciscensis</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. coryniformis</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>Lentilactobacillus diolivorans</i> , <i>Lactobacillus gallinarum</i> , <i>L. hammesii</i> , <i>Schleiferilactobacillus harbinensis</i> , <i>Companilactobacillus kimchii</i> , <i>Lentilactobacillus kisonensis</i> , <i>Lentilactobacillus otakiensis</i> , <i>L. parabrevis</i> , <i>Lentilactobacillus parabuchneri</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>Schleiferilactobacillus perolens</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. pontis</i> , <i>L. sakei</i> , <i>Levilactobacillus senmaizukei</i> , <i>L. spicheri</i> , <i>Lactiplantibacillus xiangfangensis</i> , <i>Ln. citreum</i> , <i>Ln. mesenteroides</i> , <i>Ln. pseudomesenteroides</i> , <i>P. parvulus</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>Paucilactobacillus vaccinosatercus</i> , <i>Streptococcus dentisani</i> , <i>Streptococcus salivarius</i> , <i>W. cibaria</i> and <i>Weissella viridenscens</i>	Type I
Franco et al., 2020	<i>E. faecium</i> , <i>E. mundtii</i> , <i>L. graminis</i> , <i>L. lactis</i> , <i>L. paraplantarum</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. sakei</i> , <i>Ln. citreum</i> , <i>Ln. mesenteroides</i> , <i>P. pentosaceus</i> and <i>W. cibaria</i>	Type I
Ferrara et al., 2021	<i>Lactococcus sp.</i> , <i>Lactobacillus sp.</i> , <i>Leuconostoc sp.</i> , <i>Paenibacillus sp.</i> and <i>Pediococcus sp.</i>	Type II
Fu et al., 2020	<i>C. farciminis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. paraplantarum</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. pontis</i> , <i>L. sakei</i> , <i>Ln. citreum</i> , <i>P. acidilactici</i> and <i>P. pentosaceus</i>	Type I
Fu et al., 2022	<i>C. crustorum</i> , <i>L. brevis</i> , <i>Lactiplantibacillus pentosus</i> , <i>L. plantarum</i> and <i>P. pentosaceus</i>	Type I

Fujimoto et al., 2018	<i>F. sanfranciscensis, L. pentosus, L. sakei, Leuconostoc argentinum, P. vaccinostercus</i> and <i>P. pentosaceus</i>	Type I
Gaglio et al., 2020	<i>E. casseliflavus, Enterococcus durans, E. faecium, L. brevis, L. graminis, L. paracasei, L. pentosus, P. acidilactici</i> and <i>P. pentosaceus</i>	Type II
Gharekhani et al., 2021	<i>C. paralimentarius, F. sanfranciscensis, L. brevis</i> and <i>L. plantarum</i>	Type II
Gordún et al., 2014	<i>L. brevis, L. plantarum, L. sakei, Lentilactobacillus sunkii, Ln. mesenteroides, P. pentosaceus</i> and <i>W. cibaria</i>	Type I
Gu et al., 2023	<i>L. plantarum</i> and <i>Lc. lactis</i>	Type II
Gül; Gül; Çon, 2022	<i>L. brevis, L. curvatus</i> and <i>W. cibaria</i>	Type II
Gunduz et al., 2020	<i>E. faecium, Enterococcus lactis, L. brevis, L. plantarum, Ln. mesenteroides, P. acidilactici, P. pentosaceus, Streptococcus lutetiensis, W. cibaria</i> and <i>W. confusa</i> ,	Type II
Gunduz et al., 2022	<i>C. paralimentarius, E. faecium, F. sanfranciscensis, L. acidophilus, L. brevis, L. parabrevis, L. paracasei, L. paraplantarum, L. peontosus, L. plantarum, L. citreum, Pediococcus inopinatus, Weissella sp.</i> and <i>W. confusa</i>	Type II
Harth et al., 2016	<i>L. brevis, L. fermentum, L. plantarum, Ln. citreum, Ln. mesenteroides, Ln. pseudomesenteroides, P. pentosaceus, W. cibaria</i> and <i>W. confusa</i>	Type II
Iosca et al., 2020	<i>F. rossiae, F. sanfranciscensis, L. plantarum, Ln. citreum</i> and <i>Ln. mesenteroides</i> ,	Type I
Ispirli et al., 2018	<i>L. graminis, L. plantarum, Lc. lactis, Ln. citreum, W. cibaria</i> and <i>W. confusa</i>	Type I
Katsi et al., 2021	<i>C. paralimentarius</i> and <i>F. sanfranciscensis</i>	Type I
Khlestkin et al., 2022	<i>Companilactobacillus sp., F. sanfranciscensis, L. brevis, L. curvatus, L. plantarum</i> and <i>L. pontis</i> .	Type I
Korcari et al., 2020	<i>L. brevis, L. curvatus, L. fermentum, L. paraplantarum, L. pentosus, L. plantarum, Lacticaseibacillus rhamnosus, Leuconostoc spp., P. acidilactici, P. pentosaceus</i> and <i>Weissella spp.</i>	Type I
Lancetti et al., 2022	<i>E. faecium, L. fermentum</i> and <i>L. plantarum</i>	Type II
Landis et al., 2021	<i>C. paralimentarius, F. rossiae, F. sanfranciscensis, L. brevis, L. casei, L. diolivorans, L. parabrevis, L. plantarum, L. sakei, Lactobacillus spp., Pediococcus damnosus</i> and <i>P. pentosaceus</i>	Type II
Lattanzi et al., 2013	<i>F. sanfranciscensis, L. brevis, L. casei, L. curvatus, L. fermentum, L. plantarum, Lc. Lactis, Ln. citreum, Ln.</i>	Type I

	<i>mesenteroides</i> and <i>P. acidilactici</i>	
Lhomme et al., 2015	<i>C. paralimentarius</i> , <i>F. sanfranciscensis</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. hammesii</i> , <i>Fructilactobacillus lindneri</i> , <i>L. pentosus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. sakei</i> and <i>L. spicheri</i>	Type I
Lhomme et al., 2016	<i>Companilactobacillus alimentarius</i> , <i>C. kimchii</i> , <i>F. sanfranciscensis</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. hammessii</i> , <i>L. pentosus</i> , <i>L. plantarum</i> and <i>L. sakei</i>	Type I
Li et al., 2016	<i>C. alimentarius</i> , <i>C. farciminis</i> , <i>E. durans</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>P. pentosaceus</i> and <i>Weissella</i> spp.	Type I
Liu et al., 2016	<i>C. crustorum</i> , <i>Companilactobacillus mindensis</i> , <i>C. paralimentarius</i> , <i>Companilactobacillus tuceti</i> , <i>Enterococcus devriesei</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>F. rossiae</i> , <i>F. sanfranciscensis</i> , <i>Ligilactobacillus aviarius</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. graminis</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Lactobacillus letivazi</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. sakei</i> , <i>Lc. Lactis</i> , <i>Ln. citreum</i> , <i>Ln. mesenteroides</i> , <i>Ln. pseudomesenteroides</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>P. vaccinostercus</i> , <i>W. confusa</i> and <i>W. paramesenteroides</i>	Type I
Luti et al., 2021	<i>L. brevis</i> and <i>L. plantarum</i>	Type II
Maidana et al., 2019	<i>Enterococcus asini</i> , <i>E. casseliflavus</i> , <i>E. devriesei</i> , <i>E. durans</i> , <i>Enterococcus italicus</i> , <i>Enterococcus hermannienseis</i> , <i>Enterococcus hirae</i> , <i>E. mundtii</i> , <i>L. brevis</i> , <i>Lc. lactis</i> , <i>Limosilactobacillus mucosae</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. sakei</i> , <i>L. zeae</i> and <i>W. cibaria</i>	Type I
Maidana et al., 2020	<i>L. fermentum</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>Lc. lactis</i> and <i>W. cibaria</i>	Type II
Mamhoud et al., 2016	<i>C. farciminis</i> , <i>C. nantesis</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>P. acidilactici</i> and <i>P. pentosaceus</i>	Type I
Manini et al., 2014	<i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>Ln. citreum</i> , <i>Ln. mesenteroides</i> , <i>L. sakei</i> and <i>P. pentosaceus</i>	Type I
Martorana et al., 2018	<i>C. crustorum</i> , <i>C. paralimentarius</i> , <i>F. sanfranciscensis</i> , <i>Levilactobacillus namurensis</i> , <i>L. pentosus</i> , <i>L. sakei</i> , <i>Ln. citreum</i> , <i>P. parvulus</i> and <i>W. cibaria</i>	Type I
Menezes et al., 2020	<i>Companilactobacillus kimchiensis</i> , <i>C. nantesis</i> , <i>C. saccharobutylicum</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. farciminis</i> , <i>Lactococcus garviea</i> , <i>L. graminis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. sakei</i> , <i>Lc. lactis</i> , <i>Ln. citreum</i> , <i>P. pentosaceus</i> ,	Type I
Mietton et al., 2022	<i>C. paralimentarius</i> , <i>F. sanfranciscensis</i> , <i>L. plantarum</i> and <i>L. spicheri</i>	Type I
Michel et al., 2016	<i>C. nantesis</i> , <i>C. paralimentarius</i> , <i>F. sanfranciscensis</i> , <i>L. brevis</i> , <i>Lentilactobacillus buchneri</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. diolivorans</i> , <i>L. koreensis</i> , <i>L. parabrevis</i> , <i>L. parabuchneri</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. pontis</i> , <i>L. sakei</i> , <i>L. xiangfangensis</i> , <i>Lactobacillus</i> spp., <i>Ln. citreum</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>Weissella</i> spp. and <i>W. confusa</i>	Type I

Milanović et al. 2020	<i>C. paralimentarius</i> and <i>L. brevis</i>	Type I
Minervini et al., 2015b	<i>F. sanfranciscensis</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. parabrevis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. pontis</i> , <i>Limosilactobacillus reuteri</i> , <i>Streptococcus spp.</i> and <i>W. cibaria</i>	Type I
Minervini et al., 2016	<i>L. brevis</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. plantarum</i> and <i>Ln. mesenteroides</i>	Type I
Minervini et al., 2018	<i>F. sanfranciscensis</i> , <i>L. sakei</i> , <i>Ln. citreum</i> , <i>Ln. mesenteroides</i> , <i>P. pentosaceus</i> and <i>W. cibaria</i>	Type I
Minervini et al., 2019	<i>C. paralimentarius</i> , <i>Enterococcus spp.</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. lactis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>Ln. citreum</i> , <i>P. acidilactici</i> , <i>P. pentosaceus</i> and <i>W. confusa</i>	Type I
Nachi et al., 2018	<i>E. casseliflavus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>P. acidilactici</i> , <i>P. pentosaceus</i> and <i>W. cibaria</i>	Type I
Nionelli et al., 2014	<i>L. plantarum</i> , <i>Lc. lactis</i> , <i>Ln. citreum</i> , <i>Ln. mesenteroides</i> and <i>P. pentosaceus</i>	Type I
Ogunsakin et al., 2017	<i>P. pentosaceus</i> and <i>W. confusa</i>	Type I
Oshiro et al., 2019	<i>L. brevis</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. paraplantarum</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>Lc. lactis</i> , <i>Ln. citreum</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>W. confusa</i> , and <i>W. cibaria</i>	Type I
Oshiro et al., 2021	<i>E. durans</i> , <i>F. rossiae</i> , <i>F. sanfranciscensis</i> , <i>P. pentosaceus</i> and <i>W. cibaria</i>	Type I
Palla et al., 2017	<i>F. sanfranciscensis</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. plantarum</i> and <i>L. panis</i>	Type I
Petkova et al., 2021	<i>E. durans</i> , <i>E. faecium</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>P. acidilactici</i> , <i>P. parvulus</i> and <i>P. pentosaceus</i> .	Type I
Pino et al., 2022	<i>L. brevis</i> and <i>L. plantarum</i>	Type I
Pontonio et al., 2015	<i>Ln. citreum</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>W. cibaria</i> and <i>W. confusa</i>	Type I
Pontonio et al., 2016	<i>C. kimchi</i> , <i>E. faecium</i> , <i>F. lindneri</i> , <i>F. rossiae</i> , <i>F. sanfranciscensis</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. diolivorans</i> , <i>L. farranginis</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. hammesii</i> , <i>Lentilactobacillus hilgardii</i> , <i>L. parabrevis</i> , <i>L. parabuchneri</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. pentosus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. pontis</i> , <i>L. sakei</i> , <i>L. spicheri</i> , <i>L. xiangfangensis</i> , <i>Ln. mesenteroides</i> and <i>S. salivarius</i>	Type I
Raimondi et al., 2017	<i>Enterococcus spp.</i> , <i>E. durans</i> , <i>F. sanfranciscensis</i> , <i>Levilactobacillus acidifarinae</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>Levilactobacillus zymae</i> , <i>Ln. citreum</i> , <i>Ln. mesenteroides</i> , <i>Ln. pseudomesenteroides</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>Streptococcus macedonicus</i> and <i>Streptococcus spp.</i>	Type II

Reale et al., 2019a	<i>C. paralimentarius, F. rossiae, L. brevis, L. paracasei, L. paraplantarum, L. pentosus, L. plantarum, Ln. citreum, Ln. lactis, Ln. mesenteroides, Ln. pseudomesenteroides, L. sakei, L. zymae, P. pentosaceus</i> and <i>W. cibaria</i> .	Type I
Reese et al., 2020	<i>Lactobacillales, Lactobacillus, Lactococcus</i> sp., <i>Leuconostoc</i> sp. and <i>Pediococcus</i> sp.	Type I
Reidzane et al., 2021	<i>Enterococcus</i> spp., <i>E. faecium, L. lactis, P. pentosaceus</i> and <i>W. cibaria</i>	Type I
Ripari et al., 2016	<i>F. sanfranciscensis, L. brevis, L. graminis, L. paracasei, L. plantarum, L. sakei, L. spicheri, Ln. holzapfelii, Leuconostoc kimchi, Ln. mesenteroides, Ln. pseudomesenteroides, P. pentosaceus, W. cibaria</i> and <i>W. confusa</i>	Type I
Rizzello et al., 2014	<i>F. rossiae, F. sanfranciscensis, L. brevis, L. coryniformis, L. fermentum, L. parabuchneri, L. paraplantarum, L. pentosus, L. plantarum, Ln. mesenteroides</i> and <i>W. cibaria</i>	Type I
Rizzello et al., 2016	<i>F. rossiae, L. plantarum</i> and <i>P. pentosaceus</i>	Type I
Roncolini et al., 2019	<i>F. sanfranciscensis, L. fermentum</i> and <i>L. plantarum</i>	Type II
Sáez et al., 2018	<i>Lc. garvieae, L. fermentum, P. pentosaceus, W. cibaria, W. confusa</i> and <i>W. paramesenteroides</i>	Type I
Sakandar et al., 2020	<i>Lactobacillus</i> sp., <i>Lactococcus</i> sp., <i>Leuconostoc</i> sp. and <i>Weissella</i> sp.	Type I
Sevgili et al., 2021	<i>C. paralimentarius, E. faecalis, E. hirae, F. sanfranciscensis, L. paraplantarum, L. pentosus, L. plantarum, Ln. mesenteroides</i> and <i>W. cibaria</i> .	Type II
Sidari et al. 2020	<i>F. sanfranciscensis</i> and <i>Ln. citreum</i>	Type II
Syrokou, 2020	<i>C. paralimentarius, F. sanfranciscensis, L. brevis, L. curvatus, L. plantarum, L. sakei, L. zymae, Lc. lactis, Ln. citreum</i> and <i>Ln. Mesetenroides</i>	Type I
Syrokou, 2022	<i>C. paralimentarius, F. sanfranciscensis, L. brevis, L. curvatus, L. plantarum, L. sakei, L. zymae, Lc. lactis, Ln. citreum</i> and <i>Ln. Mesenteroides</i>	Type I
Urien et al., 2019	<i>C. paralimentarius, F. sanfranciscensis, L. brevis, L. curvatus, L. hammessii, L. pentosus</i> and <i>L. plantarum</i>	Type I
Van Kerrebroeck et al., 2016	<i>L. curvatus, L. fermentum, L. graminis, L. paraplantarum, L. pentosus, L. plantarum, L. sakei, Lc. lactis, Lc. criteum, Lc. holzapfelii</i> and <i>P. pentosaceus</i>	Type I
Vassileva et al., 2022	<i>L. brevis, L. fermentum, L. plantarum, Leuconostoc</i> sp. and <i>Weissella</i> sp.	Type I

Ventimiglia et al., 2015	<i>L. curvatus</i> , <i>L. graminis</i> and <i>L. plantarum</i>	Type I
Viiard et al., 2013	<i>C. paralimentarius</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>L. panis</i> , <i>L. pontis</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. vaginalis</i>	Type II and III
Viiard et al., 2016	<i>F. sanfranciscensis</i> , <i>L. amylovorus</i> , <i>L. casei</i> , <i>Lactobacillus coleohominis</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. frumenti</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>L. lactis</i> , <i>L. panis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. pontis</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>Limosilactobacillus secaliphilus</i> , <i>L. vaginalis</i> , <i>L. zymae</i> and <i>P. acidilactici</i>	Type II and III
Wang et al., 2020b	<i>F. sanfranciscensis</i> , <i>L. pontis</i> and <i>Streptococcus</i> sp.	Type I
Wang et al., 2023	<i>F. sanfranciscensis</i> and <i>L. pontis</i>	Type I
Xing et al., 2020	<i>E. faecium</i> , <i>C. crustorum</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>C. mindensis</i> , <i>L. brevis</i> , <i>C. paralimentarius</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>W. cibaria</i>	Not specified
Xu et al., 2019	<i>F. sanfranciscensis</i> and <i>L. sakei</i>	Type II
Yagmur et al., 2016	<i>C. farciminis</i> , <i>C. mindensis</i> , <i>C. paralimentarius</i> , <i>E. durans</i> , <i>E. faecium</i> , <i>F. rossiae</i> , <i>F. sanfranciscensis</i> , <i>L. acetotolerans</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. namurencis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. spicheri</i> , <i>L. zymae</i> , <i>Ln. mesenteroides</i> , <i>P. pentosaceus</i> and <i>W. confusa</i>	Type I
Yan et al., 2019	<i>C. paralimentarius</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. plantarum</i> and <i>L. pontis</i>	Type I
Yang; Rutherford-Markwick; Mutukumira, 2021	<i>L. fermentum</i> , <i>L. plantarum</i> and <i>L. paraplantarum</i>	Not specified
Yu et al., 2018	<i>F. rossiae</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>Ln. mesenteroides</i> and <i>P. pentosaceus</i>	Type I
Zahra et al., 2022	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. brevis</i> and <i>L. plantarum</i>	Type II
Zhang et al., 2019	<i>C. alimentarius</i> , <i>C. crustorum</i> , <i>Enterococcus cecorum</i> , <i>E. faecium</i> , <i>F. sanfranciscensis</i> , <i>L. delbrueckii</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>Lactobacillus</i> spp. and <i>Lc. garvieae</i>	Type II
Zhou et al., 2022	<i>Enterococcus</i> spp., <i>Lactobacillus</i> spp., <i>Lactococcus</i> spp., <i>Leuconostoc</i> spp., <i>Pediococcus</i> spp. and <i>Weissella</i> spp.	Type I

**Supplementary Table 2:** Yeasts species identified according to sourdough types in 60 articles published in the last 15 years (2007 - 2022), understanding different types of sourdough.

Reference	Species	Type of sourdough
Arici et al., 2018	<i>Kluyveromyces marxianus</i> , <i>Saccharomyces bayanus</i> , <i>S. cerevisiae</i> and <i>Torulaspora delbrueckii</i>	Type I
Bazalová et al., 2022	<i>Hanseniaspora uvarum</i> , <i>Kazachstania humilis</i> , <i>Kazachstania pseudohumilis</i> , <i>Kazachstania unispora</i> , <i>Pichia fermentans</i> , <i>S. bayanus</i> and <i>S. cerevisiae</i>	Type II
Calabrese et al., 2022	<i>P. kudriavzevii</i> and <i>S. cerevisiae</i>	Type I
Chiva et al., 2021	<i>Kazachstania bulderi</i> , <i>K. humilis</i> , <i>Kazachstania servazzii</i> , <i>Meyerozyma carpophila</i> , <i>Meyerozyma guilliermondii</i> , <i>P. fermentans</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>T. delbrueckii</i> and <i>W. anomalus</i>	Type I
Comasio et al., 2020	<i>Dekkera anomala</i> , <i>Dekkera bruxellensi</i> , <i>K. bulderi</i> , <i>K. exigua</i> , <i>K. humilis</i> , <i>Kazachstania solicola</i> , <i>K. unispora</i> , <i>Pichia myanmarensis</i> , <i>P. fermentans</i> , <i>Saccharomyces cariocanus/paradoxus</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>W. anomalus</i>	Not specified
Comasio et al., 2021	<i>Candida glabrata</i> , <i>Pichia cecembesis</i> , <i>P. kudriavzevii</i> , <i>Pichia myanmarensis</i> , <i>S. cerevisiae</i> and <i>W. anomalus</i> (type II); <i>Saccharomyces cariocanus</i> , <i>Saccharomyces paradoxus</i> and <i>W. anomalus</i> (type III)	Type II and III
Costa et al., 2022	<i>Issatchenkia orientalis</i> and <i>K. unispora</i>	Type I
Di Cagno et al., 2014	<i>K. humilis</i> , <i>K. unispora</i> , <i>S. bayanus</i> and <i>S. cerevisiae</i>	Type I
Ercolini et al., 2013	<i>K. humilis</i> / <i>Kazachstania barnettii</i> , <i>S. bayanus</i> / <i>Kazachstania</i> spp., <i>S. cerevisiae</i> and <i>W. anomalus</i>	Type I
Fang et al., 2023	<i>S. cerevisiae</i>	Type II
Fekri et al., 2020	<i>Kluyveromyces aestuarii</i> , <i>Kluyveromyces lactis</i> and <i>K. marxianus</i>	Type I
Ferrara et al., 2021	<i>Saccharomyces</i> sp. and <i>Wickerhamomyces</i> sp.	Type II
Fraberger et al., 2020b	<i>K. humilis</i> , <i>K. unispora</i> , <i>P. fermentans</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>H. uvarum</i> , <i>Saccharomyces</i> spp. and <i>T. delbrueckii</i>	Type I

Franco et al., 2020	<i>K. servazzii</i>	Type I
Fujimoto et al., 2018	<i>S. cerevisiae</i>	Type I
Gaglio et al., 2020	<i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Candida phangngaensis</i> , <i>Naganishia álvida</i> , <i>Papiliotrema rajasthanensis</i> , <i>Rhodotorula graminis</i> , <i>Rhodotorula mucilaginoso</i> and <i>Vishniacozyma victoriae</i>	Type II
Gastrow et al., 2021	<i>K. bulderi</i> , <i>K. humilis</i> and <i>S. cerevisiae</i>	Not specified
Gordún et al., 2018	<i>Candida oleophila</i> , <i>Candida pararugosa</i> , <i>Cyberlindnera misumaiensis</i> , <i>Cystobasidium pinicola</i> , <i>H. uvarum</i> , <i>Pichia guilliermondii</i> , <i>S. cerevisiae</i> and <i>W. anomalus</i>	Type I
Gu et al., 2023	<i>S. cerevisiae</i>	Type II
Harth et al., 2016	<i>S. cerevisiae</i>	Type II
Iosca et al., 2020	<i>K. humilis</i> , <i>K. pseudohumilis</i> and <i>S. cerevisiae</i>	Type I
Katsi et al., 2021	<i>S. cerevisiae</i>	Type I
Korcari et al., 2020	<i>Clavispora lusitaniae</i> , <i>P. fermentans</i> , <i>S. cerevisiae</i> and <i>W. anomalus</i>	Type I
Landis et al., 2021	<i>Candida sake</i> , <i>K. humilis</i> , <i>K. servazzii</i> , <i>K. unispora</i> , <i>Naumovozyma castellii</i> , <i>Pichia membranifaciens</i> , <i>S. bayanus</i> , <i>S. cerevisiae</i> and <i>W. anomalus</i>	Type II
Lattanzi et al., 2013	<i>K. humilis</i> and <i>S. cerevisiae</i>	Type I
Lhomme et al., 2016	<i>Candida carpophila</i> , <i>Hyphopichia pseudoburtonii</i> , <i>K. bulderi</i> , <i>K. exigua</i> , <i>K. humilis</i> , <i>K. unispora</i> , <i>Rhodotorula spp.</i> and <i>T. delbruecki</i>	Type I
Li et al., 2016	<i>S. cerevisiae</i> , <i>Saccharomycopsis fibuligera</i> , <i>T. delbrueckii</i> and <i>W. anomalus</i>	Type I
Luti et al., 2021	<i>S. cerevisiae</i>	Type II
Manini et al., 2014	<i>P. fermentans</i>	Type I

Martorana et al., 2018	<i>K. humilis</i> , <i>S. cerevisiae</i> and <i>W. anomalus</i>	Type I
Mietton et al., 2022	<i>K. bulderi</i> , <i>S. cerevisiae</i> and <i>T. delbrueckii</i>	Type I
Minervini et al., 2015b	<i>K. exigua</i> and <i>S. cerevisiae</i>	Type I
Minervini et al., 2016	<i>S. cerevisiae</i>	Type I
Ogunsakin et al., 2017	<i>S. cerevisiae</i>	Type I
Oshiro et al., 2019	<i>K. unispora</i> , <i>S. cerevisiae</i> and <i>W. anomalus</i>	Type I
Palla et al., 2017	<i>C. milleri</i> , <i>D. bruxellensis</i> , <i>K. exigua</i> , <i>K. humilis</i> and <i>S. cerevisiae</i>	Type I
Palla et al., 2020	<i>Candida inconspicua</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. sake</i> , <i>K. humilis</i> , <i>P. fermentans</i> , <i>Prillingera fragicola</i> , <i>R. mucilaginosa</i> , <i>S. cerevisiae</i> and <i>Torulaspota quercuum</i>	Type I
Petkova et al., 2021	<i>K. barnettii</i> , <i>K. humilis</i> , <i>K. marxianus</i> , <i>S. cerevisiae</i> and <i>Yarrowia lipolytica</i>	Type I
Pino et al., 2022	<i>Candida boidinii</i> , <i>Candida diddensiae</i> , <i>Pichia kluyveri</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>T. delbrueckii</i> and <i>W. anomalus</i>	Type I
Pontonio et al., 2016	<i>K. barnettii</i> , <i>K. bulderi</i> , <i>K. exigua</i> , <i>K. humilis</i> , <i>K. unispora</i> , <i>Rhodototula glacialis</i> , <i>S. bayanus</i> and <i>S. cerevisiae</i>	Type I
Raimondi et al., 2017	<i>Candida</i> spp., <i>K. humilis</i> , <i>K. marxianus</i> , <i>S. cerevisiae</i> and <i>T. delbrueckii</i>	Type II
Reese et al., 2020	<i>Saccharomycetales</i> , <i>Debaryomyces hansenii</i> , <i>K. humilis</i> , <i>S. bayanus</i> , <i>S. cerevisiae</i>	Type I
Reidzane et al., 2021	<i>Saccharomyces</i> spp.	Type I
Ripari et al., 2016	<i>K. unispora</i> , <i>K. barnettii</i> , <i>S. cerevisiae</i> and <i>W. anomalus</i>	Type II
Sevgili et al., 2021	<i>C. carpophila</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>Candida kefir</i> , <i>Galactomyces candidum</i> , <i>Geotrichum candidum</i> , <i>K. humilis</i> , <i>K. marxianus</i> , <i>K. unispora</i> , <i>P. kudriavzevii</i> , <i>S. cerevisiae</i> and <i>W. anomalus</i>	Type II

Sidari et al. 2020	<i>K. humilis</i>	Type II
Syrokou, 2020	<i>K. humilis, P. fermentans, P. membranifaciens, S. cerevisiae</i> and <i>W. anomalus</i>	Type I
Syrokou, 2022	<i>K. humilis, P. fermentans, P. membranifaciens, S. cerevisiae</i> and <i>W. anomalus</i>	Type I
Urien et al., 2019	<i>C. tropicalis, K. barnettii, K. bulderi, K. humilis, Kazachstania saulgeensis, K. unispora</i> and <i>S. cerevisiae</i>	Type I
Van Kerrebroeck et al., 2016	<i>Candida santamariae, Cyberlindnera fabianii, K. barnettii, K. bulderi, K. exigua, P. kudriavzevii</i> and <i>W. anomalus</i>	Type I
Wang et al., 2020b	<i>K. humilis</i> and <i>S. cerevisiae</i>	Type I
Wang et al., 2023	<i>K. humilis</i> and <i>S. cerevisiae</i>	Type I
Yagmur et al., 2016	<i>C. parapsilosis, C. pararugosa, Pichia guilliermondii, S. cerevisiae</i> and <i>T. delbrueckii</i>	Type I
Yan et al., 2019	<i>C. tropicalis, K. humilis</i> and <i>S. cerevisiae</i>	Type I
Yang et al., 2021	<i>S. cerevisiae</i>	Not specified
Yu et al., 2018	<i>S. cerevisiae</i>	Type I
Zahra et al., 2022	<i>S. cerevisiae</i>	Type II
Zhang et al., 2015	<i>C. glabrata, I. orientalis, P. anomala, P. guilliermondii, Rhodotorula aurantiaca, S. cerevisiae, S. fibuligera, T. delbrueckii</i> and <i>W. anomalus</i>	Type I
Zhang et al., 2019	<i>C. tropicalis, Cyberlindnera jadinii, K. humilis, S. cerevisiae, T. delbrueckii</i> and <i>W. anomalus</i>	Type II
Zhou et al., 2022	<i>Pichia spp.</i> and <i>Wickerhamomyces spp.</i>	Type I

## **CAPÍTULO 2: Influência de seis diferentes farinhas de trigo brasileiras na modulação do consórcio microbiano do fermento *sourdough***

### **Resumo**

Bactérias, especialmente as bactérias lácticas (BAL), e leveduras são responsáveis pela fermentação do *sourdough*. A farinha atua como fonte de microrganismos, crucial para estabelecer a microbiota. Não há estudos investigando como diferentes farinhas de trigo brasileiras modulam a microbiota do *sourdough*. Este estudo explora a dinâmica microbiana e físico-química de *sourdough* elaborados a partir de seis farinhas de trigo brasileiras distintas, com o objetivo de investigar se as variações nas matérias-primas influenciam os consórcios microbianos do fermento *sourdough*. Foram realizadas análises físico-químicas e microbiológicas; a dinâmica populacional foi estudada utilizando métodos dependentes e independentes de cultivo. Os resultados de sequenciamento de amplicon mostraram que BAL compõem a microbiota das farinhas, especialmente *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactobacillus sakei* e *Pediococcus* sp. Foram observadas diferenças no consórcio bacteriano de acordo com os tipos de farinha e sistema agrícola. Nenhuma espécie de levedura foi identificada como autóctone das farinhas, potencialmente explicando a limitada biodiversidade deste grupo microbiano. Leveduras não típicas predominaram em alguns *sourdough* maduros. *Meyerozyma guilliermondi*, *Rhodotorula mucilaginosa* e *Wickerhamomyces anomalus* foram identificados como dominantes apenas em *sourdough* preparados com farinha branca, enquanto *Candida glabrata* esteve presente naqueles produzidos com farinha integral. As diferenças das comunidades microbiana dos *sourdough* foram relacionadas à matéria-prima, que pode desempenhar um papel importante na composição da microbiota e, conseqüentemente, nas características intrínsecas relevantes para a fermentação *sourdough*.

**Palavras-chave:** Microrganismos. Bactéria láctica. Leveduras. Dinâmica populacional.

## 1. Introdução

*Sourdough* consiste em uma mistura de farinha de cereais (principalmente trigo) e água, fermentado espontaneamente por bactérias lácticas (BAL) e leveduras. A massa fermentada resultante é utilizada como agente fermentativo de panificados (Minervini et al., 2014). Por muitos séculos, anteriormente à industrialização, a fermentação natural foi o processo básico para produção de pães; porém, com o aumento do consumo, a tecnologia foi em grande parte substituída pelo uso do fermento convencional (*Saccharomyces cerevisiae*), muitas vezes referenciado como “fermento de padeiro”. Na última década, contudo, a fermentação natural foi reintroduzida no setor de panificação, tanto em âmbito artesanal quanto, em menor escala, industrial. Este fenômeno foi impulsionado pela popularização dos pães tipo *sourdough*, cujos atributos sensoriais diferenciados, não utilização de conservantes e aspectos nutricionais aprimorados atenderam à crescente demanda por alimentos funcionais e *clean label* (Brandt, 2019; Arora et al., 2021; Canesin and Cazarin, 2021).

Atualmente, os fermentos *sourdough* são classificados em quatro tipos, a depender do método aplicado na produção. O tradicional (tipo I) é obtido por fermentação espontânea e são necessárias várias etapas de retroalimentação (*backslipping*) para ativação da microbiota. Por se tratar de fermentação espontânea, a composição do consórcio microbiano é amplamente variável, influenciada por vários fatores, como tipo de farinha, ambiente de produção e parâmetros tecnológicos do processo. Todos esses fatores, assim como a interação entre eles, são imprescindíveis para o estabelecimento de uma microbiota específica para cada *sourdough*, conferindo propriedades e padrões de qualidade distintos (Garofalo et al., 2008).

A farinha pode impactar na fermentação devido à abundância e tipo de carboidratos fermentescíveis, aminoácidos livres e teor de vitaminas e minerais, afetando, inclusive, as características tecnológicas e o valor nutricional do produto (Hammes et al., 2005). A região de origem, genótipo, época de colheita e estado fisiológico impactam na composição nutricional dos grãos de trigo. Essas variações se refletem na farinha de trigo, que apresenta composição distinta. Em 2022, o Brasil encerrou a safra tritícola com 9,5 milhões de toneladas, valor 18% maior que no ano anterior. Contudo, a colheita de 2022 atendeu a cerca de 76% da demanda nacional. A tendência é que a produção de trigo brasileiro continue crescendo, reduzindo, dessa forma, a dependência da importação (Embrapa, 2022). No entanto, diante da

necessidade de importação do cereal, produtores brasileiros de farinha acabam misturando grãos nacionais e estrangeiros, resultando em farinhas miscigenadas com particularidades distintas (Siepmann et al., 2019).

Considerando-se que a farinha é um dos principais direcionadores da microbiota do fermento *sourdough* (Minervini et al., 2018; Ercolini, 2013), compreender como esta é impactada pela diversidade da microbiota autóctone da matéria-prima fornece *insights* relevantes para a indústria da panificação *sourdough*. Trabalhos avaliando farinhas nacionais no contexto da modulação da microbiota do fermento *sourdough* foram realizados, até o momento, apenas na Albânia e no Irã (Nionelli et al., 2014; Pontonio et al., 2015). Estudos sobre os pães de fermentação natural ainda são relativamente limitados no Brasil; assim, até o presente momento, não há trabalhos publicados que tenham investigado a influência de diferentes farinhas brasileiras no estabelecimento do consórcio microbiano do fermento maduro. Nesta perspectiva, o objetivo deste estudo foi investigar a influência de seis diferentes farinhas de trigo brasileiras no ecossistema dos fermentos e suas características microbiológicas e físico-químicas.

## **2. Material e métodos**

### **2.1 Escolha das farinhas**

A seleção das farinhas utilizadas neste estudo foi realizada com base em um levantamento conduzido junto a produtores de pães de fermentação natural no Brasil. Para isso, foi elaborado um formulário utilizando a plataforma *Google Forms*, disponibilizado aos produtores participantes através de redes sociais. A partir das respostas obtidas, uma amostragem aleatória permitiu contemplar diferentes regiões. As perguntas centraram-se nas farinhas brasileiras utilizadas nas formulações, com espaço não obrigatório destinado ao preenchimento de suas características. As respostas obtidas foram analisadas quanto à frequência de menção de cada tipo de farinha. Com base nessa análise, foram selecionadas as três farinhas integrais e as três farinhas brancas mais citadas pelos produtores e que são produzidas no Brasil.

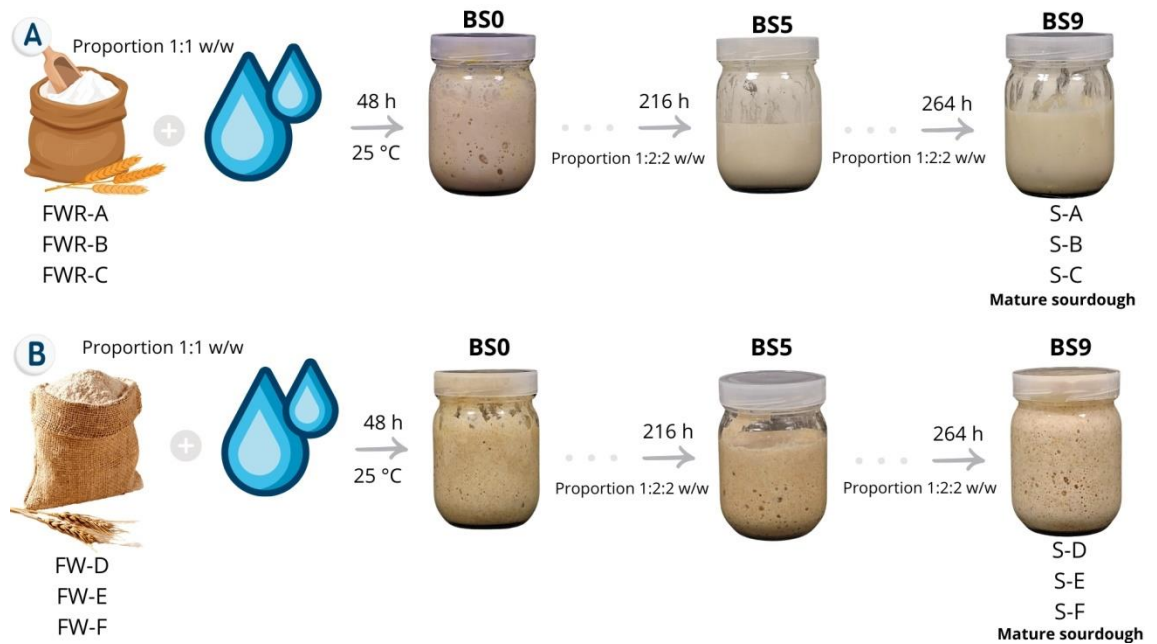
## 2.2 Farinhas

No total, 6 farinhas de trigo brasileiras, 3 brancas refinadas (FWR-A, FWR-B e FWR-C) e 3 integrais (FW-D, FW-E e FW-F) foram objeto de estudo deste trabalho. As farinhas refinadas utilizadas foram Dallas<sup>®</sup>, Gebana Branca<sup>®</sup> e Rosa Branca<sup>®</sup>, enquanto as integrais foram Biorgânica<sup>®</sup>, Fazenda Vargem<sup>®</sup> e Gebana Integral<sup>®</sup>, todas aleatoriamente codificadas nas respectivas siglas. FWR-C, FW-D e FW-E são produzidas em condições de agricultura orgânica (sem uso de pesticidas, herbicidas, fungicidas e fertilizantes químicos), enquanto as demais, pelo sistema convencional. As farinhas orgânicas possuem certificado de produção orgânica para o mercado brasileiro. Antes das farinhas serem utilizadas na propagação do fermento, as mesmas foram peneiradas para retirada de eventuais impurezas.

## 2.3 Propagação do fermento *sourdough*

Para cada farinha, um fermento *sourdough* foi produzido, totalizando-se seis diferentes fermentos, denominados S-A, S-B, S-C, S-D, S-E e S-F. Os *sourdough* foram produzidos no Laboratório de Microbiologia de Produtos Fermentados (FERMICRO), da Universidade Federal de Viçosa, de acordo com o protocolo de Menezes et al. (2020), com modificações, conforme esquematizado na Figura 1. Todos os fermentos *sourdough* foram preparados por fermentação espontânea, sem adição de cultura *starter*, com massa firme (Dough Yield = 200), a partir de repetidas etapas de retroalimentação. Farinha e água destilada foram inicialmente misturadas (1:1 w/w), fermentadas por 48 h a 25°C em incubadora tipo BOD (Nova Ética, modelo 411 D). Ao todo, nove etapas de *backslopping* foram realizadas, com intervalos de tempo distintos entre cada etapa, conforme destacado na Figura 2. Para cada etapa, dois fermentos *sourdough* foram produzidos, compreendendo replicatas biológicas. Uma porção da massa previamente fermentada foi utilizada como inóculo para a etapa subsequente, misturada com farinha de trigo e água, na proporção FD:água:farinha de trigo de 1:2:2 w/w. Todas as condições (tempo e temperatura) e quantidade de farinha, FD e água foram iguais para todas as amostras. A dinâmica microbiana dos fermentos *sourdough* foi monitorada ao longo de 264h de propagação, de acordo com o tempo de alimentação entre cada etapa, sendo suficientes para a obtenção dos *sourdough* maduros, com valores de pH e acidez

titulável (AT) estáveis. Em relação ao procedimento de amostragem, frações do BS0, BS5 e BS9 foram delimitadas como pontos amostrais para as análises descritas a seguir.



**Figura 1:** Esquema de produção dos fermentos *sourdough*. Ao todo foram produzidos seis *sourdough*: A) três elaborados com farinha refinada branca (FWR-A, FWR-B e FWR-C); B) três com integral (FW-D, FW-E e FW-F). Os estágios BS0, BS5 e BS9 referem-se aos pontos de amostragem. Obs.: proporção 1:1 = farinha:água; proporção 1:2:2 = *sourdough*:farinha:água.



**Figura 2:** Progressão das etapas de *backslopping* ao longo do intervalo de tempo. BS = *backslopping*.

## 2.4 Análises físico-químicas

Os valores de pH de todas as etapas de *backslopping* foram determinados em pHmetro (ION, modelo pHB 500, Paraná, Brasil). Acidez titulável (AT) foi determinada após homogeneização de 10 g de fermento *sourdough* com 90 mL de água destilada e expresso como a quantidade de NaOH 0,1 M (mL) necessária para alcançar o ponto em que a coloração rosa foi mantida por 30 s, utilizando-se fenolftaleína 0,1% como indicador (Yin et al., 2015). As medidas foram realizadas em todas as etapas do processo fermentativo, em duas replicatas biológicas e técnicas.

## 2.5 Enumeração e isolamento de BAL e leveduras

Dez gramas do fermento nos estágios BS0, BS5 e BS9 foram homogeneizados com 90 mL de solução salina (0.85% w/v) peptonada (0.1% w/v) por 2 min em homogeneizador de alimentos (LOGEN SCIENTIFIC, model LS-190 1N, São Paulo, Brazil). Diluições decimais seriadas foram obtidas e alíquotas de cada uma delas foram plaqueadas, em duplicata, nos meios de cultura Man, Rogosa e Sharpe (MRS) (KASVI®, Italy), Wheat Flour Agar Medium Refined (WFAM R) (farinha de trigo branca 3% e ágar 2%) e Wheat Flour Agar Medium Whole (WFAM W) (farinha de trigo integral 3% e ágar 2%), de acordo com Menezes et al. (2020), para contagem de bactérias lácticas; para leveduras, foi utilizado meio YGC (20% glicose, 5% extrato de levedura e 15% ágar) acrescido de 1% cloranfenicol. O WFAM foi utilizado com objetivo de se obter um meio mais similar à matéria-prima e, assim, facilitar o isolamento de microrganismos sub-dominantes e fastidiosos. Placas para BAL foram incubadas a 30 °C por 48 h em jarras de anaerobiose, sobre condições anaeróbicas; para leveduras, 28 °C durante 48 h em aerobiose. Os resultados foram expressos como log UFC.g<sup>-1</sup>. Para cada ponto de amostragem, foram selecionadas aleatoriamente ao menos cinco potenciais colônias de BAL e leveduras, a partir das placas contendo as duas maiores diluições em que as colônias apresentaram número adequado para contagem (de cada uma das replicatas) dos fermentos. Após, as leveduras foram avaliadas morfológicamente através de observações microscópicas. Quanto às BAL, as colônias selecionadas foram avaliadas quanto aos testes de catalase e coloração de Gram. Os isolados que foram caracterizados como BAL e leveduras nos testes realizados foram

preservados em glicerol e armazenados na Coleção de Culturas do FERMICRO/UFV para análises futuras, incluindo identificação por sequenciamento e avaliação de desempenho tecnológico.

## 2.6 Performance fermentativa dos *sourdough*

Para avaliar a performance fermentativa de cada fermento *sourdough*, 50 g foram transferidos para uma proveta graduada de 500 mL a fim de se acompanhar a capacidade de expansão da massa. Concomitantemente, o crescimento de cada fermento foi acompanhado em frascos graduados de baixa precisão, com o mero objetivo de se obterem registros fotográficos que ilustrassem o andamento do processo fermentativo. O volume (em mL) foi anotado imediatamente após realizada a retroalimentação e monitorado ao longo de 6 h de fermentação. As quantidades de água, farinha e FD foram iguais para todos os fermentos (10 g FD:20 g água:20 g farinha), assim como as condições de incubação. A cada intervalo de 1 hora, os recipientes contendo cada um dos fermentos foram fotografados. A performance fermentativa foi calculada utilizando-se a seguinte fórmula:  $[(VF - VI)/VI] \times 100$ , onde VF é o volume final após 6 h de fermentação e VI é o volume inicial (Zannini et al., 2009).

## 2.7 Análise metataxonômica

Para avaliar a composição da comunidade bacteriana e fúngica das farinhas e durante o desenvolvimento dos fermentos *sourdough* (etapas BS0, BS5 e BS9), realizou-se sequenciamento de amplicon de alto rendimento. O DNA total foi extraído de acordo com Vogelmann e Hertel (2011), com modificações. Amostras de 1 g de farinha ou fermento foram lisadas com tampão contendo 2% triton X-100, 1% sodium dodecyl sulfate (SDS) 20%, 100 mM NaCl, 10 mM Tris-HCl (pH 8) e 1 mM EDTA 0,5M (pH 8) (Harju, Fedosyuk & Peterson, 2004); a lise enzimática foi substituída pela mecânica, realizada em minibeadbeater (BIOSPEC PRODUCTS, Bartlesville, Oklahoma, USA), com esferas de zircônio de 0,5 mm de diâmetro. Antes da extração do DNA, o DNA cadavérico das amostras foi removido conforme Gatti et al. (2008). Para esta purificação, duas abordagens foram empregadas: i) a amostra foi filtrada em membrana de 0.22 µm, resultando na obtenção de uma fração contendo exclusivamente DNA livre de células lisadas; e ii) um tratamento com DNase foi realizado antes do

procedimento de lise das células, visando à degradação do DNA livre e à preservação apenas das células viáveis. Neste estudo, apenas o DNA derivado de células viáveis, ou seja, não submetido à filtração e tratamento com DNase foi utilizado nas análises subsequentes. O DNA extraído foi quantificado em NanoDrop (Thermo Scientific NanoDrop®, USA), cuja qualidade foi verificada por eletroforese em gel de agarose (0.8%) corado com brometo de etídio (0,5 µg/mL) e visualizado sob luz UV no sistema de imagem de documentação fotográfica com luz ultravioleta (Loccus Biotechnologic L-Pix Chemi). O DNA foi sequenciado, utilizando, para bactérias, a região hipervariável V3-V4 do gene 16S rRNA foi amplificada usando os primers 341F (CCTAYGGGRSGCAGCAG) e 806R (GGACTACNNGGGTATCTAAT). Para fungos, a amplificação da região ITS1 usando os primers ITS1-1F-F (CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA) e ITS1-1F-R (GCTGCGTTCTTCATCGATGC) foi realizada. A montagem das bibliotecas e os sequenciamentos foram realizados pela NovoGene Corporation (Beijing, China) na plataforma Illumina MiSeq (2x150 bp paired-end reads). As leituras de sequência bruta de todas as amostras foram submetidas ao Sequence Read Archive (SRA) do NCBI sob o número de acesso do BioProject PRJNA1135168.

## 2.8 Análises de bioinformática

Os dados do sequenciamento foram processados no pacote de software Quantitative Insights into Microbial Ecology (QIIME2) (Caporaso et al., 2010). Inicialmente, as leituras obtidas no sequenciamento foram demultiplexadas e aparadas nas extremidades para remoção dos *primers*. Leituras com índice de qualidade médio inferior a 25, inferiores a 300 pb ou com bases ambíguas foram excluídas das análises, bem como os *singletons*. Sequências derivadas de DNA mitocondrial e de cloroplastos foram também identificadas e removidas. As unidades taxonômicas operacionais (OTU) foram definidas por uma identidade de 97%. As OTUs foram avaliadas utilizando-se banco de dados SILVA 132 para bactérias e UNITE 8.2 para fungos (Rizzello et al., 2015). Os resultados gerados foram utilizados para calcular as diversidades alfa (índice de riqueza Chao1, índices de diversidade de Shannon e Simpson) e beta no software R (v. 4.2.2) por meio do pacote *phyloseq* (McMurdie e Holmes, 2013).

## 2.9 Análises estatísticas

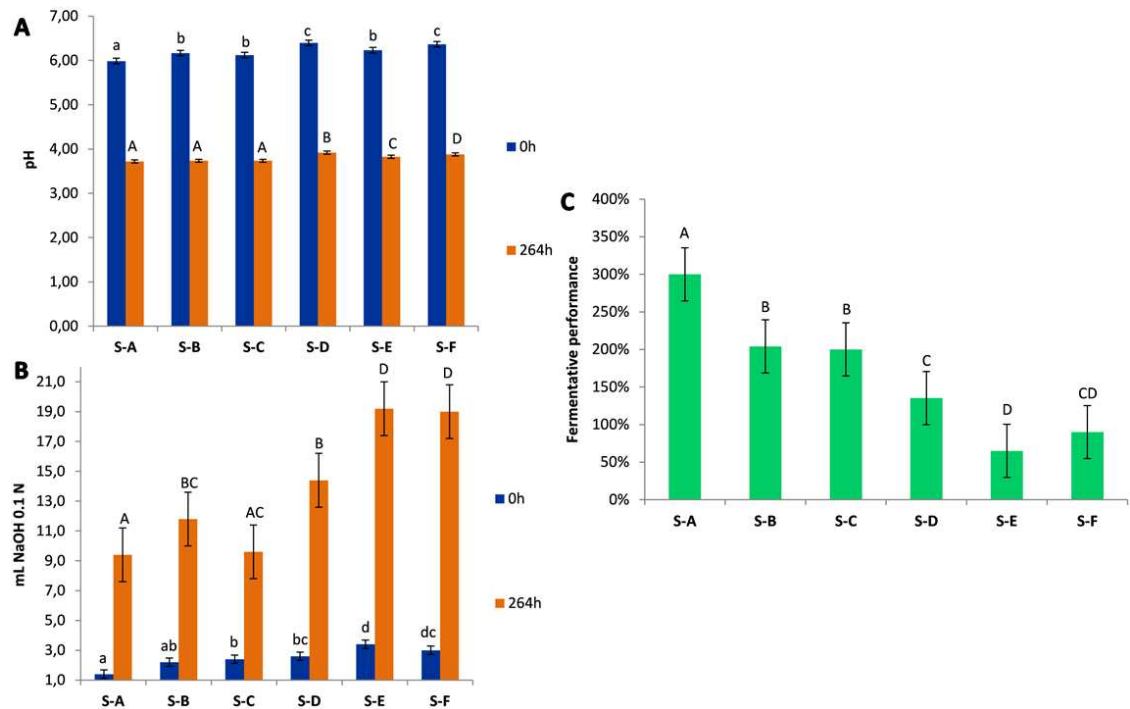
Os resultados de pH, AT, performance fermentativa e densidade celular microbiana foram submetidos à análise de variância (ANOVA) ( $p < 0,05$ ); teste de Tukey foi utilizado na comparação de médias. A análise foi realizada em software R (versão 4.2.2).

## 3. Resultados

### 3.1 Características físico-químicas do *sourdough*

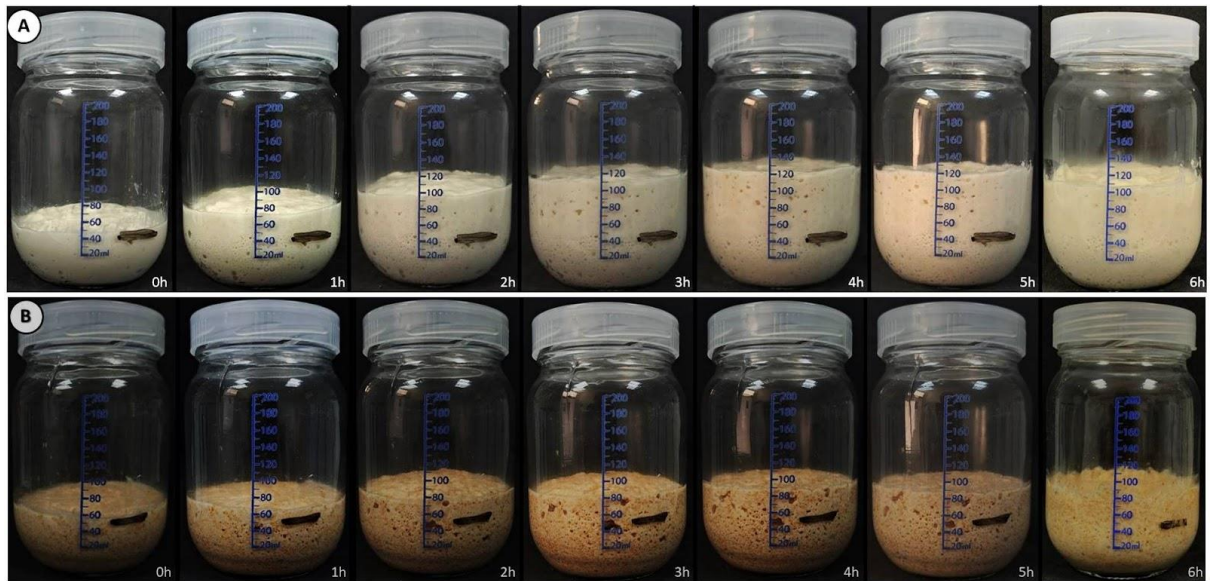
O pH inicial da massa variou de 5,99 (S-A) a 6,40 (S-D) previamente à fermentação (0h), com maiores valores para as massas produzidas com FW (Figura 3A). Ao final das etapas de *backslopping* (BS9), o pH variou de 3,72 (S-A) a 3,92 (S-D), com os maiores valores também para as massas obtidas a partir de farinhas integrais. Decréscimo de pH mais acentuado foi observado nas primeiras 48 h de fermentação. Em relação aos *sourdough* produzidos com FWR, destaca-se um decréscimo, em média, nos valores de pH de 6,09 (0h) a 3,73 após 264h. Consequentemente, os valores de AT aumentaram, em média, de 1,83 (0h) a 10,3 mL de 0,1 M NaOH/10g após 264h, respectivamente, 0,31 (0h) a 1,75 (264h) % de ácido lático. Os *sourdough* com FW apresentaram valores de pH, em média, variando de 6,33 (0h) a 3,88 (264h), e a AT de 3,0 (0h) a 17,5 mL (264h) de 0,1 M NaOH/10 g, respectivamente, 0,51 (0h) a 2,97 (264h) % de ácido lático.

Entre as massas não fermentadas (0h) elaboradas com farinha branca refinada, não houve diferença significativa no que se refere ao pH para as amostras produzidas com FWR-B e FWR-C. A massa não fermentada produzida com FWR-A foi a que apresentou o menor valor de pH (5,9), diferindo das demais ( $p < 0,05$ ). Entre as massas não fermentadas (0h) produzidas com farinha integral, não houve diferenças estatísticas entre as produzidas com FW-D e FW-F. FW-E, por sua vez, apesar de ser integral, não diferiu das refinadas FWR-B e FWR-C. O pH dos *sourdough* com 264h de fermentação (BS9) não diferiu significativamente entre os produzidos com FWR, apresentando média de 3,73. Por outro lado, todos os fermentos integrais diferiram si e entre aqueles produzidos com farinha refinada, com pH variando de 3,83 (S-E) a 3,92 (S-D) (Figura 3A).



**Figura 3:** Características físico-químicas dos fermentos *sourdough* (após mistura da água e farinha – 0 h e após fermentação – 264 h). A) Valores de pH para 0 h e 264 h; B) Valores de AT (em mL de NaOH 0,1 M) para 0 h e 264 h; C) performance fermentativa. Letras minúsculas em A e B estão comparando, entre os *sourdough*, o efeito no tempo 0 h, enquanto letras maiúsculas, no tempo 264 h. Letras diferentes nas barras indicam diferenças significativas entre os produtos ( $p < 0.05$ ).

A Figura 4 demonstra os resultados fotográficos para a expansão dos fermentos *sourdough* elaborados com FWR-A (A) e FW-E (B) (*nem todos os resultados demonstrados*). As performances fermentativas foram: 300% para S-A; 204% para S-B; 200% S-C; 135,25% S-D; 65% S-E e 90% para S-F (Figura 3C). Fermentos elaborados com FWR apresentaram a maior expansão. S-A apresentou o melhor desempenho, diferindo de todos. S-E apresentou a menor expansão dentre os fermentos avaliados (65%).



**Figura 4:** Performance fermentativa, pelo método fotográfico, de dois fermentos *sourdough*, a título de exemplo. (A): *sourdough* produzido com FWR-A; (B): *sourdough* produzido com FW-E.

### 3.2 Enumeração de bactérias lácticas e leveduras

Os resultados da enumeração dos microrganismos dos fermentos estão apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1:** Densidade celular de bactérias lácticas e leveduras (log UFC.g<sup>-1</sup>) nas etapas de retroalimentação durante a propagação do fermento natural em diferentes meios de cultura. Experimentos conduzidos em duplicata. BS = backslopping; WFAM R = farinha de trigo branca + ágar; WFAM W = farinha de trigo integral + ágar; FWR = farinha branca refinada; FW = farinha integral; S = *Sourdough*.

Etapa	Bactérias lácticas (BAL) (log UFC.g <sup>-1</sup> )			Leveduras (log UFC.g <sup>-1</sup> )	
	MRS	WFAM R	WFAM W	YGC	
S-A	FWR-A	3.46 ± 0.03 <sup>a</sup>	2.99 ± 0.30 <sup>a</sup>	3.29 ± 0.08 <sup>a</sup>	2.30 ± 0.43 <sup>a</sup>
	BS0 (48h)	8.47 ± 0.06 <sup>b</sup>	8.51 ± 0.14 <sup>b</sup>	7.48 ± 0.12 <sup>b</sup>	4.89 ± 0.08 <sup>b</sup>
	BS5 (216h)	10.01 ± 0.04 <sup>c</sup>	7.42 ± 0.03 <sup>c</sup>	7.75 ± 0.06 <sup>b</sup>	4.17 ± 0.18 <sup>b</sup>
	BS9 (264h)	9.54 ± 0.06 <sup>d</sup>	8.71 ± 0.05 <sup>b</sup>	6.01 ± 0.15 <sup>c</sup>	6.78 ± 0.25 <sup>c</sup>
S-B	FWR-B	2.87 ± 0.05 <sup>a</sup>	3.04 ± 0.19 <sup>a</sup>	3.23 ± 0.00 <sup>a</sup>	3.33 ± 0.07 <sup>a</sup>
	BS0 (48h)	8.18 ± 0.03 <sup>b</sup>	6.86 ± 0.36 <sup>b</sup>	9.54 ± 0.11 <sup>b</sup>	3.95 ± 0.24 <sup>b</sup>
	BS5 (216h)	10.20 ± 0.03 <sup>c</sup>	7.94 ± 0.06 <sup>c</sup>	7.99 ± 0.04 <sup>c</sup>	7.53 ± 0.04 <sup>c</sup>
	BS9 (264h)	10.73 ± 0.08 <sup>d</sup>	6.62 ± 0.05 <sup>b</sup>	8.28 ± 0.03 <sup>d</sup>	7.91 ± 0.07 <sup>c</sup>
S-C	FWR-C	3.88 ± 0.58 <sup>a</sup>	2.97 ± 0.10 <sup>a</sup>	2.80 ± 0.03 <sup>a</sup>	2.95 ± 0.07 <sup>a</sup>
	BS0 (48h)	8.29 ± 0.01 <sup>b</sup>	7.56 ± 0.04 <sup>b</sup>	7.56 ± 0.03 <sup>b</sup>	3.40 <sup>b*</sup>
	BS5 (216h)	9.34 ± 0.01 <sup>c</sup>	5.15 ± 0.11 <sup>c</sup>	4.96 ± 0.26 <sup>c</sup>	4.90 ± 0.05 <sup>c</sup>
	BS9 (264h)	10.05 ± 0.01 <sup>d</sup>	6.10 ± 0.14 <sup>d</sup>	6.73 ± 0.09 <sup>d</sup>	6.32 ± 0.31 <sup>d</sup>
S-D	FW-D	1.56 ± 0.11 <sup>a</sup>	3.18 ± 0.14 <sup>a</sup>	3.70 ± 0.06 <sup>a</sup>	3.02 ± 0.09 <sup>a</sup>
	BS0 (48h)	8.51 ± 0.07 <sup>b</sup>	8.35 ± 0.05 <sup>b</sup>	8.45 ± 0.03 <sup>b</sup>	5.77 ± 0.11 <sup>b</sup>
	BS5 (216h)	10.74 ± 0.05 <sup>c</sup>	7.64 ± 0.09 <sup>b</sup>	6.66 ± 0.09 <sup>c</sup>	5.46 ± 0.02 <sup>b</sup>
	BS9 (264h)	10.64 ± 0.05 <sup>c</sup>	9.57 ± 0.74 <sup>bc</sup>	9.25 ± 0.02 <sup>d</sup>	9.34 ± 0.04 <sup>c</sup>
S-E	FW-E	2.69 ± 0.15 <sup>a</sup>	3.29 ± 0.20 <sup>a</sup>	4.18 ± 0.07 <sup>a</sup>	3.37 ± 0.27 <sup>a</sup>
	BS0 (48h)	10.56 ± 0.03 <sup>b</sup>	7.60 ± 0.02 <sup>b</sup>	5.80 ± 0.14 <sup>b</sup>	4.82 ± 0.08 <sup>b</sup>
	BS5 (216h)	10.60 ± 0.04 <sup>b</sup>	7.83 ± 0.00 <sup>b</sup>	7.36 ± 0.11 <sup>c</sup>	5.96 ± 0.01 <sup>c</sup>
	BS9 (264h)	9.67 ± 0.75 <sup>b</sup>	8.73 ± 0.08 <sup>c</sup>	8.77 ± 0.01 <sup>d</sup>	8.52 ± 0.03 <sup>d</sup>
S-F	FW-F	1.60 ± 0.17 <sup>a</sup>	2.72 ± 0.17 <sup>a</sup>	2.48 ± 0.17 <sup>a</sup>	2.00 ± 0.00 <sup>a</sup>
	BS0 (48h)	9.89 ± 0.08 <sup>b</sup>	9.40 ± 0.06 <sup>b</sup>	8.81 ± 0.08 <sup>b</sup>	0.35 ± 0.49 <sup>b</sup>
	BS5 (216h)	10.92 ± 0.03 <sup>c</sup>	8.26 ± 0.04 <sup>c</sup>	8.26 ± 0.02 <sup>c</sup>	7.49 ± 0.01 <sup>c</sup>
	BS9 (264h)	10.87 ± 0.07 <sup>c</sup>	8.68 ± 0.08 <sup>c</sup>	8.79 ± 0.03 <sup>b</sup>	8.51 ± 0.02 <sup>d</sup>

\* Valor referente ao limite de detecção da técnica (*spread plate*). <sup>a-d</sup> Valores marcados com letras minúsculas diferentes para cada farinha na mesma coluna são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

Na Tabela 1, as significâncias estatísticas das contagens microbianas foram obtidas independentemente para cada farinha e fermento *sourdough* em cada meio de cultivo utilizado. Como esperado, a contagem de BAL foi significativamente ( $p < 0.05$ ) menor nas matérias-primas em comparação com o respectivo fermento em seu último estágio (BS9), para todas as farinhas analisadas. Nas matérias-primas (RW), a densidade celular de BAL em MRS, WFAM R e WFAM W variou de 3,88 (FWR-C) a 1,56 (FW-D), 3,29 (FW-E) a 2,72 (FW-F) e de 4,18 (FW-E) a 2,48 (FW-F) log UFC.g<sup>-1</sup>, respectivamente. FW-F refletiu na menor contagem para RW em todos os meios de cultura utilizados para enumeração de bactérias.

Entre os diferentes pontos amostrados (BS0, BS5 e BS9) (Tabela 1) houve diferença para todos BS no meio MRS para S-A, S-B e S-C; para S-D e S-F, BS5 não diferiu do BS9; para S-E, a única diferença estatística foi entre RW e as etapas de *backslopping*; portanto, não houve diferença significativa entre BS0, BS5 e BS9, com altas populações no primeiro estágio (BS0). No meio WFAM R, S-A e S-B não apresentaram diferenças significativas entre BS0 e BS9; S-C, todos os pontos diferiram estatisticamente ( $p < 0.05$ ); S-D e S-E, BS0 e BS5 não diferiram estatisticamente ( $p > 0.05$ ), no entanto, diferindo de BS9; S-F, BS5 e BS9 não diferiram entre si e foram menores que o BS0 ( $p > 0.05$ ). Por fim, no meio WFAM W, para S-A não foi observado diferenças significativas entre BS0 e BS5, enquanto que o BS9 diferiu estatisticamente, apresentando menor log UFC.g<sup>-1</sup> (6,01) que os demais; para S-B, S-C, S-D e S-E todos os pontos diferiram entre si ( $p < 0.05$ ); já para S-F, BS0 e BS9 não diferiram ( $p > 0.05$ ), por sua vez, BS5 diferiu de ambos e apresentou menor log UFC.g<sup>-1</sup> (8,26).

Com apenas 48 h de fermentação (BS0), maior densidade celular de BAL, em comparação com RW, foi observada, com S-F atingindo valores 6,2 x maiores no meio MRS, seguido por S-D e S-E, que foram 5,5 e 3x maiores que suas matérias-primas, respectivamente. Depois de 216h de propagação (BS5), densidades celulares de BAL atingiram valores variando de 9,34 (S-C) a 10,92 (S-F) log UFC.g<sup>-1</sup> em meio MRS; 5,15 (S-C) a 8,26 (S-F) log UFC.g<sup>-1</sup> em meio WFAM R e 4,96 (S-C) a 8,26 (S-F) log UFC.g<sup>-1</sup> em meio WFAM W. De BS5 a BS9, constatou-se pequena variação nas densidades bacterianas. S-A reduziu 0,47 log UFC.g<sup>-1</sup>, FWR-B aumentou 0,53 log UFC.g<sup>-1</sup>, S-C aumentou 0,71 log UFC.g<sup>-1</sup>, S-D aumentou 1 log UFC.g<sup>-1</sup>, S-E diminuiu 0,9 log UFC.g<sup>-1</sup> e S-F diminuiu 0,05 log UFC.g<sup>-1</sup>, permanecendo quase constante.

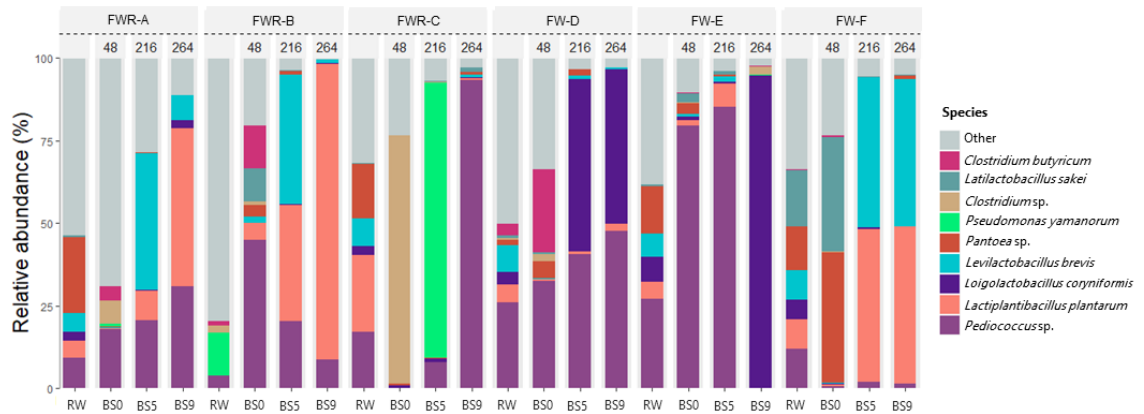
As contagens de microrganismos viáveis no BS9 foram, em geral, maiores no meio de cultura MRS para S-A, S-B, S-C e S-F. S-D e S-E não resultaram em

diferenças significativas na contagem bacteriana entre os meios avaliados. Fermentos à base de farinhas refinadas brancas apresentaram contagens menores nos meios WFAM (R e W) em comparação ao meio MRS, diferentemente do observado para as farinhas integrais D e E, as quais não demonstraram diferenças significativas entre os meios de cultura ( $p > 0.05$ ). Em relação à comparação entre os BS9 de cada *sourdough*, S-A não diferiu de S-C e S-E, que não diferiram entre si. S-C, ainda não diferiu de S-D, que não diferiu de S-B e S-F, que também não diferiram entre si.

Fungos filamentosos foram observados em FWR-A e FWR-B (*resultados não demonstrados*). Leveduras foram encontradas, variando de 2,0 (S-F) a 3,37 (S-E) log UFC.g<sup>-1</sup> (Tabela 1) nas matérias-primas. BS9 de S-D apresentou maior contagem entre os fermentos produzidos tanto com FW quanto com FWR, valor correspondente à 9,34 log UFC.g<sup>-1</sup>. O número de leveduras aumentou durante a propagação: no BS9, contagem de 6,78 e 6,32 log UFC g<sup>-1</sup> foram encontradas para S-A e S-C, respectivamente, sem diferenças significativas entre si; para S-B 7,91 log UFC g<sup>-1</sup>. Já para as FW, foram registradas maiores contagens comparada às FWR, sendo os valores iguais à: S-D 9,34 log UFC.g<sup>-1</sup>, S-E 8,52 log UFC.g<sup>-1</sup> e S-F 8,51 log UFC.g<sup>-1</sup>, sendo que S-E não diferiu de S-F, por sua vez, S-D diferiu de todos. As maiores contagens foram para S-D e S-E, enquanto as menores para S-A e S-C.

### **3.4 Dinâmica da microbiota *sourdough* baseada no sequenciamento de genes das regiões 16S rRNA e 18S rRNA**

A cobertura amostral estimada (valor mediano de cerca de 99%) indicou que foi alcançada uma cobertura satisfatória para todas as amostras analisadas. Os consórcios bacterianos das farinhas identificados a partir dos resultados do sequenciamento mostraram-se distintos entre si. Abundância relativa (%) de espécies bacterianas durante as etapas de *backslipping* dos fermentos *sourdough* está representada na Figura 5.



**Figura 5:** Abundância relativa (%) de espécies bacterianas durante as etapas de *backslopping* dos fermentos *sourdough* após 48, 216 e 264 horas. RW: matéria-prima; BS: retroalimentação.

Apenas espécies pertencentes ao filo *Firmicutes* e *Proteobacteria* foram identificadas nas farinhas. Em FWR-A, no consórcio bacteriano foi identificado 6 diferentes gêneros, sendo *Pantoea* sp. (família *Erwiniaceae*) o predominante nesta farinha; já para FWR-B, apenas 3 gêneros foram identificados, dois do filo *Firmicutes* (*Clostridium* sp. e *Pediococcus* sp.) e um do filo *Proteobacteria* (*Pseudomonas* sp.), o predominante. Na amostra FWR-C, 6 diferentes gêneros foram detectados, 5 deles correspondendo ao filo *Firmicutes*, com maior abundância de *Lactiplantibacillus*, representado pela espécie *L. plantarum*, seguido de *Pediococcus* sp. e *Pantoea* sp.; já para FW-D, 7 gêneros distintos foram identificados, com predomínio de *Pediococcus*. Na amostra FW-E, 6 diferentes gêneros foram detectados, com predomínio também de *Pediococcus*; e, por fim, a amostra FW-F, assim como FW-D, 7 diferentes gêneros, com predomínio de *Latilactobacillus* (*L. sakei*), foram detectados. *Pediococcus* sp. apresentou a maior frequência nas matérias-primas, tendo sido identificado em todas elas. *Levilactobacillus brevis*, *Loigolactobacillus coryniformis* e *L. plantarum* só não foram detectadas em FWR-B. FWR-B e FW-D apresentaram o maior número de bactérias não desejáveis, sendo *C. butyricum* e *Clostridium* sp. comum entre as duas, além de *Pseudomonas yamanorum* e *Pantoea* sp., respectivamente. Nas demais amostras, apenas *Pantoea* sp. foi detectada. Para as farinhas orgânicas (FWR-C, FW-D e FW-E), maior abundância de *Firmicutes* foi observada.

Com apenas 48 h de fermentação (BS0), alterações significativas no consórcio bacteriano foram observadas para todas as amostras. No entanto, estas foram mais notáveis nas etapas seguintes avaliadas. Para o fermento produzido com FWR-A, por exemplo, a abundância de *Pantoea* sp. foi reduzida (0,39% em BS0); em contrapartida, *C. butyricum*, *Clostridium* sp. e *P. yamanorum*, não identificados na farinha, foram observadas em abundâncias relativas de 4,14%, 6,99% e 0,67%, respectivamente. Em BS5, espécies de BAL tornaram-se dominantes, cenário que persistiu até BS9. Na etapa BS5, *L. brevis* (40,12%) era a espécie dominante, sendo, em BS9, dominada por *L. plantarum* (46,53%). *Pediococcus* sp. (29,86%) aumentou sua população ao longo do processo fermentativo, tornando-se a espécie sub-dominante em BS9.

Para o fermento produzido com FWR-B, a abundância de *Pediococcus* sp. (43,74%) em BS0 foi significativamente maior em comparação à matéria-prima, assim como a de *C. butyricum* (12,74%). *L. brevis* (1,75%), *L. plantarum* (5,02%), *L. sakei* (9,55%) e *Pantoea* sp. (3,55%), outrora não detectados como microbiota autóctone da farinha, foram detectados. Em BS5, predomínio de *L. brevis* (37,54%) e *L. plantarum* (33,81%) foi observado, com presença de *Pediococcus* sp. (19,34%) mas em menor abundância em relação à BS0 (43,74%). O predomínio de *L. plantarum* (89,23%) foi nitidamente constatado no estágio BS9.

Cenário bastante distinto foi observado para o tratamento elaborado com FWR-C, na qual *Clostridium* sp. foi detectado em abundância elevada (75,13%) em BS0; além disso, a abundância de *Pantoea* sp. reduziu neste estágio (0,36%), mesmo fenômeno observado para todas as espécies de BAL identificadas na matéria-prima. Em BS5, tal distinção se manteve, sendo detectado *P. yanamorum* (68,64%) como espécie dominante. Por fim, em BS9, o cenário se aproximou do esperado, com predomínio de *Pediococcus* sp. (79,58%), além de *L. brevis* (0,67%), *L. plantarum* (0,54%) e *L. sakei* (1,26%) em menores abundâncias relativas. Dentre as farinhas brancas refinadas, apenas em BS9 do tratamento FWR-C ainda era possível observar *Pantoea* sp., microrganismos não-típico do ambiente *sourdough*.

No que se refere às farinhas integrais, para o fermento elaborado com FW-D, comparando com a matéria-prima, *Pediococcus* sp. (31,18%) aumentou já no BS0, do mesmo modo que *C. butyricum* (24,19%) e *Pantoea* sp. (4,86%); por outro lado, *L. brevis* (0,23%), *L. sakei* (0,45%) e *L. plantarum* (0,49%) tiveram suas abundâncias relativas reduzidas. Foi possível identificar *Pantoea* sp. ainda no estágio BS5, porém, com abundância menor (1,79%). Em BS5, predomínio de *L. coryniformis* (49,95%) e

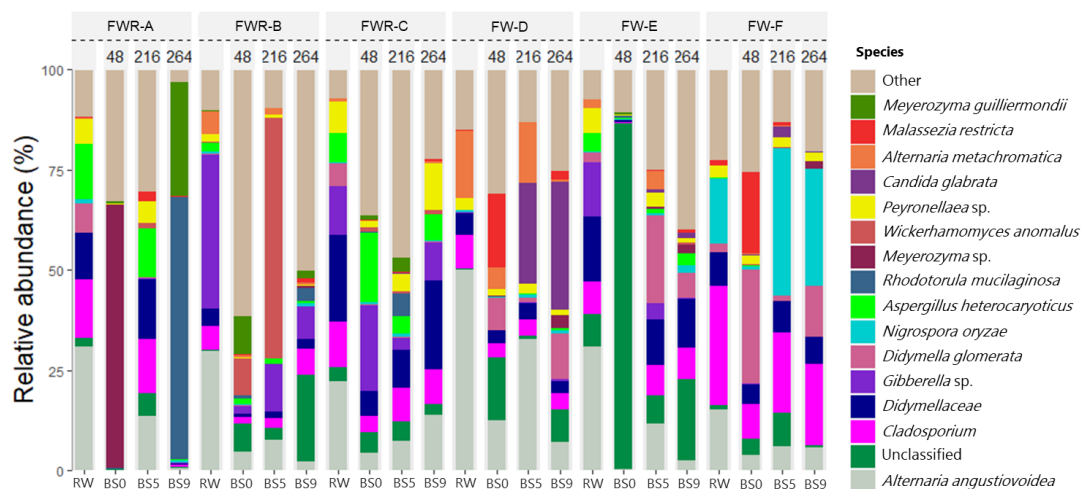
*Pediococcus* sp. (38,77%), e detecção de *L. brevis* (0,87%) e *L. plantarum* (0,68%), ambos em baixas abundâncias, foram observados. O padrão se manteve para o estágio BS9, exceto pela ausência de *Pantoea* sp. Para o produzido com FW-E, predomínio de *Pediococcus* sp. em BS0 (76,60%) e BS5 (83,78%), o qual foi completamente substituído por *L. coryniformis* (92,50%) em BS9; curiosamente, esta espécie se encontrava em baixa abundância em BS0 (0,92%). *L. plantarum* também foi identificado em BS0 (1,51%) e BS5 (6,96%), mas não em BS9. Ainda neste estágio, *Clostridium* sp. foi detectado em baixa abundância (2,30%). A predominância dos grupos microbianos no tratamento com FW-F diferiu bastante dos demais em BS0, com *Pantoea* sp. (38,49%) e *L. sakei* (33,63%) predominantes. No entanto, a dinâmica modificou-se rapidamente, já no estágio BS5 o co-domínio foi de *L. plantarum* (44,96%) e *L. brevis* (44,23%), com redução de *L. coryniformis* (0,59%) e *Pediococcus* sp. (1,76%). Este padrão de co-dominância se manteve no estágio BS9 (*L. plantarum* 46,50% e *L. brevis* 43,21%), com redução ainda maior de *Pediococcus* sp. (1,23%), bem como a detecção de *Pantoea* sp. em baixa abundância (1,08%). Para fermentos produzidos com farinha refinada, em FWR-A e FWR-B não foram identificadas espécies não-típicas do ambiente *sourdough* no estágio BS9; contudo, em relação às farinhas integrais, tal cenário foi observado apenas para o fermento produzido com FW-D.

Em relação aos fungos (Figura 6), *Ascomycota* foi o filo dominante em todas as amostras, seguido por *Basidiomycota*, exceto para o tratamento com FWR-A maduro (BS9) elaborado com farinha branca, único tratamento em que *Basidiomycota* foi dominante. As diferenças foram menos proeminentes para os fungos em comparação com os grupos bacterianos, cujo cenário revelou a maior parte das espécies originalmente presentes na matéria-prima, variando em abundância relativa. FWR-A apresentou maior abundância de *Alternaria angustiovoidea* (30,71%), seguido por *Aspergillus heterocaryoticus* (13,80%) e *Didymella glomerata* (7,38%). FWR-B foi composta principalmente por *Gibberella* sp. (38,29%), *A. angustiovoidea* (29,71%) e *Alternaria metachromatica* (5,73%). Em FWR-C, a maior abundância foi de *Alternaria angustiovoidea* (22,01%), *Didymellaceae* (21,62%) e *Cladosporium* (11,28%). FW-D apresentou predomínio de *A. angustiovoidea* (50,12%), seguido de *A. metachromatica* (16,90%). Em FW-E, *A. angustiovoidea* (30,71%) também dominou, seguido de *Didymellaceae* (16,26%) e *Gibberella* sp. (13,41%). Por fim, *Cladosporium* sp. (29,78%) foi o gênero fúngico dominante em FW-F, seguido de *Nigrospora oryzae*

(16,16%) e *A. angustiovoidea* (15,14%). Nenhuma levedura típica do ecossistema *sourdough* foi identificada como autóctone das farinhas. *Meyerozyma guilliermondii*, *Rhodotorula mucilaginosa* e *Wickerhamomyces anomalus*, espécies não comumente relatadas como microbiota *sourdough*, foram identificadas apenas em FWR, enquanto *Candida glabrata*, apenas em FW-E.

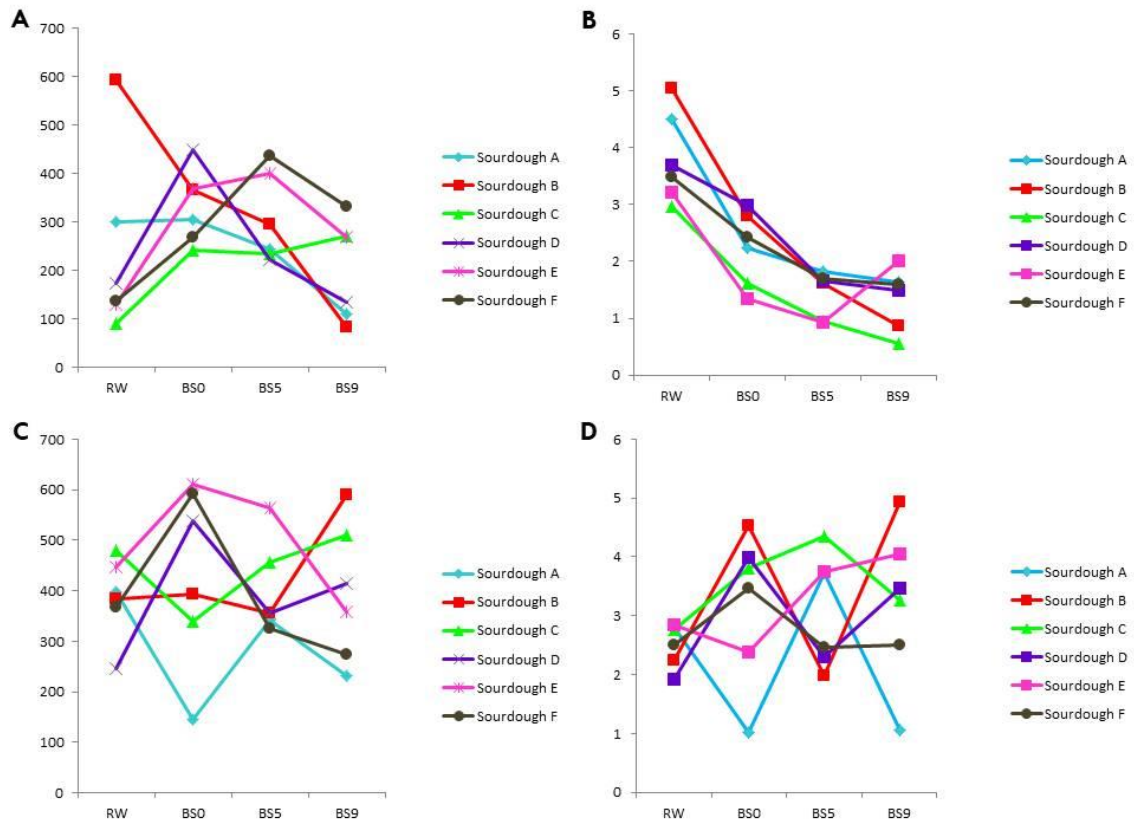
Com o início do processo de fermentação, *Meyerozyma* sp. tornou-se dominante na amostra produzida com FWR-A após 48 horas; no entanto, sua população se modificou consideravelmente, não sendo identificada em BS5, cuja dominância foi substituída por *R. mucilaginosa* (65,43%), com *M. guilliermondii* (28,65%) sendo co-dominante em BS9. Para o fermento FWR-B, *W. anomalus* (9,20%) foi identificada em BS0, tornando-se dominante em BS5 (60,14%) e ausente no estágio BS9 (correspondente ao fermento maduro), estágio de maior abundância de espécies não classificadas (21,72%); neste estágio, ainda, *Gibberella* sp. (8,06%) e *R. mucilaginosa* (3,25%) também foram identificados. Leveduras não-típicas do *sourdough* foram dominantes para o tratamento com FWR-C, onde *R. mucilaginosa* e *M. guilliermondii* foram identificados apenas nas etapas BS0 e BS5; na etapa BS9, observou-se *W. anomalus* (1,06%) em baixa abundância, acompanhada de fungos indesejáveis. Em BS9, o predomínio foi de *Didymellaceae* (22,05%), seguido de *Peynorellaea eucalypti* (11,50%), *Gibberella* (9,67%) e *Cladosporium* (8,72%).

Para farinhas integrais, dominância de *C. glabrata* (31,70%) no BS9 de FW-D foi observada, espécie que já co-dominava (25,01%) em BS5, superada, neste estágio, apenas por *A. angustiovoidea* (50,12%). Em BS9, *Meyerozyma* sp., embora em baixa abundância (3,29%), também foi identificado. Para o tratamento com FW-E, a dominância foi, semelhante à observada para o produzido com FWR-C, de espécies não classificadas (20,52%), seguido de *Didymellaceae* (12,03%). *C. glabrata* (1,30%), *Meyerozyma* sp. (2,31%) e *W. anomalus* (0,44%) também foram detectados em BS9, contudo, em baixa abundância. O tratamento à base de FW-F foi o único em que *N. oryzae* foi identificado, sendo dominante em BS5 (36,66%) e BS9 (29,14%). Ademais, *Cladosporium* (20,16%) e *Didymella glomerata* (12,67%) compuseram o consórcio, com dominância desta em BS0 (28,52%), seguido de *Malassezia restricta* (20,38%). *C. glabrata* foi detectado em BS5 (2,94%) e BS9 (0,26%); *Meyerozyma* sp., apenas em BS9 (1,93%).



**Figura 6:** Abundância relativa (%) de espécies fúngicas durante as etapas de backslopping dos fermentos sourdough após 48, 216 e 264 horas. RW: matéria-prima; BS: *backslopping* (retroalimentação).

A diversidade microbiana foi estimada a partir do estimador de riqueza (Chao1) e índice de diversidade (Shannon) e os resultados estão apresentados na Figura 7. O índice Chao1 bacteriano (Figura 7A), comparando-se internamente às matérias-primas (RW), foi maior para FWR-B e FWR-A. Por outro lado, para os fermentos à base de farinha integral, S-E e S-F, o índice foi maior no fermento maduro (BS9) em relação à matéria-prima. Todos os índices de Shannon (Figura 7B) obtidos foram menores em BS9 em comparação à matéria-prima. Dentro da diversidade fúngica, Chao1 (Figura 7C) foi maior nas farinhas FWR-A, FW-E e FW-F em relação ao fermento maduro (BS9); contrariamente, foi maior do que nas farinhas em BS9 para os tratamentos com FWR-B, FWR-C e FW-D. Para todas as amostras, no contexto fúngico, o índice de Shannon (Figura 7D) foi mais elevado nos fermentos *sourdough* comparando-se com a matéria-prima, exceto para aqueles produzidos com FWR-A e FW-F. Todos os valores de Chao1 e Shannon para matéria-prima e BS9 diferiram estatisticamente entre si, tanto para bactérias quanto para fungos.



**Figura 7:** Variação na riqueza (Chao1) (A, bactérias; C, fungos) e diversidade (Shannon) (B, bactérias; D, fungos) para matérias-primas e etapas de retroalimentação de cada fermento *sourdough* avaliado.

#### 4. Discussão

A composição da microbiota *sourdough* pode ser afetada por diferentes fatores, tanto endógenos quanto exógenos. Sabe-se que o consórcio microbiano é resultado da combinação entre os parâmetros tecnológicos da fermentação, da matéria-prima e do ambiente de produção (Brandt, 2019). A farinha utilizada corresponde à principal fonte de bactérias e fungos, consistindo em um elemento chave no estabelecimento da microbiota do fermento *sourdough* maduro (Menezes et al., 2020; Rocha and Malcata, 2012). A depender do tipo de farinha e, conseqüentemente, de sua composição – que varia de acordo com o cultivar, local de plantio, estágio fisiológico dos grãos, sazonalidade, época e lote da colheita – as espécies que compõem o fermento *sourdough* podem variar; os diferentes perfis metabólicos e nichos ecológicos resultam, ainda, em predominância de determinadas espécies em detrimento de outras (Minervini et al., 2018).

Até o momento não há trabalhos que tenham investigado a influência que diferentes farinhas de trigo brasileiras exercem na microbiota *sourdough*. Recentemente, Costa et al. (2022) examinaram duas farinhas de trigo brasileiras; seu objeto de estudo, porém, se concentrou no sistema agrícola, dado que ambas as farinhas eram integrais, sendo uma produzida no sistema convencional e outra no orgânico. O Brasil não é autossuficiente na produção de trigo, carecendo da importação de quantidades significativas do cereal, especialmente da Argentina, Estados Unidos, Paraguai, e Uruguai, resultando em farinhas miscigenadas, com particularidades distintas (Siepmann et al., 2019). Os grãos, por sua vez, são adquiridos de épocas/estações diferentes. Consequentemente, a composição nutricional dos mesmos tende a ser heterogênea, variando em decorrência das atividades enzimáticas endógenas.

Sabe-se que a região de cultivo do trigo, o ano de colheita e o tipo da farinha (se integral ou refinada) influenciam significativamente na sua composição microbiana (Lau et al., 2021). Minervini et al. (2018) demonstraram que a dinâmica populacional dos fermentos *sourdough* é dirigida principalmente pela microbiota e nutrientes da farinha. Para farinhas integrais, a quantidade de farelo e gérmen também pode variar entre os cultivares de trigo e a região de cultivo (Gómez et al., 2020). As quantidades e qualidade dos carboidratos, proteínas, minerais, lipídios e atividades enzimáticas, além dos fatores de crescimento e presença de inibidores microbianos, impactam na comunidade microbiana do fermento *sourdough* (Hammes et al., 2005). As farinhas utilizadas neste trabalho são de produtores diferentes. Devido à miscigenação, as farinhas podem apresentar variações nutricionais. Essas variações nutricionais, de acordo com Minervini et al. (2018), podem favorecer certas espécies sobre outras por causa de perfis metabólicos distintos. Portanto, as especificidades das farinhas podem ser resultado de grãos específicos de cada região, refletindo em composições distintas para os *sourdough*. Este é o primeiro trabalho que avaliou a influência de farinhas de trigo produzidas em solo brasileiro, contemplando refinadas e integrais, na microbiota do ecossistema *sourdough*.

Os parâmetros de pH e AT são utilizados para acompanhar o processo fermentativo, indicando se a fermentação está ocorrendo satisfatoriamente. Diferenças nos valores de pH e AT entre as amostras refletem diferenças na dinâmica da comunidade microbiana. Com a propagação dos fermentos *sourdough*, redução acentuada nos valores de pH, acompanhada de aumento nos valores de AT, foram observadas, fenômeno esperado para produtos fermentados. Estudos têm demonstrado

que fermentos *sourdough* maduros apresentam, em geral, valores de pH variando de 3,70 a 4,28 (Minervini et al., 2011). Siepmann et al. (2019) observaram valores de pH entre 3,70 e 3,94 para fermentos produzidos com farinha integral; em relação à AT, valores de 17,92 (3,1% de ácido láctico) a 20,80 mL (3,5% de ácido láctico) de NaOH 0,1 M foram detectados; já para aqueles elaborados a partir de farinha branca, valores de 12,63 mL (2,2% de ácido láctico) foram relatados por Menezes et al. (2019). Os valores de pH e AT aqui encontrados no estágio de fermento maduro (BS9) estão dentro dos esperados para fermentos *sourdough* tradicionais, exceto para dois tratamentos à base de farinha branca (S-A e S-C), nos quais o valores foram inferiores, sendo 9,4 (1,60% de ácido láctico) e 9,6 mL (1,63% de ácido láctico), respectivamente. Valores mais baixos de AT para *sourdough* de farinha branca também foram observados por Flander et al. (2011) e Fraberger et al. (2020), com variação de 6,40 (1,09% de ácido láctico) a 12,50 mL (2,12% de ácido láctico) e de 7,18 (1,22% de ácido láctico) a 17,04 mL (2,90% de ácido láctico) de NaOH 0,1 M, respectivamente. A farinha utilizada pode modificar a taxa de acidificação devido ao teor de cinzas; maiores teores são reportados para farinhas integrais, resultando em valores de pH mais elevados em comparação à farinha branca refinada, de menor teor de cinzas (Tafti et al., 2013; Siepmann et al., 2019). Os valores de AT dos fermentos *sourdough* maduros foram maiores para os produzidos com farinha integral, no entanto, sem ocasionar mudanças consideráveis no pH, certamente devido à capacidade tamponante observada para este tipo de farinha e à limitação do potenciômetro para leitura das frações não-dissociada dos ácidos.

O desempenho fermentativo dos fermentos *sourdough* foi monitorado durante 6 horas de fermentação, relacionado à expansão do volume devido à produção de gás carbônico. O aumento médio do volume demonstrou que S-A teve o melhor desempenho; S-E apresentou notavelmente a menor expansão, nas condições avaliadas. Estes resultados podem estar relacionados à abundância de *L. brevis*, espécie heterofermentadora, que contribui para a produção de CO<sub>2</sub>, além da presença das leveduras *R. mucilaginosa* e *W. anomalus*. Por outro lado, a menor performance de S-E pode ser justificada pelo domínio de *L. coryniformis*, espécie homofermentadora. Não é possível correlacionar o impacto das leveduras na expansão de S-E, uma vez que apenas fungos não-típicos (em geral sem classificação) foram detectados neste tratamento. Galli et al. (2019) observaram, em *sourdough* tipo II de consistência firme e adicionado na proporção de 10%, volumes maiores que 100% (102,7% e 144,2%) após 6 horas de fermentação. Zanini et al. (2009), avaliando a performance de *sourdough* tipo II, de

consistência líquida e adicionado na proporção de quase 40%, observou a melhor performance fermentativa (150%) para fermentos elaborados apenas com farinha de trigo, atribuindo maior capacidade de retenção de CO<sub>2</sub> ao cereal. Neste estudo, os fermentos *sourdough* avaliados foram do tipo I, de consistência firme, composto apenas por farinha de trigo, água e adição na proporção de 20%. O aumento nos tratamentos foi ligeiramente diferente ao observado por Zanini et al. (2009) e Galli et al. (2019), o que pode ser atribuído às diferenças tecnológicas empregadas nestes estudos. Os fermentos *sourdough* à base de farinha branca apresentaram maior aumento em relação aos integrais. A menor performance dos fermentos *sourdough* integrais pode ser justificada pela presença de fibras, que afetam a expansão da massa devido às interações fibra-glúten, diminuindo parâmetros como altura e volume da massa (Sun et al., 2023).

Baixas contagens bacterianas e de leveduras foram observadas na matéria-prima de todos os fermentos, em consonância com estudos prévios, que indicam populações abaixo de 5 log UFC.g<sup>-1</sup> (Minervini et al., 2014). Com o início do processo de fermentação (etapa BS0), a população bacteriana aumentou rapidamente para todos os meios de cultura avaliados, resultados também condizentes com estudos já publicados (Ercolini et al., 2013; Bessmeltseva et al., 2014; Coda et al., 2017). Diferenças significativas nas contagens dentre os diferentes tempos (BS) foram observadas, aumentando à medida que novas etapas de *backslopping* eram realizadas (exceto para os fermentos integrais, nos quais a contagem se estabilizou a partir de BS5). Esses resultados são consistentes com dados anteriores para comunidades *sourdough*, no qual as contagens de células viáveis aumentam significativamente com o decorrer do processo fermentativo (Wang et al., 2020). As densidades celulares finais de BAL (BS9) foram de 9 a 10 log UFC.g<sup>-1</sup>, semelhante ao observado por Ercolini et al. (2013) e Rizzello et al. (2015).

BAL apresentaram maior densidade celular, em média, com farinha integral como matéria-prima. Microrganismos de cereais estão majoritariamente concentrados na camada externa do cerne e tendem a permanecer em frações ricas em farelo. Em geral, o endosperma apresenta populações microbianas mais baixas. Consequentemente, farinhas obtidas a partir da moagem inteira do grão apresentam maior população microbiana (Berghofer et al., 2003). As contagens de BAL viáveis diferiram dependendo do meio de cultivo. As enumerações não diferiram entre *sourdough* produzidos com farinhas brancas e integrais no meio MRS. No entanto, menores contagens foram encontradas no meio WFAM em comparação ao MRS, o que pode ser

justificado à particularidade do MRS em favorecer o crescimento de lactobacilos. Menores contagens em meio WFAM também foram observadas por Menezes et al. (2020). As diferenças podem ser atribuídas às concentrações variáveis de nutrientes dos meios, especialmente no WFAM, conferindo condições metabólicas distintas para os grupos microbianos de cada fermento *sourdough* (Minervini et al., 2011).

Leveduras também aumentaram no BS0, mas de maneira menos acentuada que a observada para BAL. A contagem final de leveduras foi menor que a bacteriana em todos os fermentos avaliados, assim como relatado por outros estudos (Minervini et al., 2012; Yan et al., 2019; Wang et al., 2023). A densidade de leveduras no *sourdough* maduro normalmente varia de 5 a 8 Log UFC.g<sup>-1</sup> (Minervini et al., 2014). Com exceção de S-D, que ultrapassou 9 Log UFC.g<sup>-1</sup>, as populações dos demais fermentos *sourdough* apresentaram-se nesta faixa. Os níveis de BAL e leveduras dos fermentos atendem aos requisitos para uma boa prática de panificação, em que as massas devem conter cerca de 8–9 log UFC.g<sup>-1</sup> de BAL e 6–7 log UFC.g<sup>-1</sup> de leveduras (Salim-ur-Rehman et al., 2006).

Em relação à comunidade bacteriana, o sequenciamento detectou diferentes tipos de BAL na farinha, como *Enterococcus*, *Lactobacillus* (gêneros reclassificados por Zheng et al., 2020), *Leuconostoc*, *Pediococcus* e *Weissella*; gêneros estes que habitam frequentemente farinhas de trigo (Bessmeltseva et al., 2014; Celano et al., 2016; Corsetti et al., 2007; Oshiro et al., 2014). *L. plantarum* é a espécie mais comumente encontrada na matéria-prima, provavelmente pela sua capacidade de fermentar todos os carboidratos ali disponíveis e por sua ótima performance tecnológica (Minervini et al., 2014).

Neste trabalho, *Pediococcus* foi o único gênero encontrado em todas as matérias-primas. Siepmann et al. (2019) também identificaram *Pediococcus*. Em ambiente de reduzida contaminação, microrganismos autóctones da farinha em geral são os principais constituintes da microbiota *sourdough* (Minervini et al., 2014). No entanto, nossos resultados demonstraram que os fermentos *sourdough* não continham necessariamente as mesmas BAL detectadas nas farinhas. Não detectamos, por exemplo, *L. plantarum* e *L. brevis* em FWR-B, que foram as espécies dominantes em seu respectivo *sourdough* maduro. O fato de não terem sido detectadas pela análise de sequenciamento pode estar relacionado à baixa abundância em FWR-B, em concentração abaixo do limite de detecção do procedimento de extração.

Além de BAL, *Proteobacteria* também foi encontrado nas farinhas, representado pelos gêneros *Pantoea* e *Pseudomonas*. Bactérias deste filo geralmente compõem a microbiota do trigo, sendo estes os gêneros não-Firmicutes comumente relatados para farinha de trigo. De Angelis et al. (2019) e Gastrow et al. (2022) identificaram *Pantoea* e *Pseudomonas* como componentes da microbiota de farinha de trigo italiana; ambos os gêneros já foram relatados em amostras de farinha de trigo cultivado no Brasil (Stets et al., 2013). No entanto, embora *Proteobacteria* seja predominante na farinha, não é frequentemente encontrado em *sourdough* maduro, do mesmo modo que *Clostridium*. A supressão de espécies não-típicas, como *Pseudomonas* (Kiymaci et al., 2018), *Pantoea* e *Clostridium* (Schoster et al., 2013) é esperada no ecossistema *sourdough*, sendo correlacionada à síntese de ácidos orgânicos, condições de estresse que levam à inibição de espécies não-BAL pouco adaptadas (Liu et al., 2018; Bartkiene et al., 2020). Em contrapartida, BAL são bem adaptadas às condições do ambiente *sourdough*; assim, a queda no pH e aumento da AT favorecem seu crescimento (Comasio et al., 2020). A prevalência de lactobacilli em *sourdough* sobre BAL na forma de cocos tem sido relatada e justificada em decorrência da maior tolerância ao estresse ácido dos lactobacilos (De Vuyst et al., 2014).

À medida que o fermento amadurece, condições cada vez mais seletivas do ecossistema *sourdough* resultam na redução de espécies não-típicas, que vão sendo, ao longo do tempo, substituídas por BAL. Até o terceiro dia normalmente são espécies não-típicas que predominam, como, por exemplo, representantes de *Enterobacteriaceae*. Após 3 a 5 dias de *backslopping*, *Lactobacillus* e *Pediococcus* superam os gêneros não-típicos ali presentes. Com 6 a 10 dias de *backslopping*, *F. sanfranciscensis*, *L. fermentum*, *L. brevis* e *L. plantarum* tendem a ser selecionados, permanecendo em maiores abundâncias. Apesar da evolução de três-fases bem consolidada no ecossistema *sourdough*, no qual tem-se a presença inicial de espécies não-típicas, que são, posteriormente, substituídas por *Lactobacillus* e *Pediococcus* e, mais ao final, por espécies com resistência ao estresse ácido, diferenças neste padrão têm sido observadas (Ercolini et al., 2013; Costa et al., 2021), com detecção de *Enterobacteriaceae* mesmo após 5 dias de propagação, em consonância com nossos resultados. *Pantoea* sp. foi detectado em S-C e S-F (abundâncias de 0,59% e 1,08%, respectivamente), e *Clostridium* sp. em S-E (2,55%). Bactérias da família *Enterobacteriaceae* são capazes de crescer em condições de pH ao redor de 4,0 (Rogers et al., 2015), o que pode explicar a detecção de *Pantoea* nos dois *sourdough* maduros (pH  $\approx$  4,0). Já a presença

de *Clostridium* pode ser justificada por se desenvolver bem em condições de anaerobiose ou de reduzida tensão de oxigênio. Rizzello et al. (2015) também observaram *Pantoea* nas amostras avaliadas. Para S-C, observou-se flutuação na dinâmica populacional bacteriana, condição já reportada por outros estudos (Weckx et al., 2010; Minervini et al., 2012), demonstrando maior período despendido para a estabilidade bacteriana.

Todos os tratamentos apresentaram composição de BAL consistentes com estudos anteriores. *F. sanfranciscensis*, *L. plantarum* e *L. brevis* são considerados habitantes típicos do ecossistema *sourdough*, reportadas como dominantes em vários estudos com *sourdough* tradicionais à base de trigo (Van Kerrebroeck et al., 2017; Minervini et al., 2018; Oshiro et al., 2020). Essas espécies são melhor adaptadas a condições de baixa disponibilidade de nutrientes e ao estresse ácido, permitindo, assim, sua prevalência no ambiente *sourdough* (Vrancken et al., 2010). *L. plantarum* e *L. brevis* foram as espécies em co-ocorrência mais comumente relatadas por Landis et al. (2021); da mesma forma, os resultados apresentados por Ventimiglia et al. (2015) e os aqui apresentados indicam a relevância da co-dominância de *L. plantarum* e *L. brevis* para a estabilidade da microbiota *sourdough*.

Neste estudo, *L. plantarum*, também identificado nas farinhas, foi dominante nos fermentos S-A, S-B e S-F, todos produzidos com farinhas provenientes do sistema convencional, diferentemente do observado por Rizzello et al. (2015). *L. brevis*, relatada como espécie dominante por Fujimoto et al. (2018), foi detectada em fermentos *sourdough* associados ao sistema convencional e também ao orgânico; no orgânico, porém, em abundância significativamente menor que a observada para fermentos elaborados a partir de farinha não-orgânica. Em dois dos fermentos *sourdough* orgânicos avaliados, *Pediococcus* sp. foi dominante (S-C) e co-dominante (S-D). Rizzello et al. (2015) e Costa et al. (2022) também identificaram *Pediococcus* como dominante nos fermentos produzidos a partir de farinhas orgânicas. Em S-D, *Pediococcus* sp. e *L. coryniformis* co-dominaram a microbiota. Em S-E, *L. coryniformis* foi a espécie dominante. Esta já foi identificada anteriormente em estudos anteriores de *sourdough* (Rizzello et al., 2014; Bartkiene et al., 2020; Boreczek et al., 2020; Fraberger et al., 2020; Baev et al., 2023) e isoladas de grãos de *T. durum* (Corsetti et al., 2007), contudo, apesar disto, não é considerada uma espécie comum do ambiente *sourdough*. Com exceção de *L. coryniformis*, todas as demais espécies foram previamente e comumente identificadas em *sourdough* de trigo em outros trabalhos ao redor do mundo

(Minervini et al., 2012; Dertli et al., 2016; Bartkiene et al., 2022; Calabrese et al., 2022). A origem de *L. coryniformis* pode estar relacionada às frações farelo/gérmem exclusivas da farinha integral; além disso, a espécie é mais exigente nutricionalmente que as demais BAL, o que justificaria sua detecção apenas em duas farinhas integrais orgânicas, de maior teor nutricional.

*F. sanfranciscensis*, espécie frequentemente relatada como dominante em fermentos *sourdough*, não foi identificada em nenhuma das amostras avaliadas neste estudo. As propagações foram realizadas em laboratório, totalizando-se apenas 9 etapas de backslopping. Esta espécie domina em fermentos com maiores ciclos de retroalimentação; além disso, sua presença é mais associada a fermentos desenvolvidos e/ou utilizados em padarias, ambientes de maior contaminação pela microbiota *house* (Minervini et al., 2015). O domínio de *L. plantarum* e *L. brevis*, bem como a ausência de *F. sanfranciscensis* pode, também, estar relacionados à idade dos fermentos *sourdough* avaliados (264h). Fermentos jovens tendem a ser dominados por *L. plantarum* e *L. brevis*, enquanto os mais velhos, por *F. sanfranciscensis* e *Pediococcus parvulus*. *Leuconostoc* sp., outro gênero recorrentemente identificado em *sourdough*, também não foi detectado neste trabalho, provavelmente devido à temperatura empregada durante a propagação do fermento, uma vez que esse gênero se desenvolve melhor em temperaturas mais baixas (Iosca et al., 2020).

A micobiota das farinhas foi composta principalmente por microrganismos comumente associados a plantas. Fungos filamentosos conhecidos como patógenos de cereais foram identificados, como *Aspergillus* sp. e *Cladosporium* sp. Neste estudo, nenhuma espécie de levedura normalmente encontrada em *sourdough* foi detectada nas amostras de farinha, o que pode estar relacionado à escassa biodiversidade de leveduras nos *sourdough* maduros em comparação com produtos semelhantes. *Kazachstania exigua*, *Kazachstania humilis*, *Torulaspora delbrueckii*, *Wickerhamomyces anomalus* e *Pichia kudriavzevii* são as leveduras mais frequentemente dominantes dentre a micobiota dos fermentos *sourdough* (Minervini et al., 2015). De todas essas, contudo, apenas *W. anomalus* foi detectada como dominante somente no tratamento com FWR-B e na etapa BS5 (na etapa BS9, a espécie já não foi mais observada).

O filo *Ascomycota* é naturalmente encontrado em farinhas de trigo (Minervini et al. 2015, Urien et al. 2019). *Alternaria*, *Aspergillus* e *Fusarium* representam os principais contaminantes de trigo no mundo e são gêneros já detectados em produtos *sourdough* (Hajnal et al., 2019; Urien et al., 2019; Bartkiene et al., 2020; Reese et al.,

2020; Minutillo et al., 2022). *Gibberella*, conhecido como *Fusarium graminearum* em seu estado anamorfo e encontrado nos tratamentos com FWR-B, FWR-C e FW-D, é um patógeno comum do trigo (Cumagun et al., 2007). Já *Cladosporium e Nigrospora* foram previamente identificados em farinha de trigo (Garcia et al., 2019). *Nigrospora oryzae*, fungo carregado pela semente do trigo, localizado no gérmen do grão (Khan and Bhutta, 1994), foi encontrado no tratamento S-F. *Gibberella* e *Alternaria* também foram identificados por outros autores em fermento *sourdough* (Urien et al., 2019; Wang et al., 2020). *Didymella* e *Rhodotorula* também já foram detectados por Urien et al. (2019) e Rizzello et al. (2015), respectivamente.

Neste estudo, *C. glabrata* foi detectada em apenas um tratamento (S-D). Vrancken et al. (2010) identificaram *W. anomalus* and *C. glabrata* como espécies dominantes em *sourdough* de laboratório. Da mesma forma, Van Kerrebroeck et al. (2016) identificaram *C. glabrata* em fermentos com pH ao redor de 4.0, produzidos, contudo, com farinha branca refinada. A partir de dados de metanálise, Van Kerrebroeck et al. (2017) identificaram *C. glabrata* em 4% dos trabalhos avaliados. Portanto, apesar de não uma levedura típica do ambiente *sourdough*, há relatos de *C. glabrata* isolado de *sourdough* produzido em laboratório (Bessmeltseva et al., 2014; Moroni et al., 2011; Vrancken et al., 2010). *Saccharomyces cerevisiae* não foi detectada nos fermentos aqui avaliados. Contudo, sua presença obrigatória não é consensual. De maneira semelhante a *F. sanfranciscensis*, *S. cerevisiae* é encontrada principalmente em fermentos *sourdough* de padaria, provavelmente em decorrência da elevada contaminação do ambiente de produção (De Vuyst et al., 2014; Vrancken et al., 2010; Minervini et al., 2012).

Rizzello et al. (2015) demonstrou que o fator sistema agrícola é outro determinante que afeta a comunidade microbiana. Nossos resultados corroboram com esses achados. Apesar da semelhança a nível microbiano entre as farinhas produzidas pelo mesmo sistema agrícola, suas abundâncias variaram. Nas farinhas produzidas pelo sistema convencional, não observamos diferenças na modulação do consórcio bacteriano com os trabalhos já publicados. No entanto, para duas farinhas orgânicas, *L. coryniformis* foi a espécie dominante e co-dominante, diferente dos trabalhos disponíveis na literatura. Essa espécie, até então, nunca havia sido relatada como dominante nos *sourdough* maduros. Semelhantemente, *R. mucilaginosa* e *C. glabrata* também não foram ainda relatadas como dominantes. Portanto, a presença dessas espécies pode ter um efeito associado à territorialidade brasileira em conjunto ao

sistema de cultivo (orgânico para *L. coryniformis* e *C. glabrata*; convencional para *R. mucilaginosa*).

Landis et al. (2021) relataram fungos filamentosos (patógenos e/ou endofíticos de plantas, contaminantes do solo etc.), além de *Saccharomyces*, na microbiota de fermentos *sourdough*. No entanto, estes não foram incluídos no conjunto de dados por conta do papel limitado nesse tipo de fermentação. Da mesma forma, Gastrow et al. (2022) detectaram fungos filamentosos fitopatogênicos nos fermentos por eles avaliados. Dessa forma, a escassez de leveduras típicas nos fermentos aqui avaliados pode ser relacionada à microbiota distinta em comparação às matérias-primas disponíveis em outros países, à baixa concentração de leveduras nas farinhas avaliadas, bem como a sub exploração de leveduras não-típicas em *sourdough* nos trabalhos já publicados, priorizando a busca por espécies de interesse.

FWR-A e FWR-B apresentaram a maior alfa diversidade para bactérias, enquanto que para fungos, FWR-A se destacou. Ambas as farinhas foram produzidas a partir de trigo proveniente do sistema convencional de cultivo, condizentes com os resultados de Rizzello et al. (2015). Normalmente, maiores índices de diversidade são observados nas primeiras etapas de propagação do fermento, tornando-se gradualmente menores com o progresso do processo fermentativo, o que resulta em simplificação da microbiota devido à seletividade do ambiente *sourdough* (Celano et al., 2016). Para leveduras, no entanto, o índice de Shannon em S-B, S-C, S-D e S-E e os valores de Chao1 para S-B, S-C e S-D foram maiores quando comparados com os das farinhas. Estes resultados podem estar relacionados a uma microbiota ainda não estabilizada. Da mesma forma, para bactérias, em S-C, S-E e S-F, os valores de Chao1 também foram maiores que os das matérias-primas empregadas, destacando que os fermentos pode demandar tempo maior para estabilização do consórcio microbiano.

Diferentemente do que se tem discutido acerca do número mínimo de etapas de *backslopping* para a estabilização do fermento *sourdough* (Van Kerrebroeck et al., 2017), neste trabalho, apesar de nove etapas terem sido empregadas, os resultados do sequenciamento demonstraram que BAL tornaram-se dominantes já na etapa BS5, exceto para S-C. Porém, para os fungos, a estabilidade não foi alcançada mesmo após 264h de retroalimentação. A sucessão de espécies em *sourdough* tradicional pode ocorrer durante 2-3 meses de retroalimentação diária (Minervini et al., 2012). Portanto, a microbiota dos fermentos aqui elaborados poderia demandar um tempo superior de retroalimentação para que se estabilizasse em definitivo.

A presença de espécies não-típicas no fermento *sourdough* pode ainda estar relacionada às condições contínuas de retroalimentação durante sua produção. Em cada nova etapa de *backslopping*, espécies não desejáveis podem ser novamente incorporadas à massa via farinha, possibilitando o desenvolvimento de grupos microbianos pouco comuns. Uma vez que a farinha é adicionada em quantidades expressivas, pode cumprir um papel relevante no estabelecimento da microbiota do fermento maduro (Minervini et al., 2018). Quando a porcentagem utilizada de farinha é menor, como no caso de fermentos *sourdough* líquidos ( $DY > 200$ ), em geral se observa redução na diversidade da microbiota final mais rapidamente (Di Cagno et al., 2014).

A influência da região de produção das farinhas na microbiota *sourdough* é controversa. Alguns estudos indicam que esta influência é insignificante (Van Kerrebroeck et al., 2017; Landis et al., 2021), enquanto outros apontam diferenças significativas na microbiota decorrentes da região de cultivo (Nionelli et al., 2014; Pontonio et al., 2015; Liu et al., 2016; Lhomme et al., 2016; Mamhoud et al., 2016). De qualquer maneira, eventuais diferenças na comunidade microbiana tendem a desaparecer à medida que o número de etapas de *backslopping* aumenta, resultando em fermentos maduros menos diversos. No entanto, os resultados aqui apresentados indicam que o predomínio de BAL variou entre os fermentos produzidos de acordo com a matéria-prima, não desaparecendo o efeito das farinhas, exceto para aquelas produzidas pelo sistema agrícola convencional, que apresentaram as mesmas espécies, contudo, em abundâncias diferentes.

A influência de fermentos *sourdough* produzidos com farinhas locais já foram avaliadas em outros países. A título de exemplo, em fermentos elaborados com farinhas albanesas, *L. plantarum* e *Leuconostoc mesenteroides* predominaram (Nionelli et al., 2014). Por outro lado, aqueles elaborados com farinhas iranianas apresentaram predomínio de *Pediococcus pentosaceus*, *Weissella cibaria*, *Weissella confusa* e *Ln. citreum*, sendo que nenhum lactobacilo foi detectado (Pontonio et al., 2015). Na Tunísia, a espécie mais representativa foi *P. pentosaceus*, seguido de *Lactilactobacillus curvatus*, *Pediococcus acidilactici*, *Companilactobacillus nantensis* e *Companilactobacillus farciminois* (Mamhoud et al., 2016). Trata-se, portanto, de uma questão ainda sem consenso, e novos estudos com ferramentas metataxonômicas podem auxiliar na compreensão acerca do impacto da origem das matérias-primas na microbiota do fermento *sourdough* maduro.

## 5. Conclusões

Este estudo é o primeiro a destacar a influência de farinhas de trigo brasileiras na composição da microbiota do fermento *sourdough*, demonstrando significativa variação na diversidade, a depender da matéria-prima. Tendo em vista que apenas as farinhas foram variáveis neste estudo, podemos concluir que as diferenças entre a comunidade microbiana estão relacionadas à composição da matéria-prima. A farinha não pareceu atuar como um carreador relevante de leveduras, mas sim de BAL. Como as farinhas utilizadas no estudo são distintas em vários aspectos (origem do trigo, época de colheita dos grãos, sistema agrícola etc.), as diferenças nas comunidades bacterianas e fúngicas entre as farinhas avaliadas podem estar associadas à biodisponibilidade de macro e micronutrientes no substrato, sendo, portanto, uma característica associada aos grãos propriamente, especialmente à região de cultivo, bem como época de colheita. No contexto físico-químico, fermentos produzidos com farinhas integrais apresentaram menor capacidade de expansão, maior % de ácido láctico, enquanto os valores de pH apresentaram-se sutilmente distintos dos elaborados com farinhas refinadas.

## Referências

- Arora, K., Ameer, H., Polo, A., Di Cagno, R., Rizzello, C. G., & Gobbetti, M. (2021). Thirty years of knowledge on sourdough fermentation: A systematic review. *Trends in Food Science & Technology*, 108, 71–83. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.12.008>
- Baev, V., Apostolova, E., Gotcheva, V., Koprinarova, M., Papageorgiou, M., Rocha, J. M., Yahubyan, G., & Angelov, A. (2023). 16S-rRNA-Based metagenomic profiling of the bacterial communities in traditional bulgarian sourdoughs. *Microorganisms*, 11(3), 803. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030803>
- Bartkiene, E., Lele, V., Ruzauskas, M., Domig, K. J., Starkute, V., Zavistanaviciute, P., Bartevis, V., Pugajeva, I., Klupsaite, D., Juodeikiene, G., Mickiene, R., & Rocha, J. M. (2020). Lactic acid bacteria isolation from spontaneous sourdough and their characterization, including antimicrobial and antifungal properties evaluation. *Microorganisms*, 8(1), 64. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010064>
- Berghofer, L., K., Hocking, A. D., Miskelly, D., & Jansson, E. (2003). Microbiology of wheat and flour milling in Australia. *International Journal of Food Microbiology*, 85(1-2), 137-149. [10.1016/s0168-1605\(02\)00507-x](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(02)00507-x)

- Bessmeltseva, M., Viiard, E., Simm, J., Paalme, T., & Sarand, I. (2014). Evolution of bacterial consortia in spontaneously started rye sourdoughs during two months of daily propagation. *PLoS One*, 9, 10–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095449>
- Boreczek, J., Litwinek, D., Żylińska-Urban, J., Izak, D., Buksa, K., Gawor, J., Gromadka, R., Bardowski, J. K., & Kowalczyk, M. (2020). Bacterial community dynamics in spontaneous sourdoughs made from wheat, spelt, and rye wholemeal flour. *Microbiology Open*, 9, e1009. <https://doi.org/10.1002/mbo3.1009>
- Brandt, M. J. (2019). Industrial production of sourdoughs for the baking branch – An overview. *International Journal of Food Microbiology*, 302, 3–7. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.09.008>
- Calabrese, F. M., Ameer, H., Nikoloudaki, O., Celano, G., Vacca, M., Lemos Junior, W. J. F., Manzari, C., Vertè, F., Di Cagno, R., Pesole, G., De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2022). Metabolic framework of spontaneous and synthetic sourdough metacommunities to reveal microbial players responsible for resilience and performance. *Microbiome*, 10(1), 148. <https://doi.org/10.1186/s40168-022-01301-3>
- Canesin, M. R., & Cazarin, C. B. B. (2021). Nutritional quality and nutrient bioaccessibility in sourdough bread. *Current Opinion in Food Science*. 40, 81–86. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.02.007>
- Caporaso, J., Kuczynski, J., Stombaugh, J. & et al. (2010). QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods*, 7, 335–336. <https://doi.org/10.1038/nmeth.f.303>
- Celano, G., De Angelis, M., Minervini, F., & Gobbetti, M. (2016). Different Flour Microbial Communities Drive to Sourdoughs Characterized by Diverse Bacterial Strains and Free Amino Acid Profiles. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01770>
- Coda, R., Kianjam, M., Pontonio, E., Verni, M., Di Cagno, R., Katina, K., Rizzello, C. G., & Gobbetti, M. (2017a). Sourdough-type propagation of faba bean flour: Dynamics of microbial consortia and biochemical implications. *International Journal of Food Microbiology*, 248, 10–21. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.02.009>
- Comasio, A., Verce, M., Van Kerrebroeck, S., & De Vuyst, L. (2020). Diverse Microbial Composition of Sourdoughs From Different Origins. *Frontiers in Microbiology*, 11.
- Corsetti, A., Settanni, L., López, C. C., Felis, G. E., Mastrangelo, M., & Suzzi, G. (2007). A taxonomic survey of lactic acid bacteria isolated from wheat (*Triticum durum*) kernels and non-conventional flours. *Systematic and Applied Microbiology*, 30, 561–571. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2007.07.001>
- Costa, L. F. V., Kothe, C. I., Grassotti, T. T., Garske, R. R., Sandoval, B. N., Varela, A. P. M., Prichula, J., Frazzon, J., Mann, M. B., Thys, R. C. S., & Frazzon, A. P. G. (2021). Effect of leavening time in sourdough microbiota: An approach using organic

and 2 conventional whole wheat flours. *SSRN Electronic Journal*. <https://doi.org/10.2139/ssrn.3911918>

Costa, L. F. X., Kothe, C. I., Grassotti, T. T., Garske, R. P., Sandoval, B. N, Varela, A. P. M., Prichula, J., Frazzon, J., Mann, M. B., Thys, R. C. S., & Frazzon, A. P. G. (2022). Evolution of the spontaneous sourdoughs microbiota prepared with organic or conventional whole wheat flours from South Brazil. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, 94(4), 1-14. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202220220091>

Cumagun, C. J. R., Bowden, R. L., Jurgenson, J. E., Leslie, J. F., & Miedaner, T. (2007). Genetic Mapping of Pathogenicity and Aggressiveness of *Gibberella zeae* (*Fusarium graminearum*) Toward Wheat. *Phytopatology*, 94(5), 520-526. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.5.520>

De Angelis, M., Minervini, F., Siragusa, S., Rizzello, C.G., & Gobbetti, M. (2019). Wholemeal wheat flours drive the microbiome and functional features of wheat sourdoughs. *International Journal of Food Microbiology*.

Dertli, E., Mercan, E., Arici, M., Yilmaz, M. T., & Sağdıç, O. (2016). Characterisation of lactic acid bacteria from Turkish sourdough and determination of their exopolysaccharide (EPS) production characteristics. *LWT - Food Science and Technology*, 71, 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.03.030>

De Vuyst, L., Van Kerrebroeck, S., Harth, H., Huys, G., Daniel, H. M., & Weckx, S. (2014). Microbial ecology of sourdough fermentations: Diverse or uniform? *Food Microbiology*, 37, 11–29. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.06.002>

Di Cagno, R., Pontonio, E., Buchin, S., De Angelis, M., Lattanzi, A., Valerio, F., Gobbetti, M., & Calasso, M. (2014). Diversity of the lactic acid bacterium and yeast microbiota in the switch from firm- to liquid-sourdough fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(10), 3161–3172. <https://doi.org/10.1128/AEM.00309-14>

Embrapa. (2022). Trigo, uma safra para ficar na história. Available at: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/77085844/trigo-uma-safra-para-ficar-na-historia>>. Accessed 21 August 2023.

Ercolini, D., Pontonio, E., De Filippis, F., Minervini, F., Stora, A. L., Gobbetti, M., & Di Cagno, R. (2013). Microbial ecology dynamics during rye and wheat sourdough preparation. *Applied and Environmental Microbiology*, 79, 7827–7836. <https://doi.org/10.1128/AEM.02955-13>

Flander, L., Suortti, T., Katina, K., & Poutanen, K. (2011). Effects of wheat sourdough process on the quality of mixed oat-wheat bread. *LWT - Food Science and Technology*, 44(3), 656-664. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.11.007>

Fraberger, V., Unger, C., Kummer, C., & Doming, K. J. (2020). Insights into microbial diversity of traditional Austrian sourdough. *LWT - Food Science and Technology*, 127, 109358. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109358>

Fujimoto, A., Ito, K., Narushima, N., & Miyamoto, T. (2018). Identification of lactic acid bacteria and yeasts, and characterization of food components of sourdoughs used in Japanese bakeries. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 127(5), 575–581. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2018.10.014>

Galli, V., Venturi, M., Pini, N., Guerrini, S., Granchi, L., & Vincenzini, M. (2019). Liquid and firm sourdough fermentation: microbial robustness and interactions during consecutive backloppings. *LWT - Food Science and Technology*, 105, 9-15. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.004>

Garcia, M. V., Bernardi, A. O., Parussolo, G., Stefanello, A., Lemos, J. G., & Copetti, M. V. (2019). Spoilage fungi in a bread factory in Brazil: Diversity and incidence through the bread-making process. *Food Research International*, 126, 108593. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108593>

Garofalo, C., Silvestri, G., Aquilanti, L., & Clementi, F. (2008). PCR-DGGE analysis of lactic acid bacteria and yeast dynamics during the production processes of three varieties of Panettone. *Journal of Applied Microbiology*, 105(1), 243–254. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03768.x>

Gastrow, L. V., Amelot, R., Segond, D., Guézennec, S., Valence, F., & Sicard, D. (2022). Microbial community dispersal in sourdough. *bioRxiv preprint*. <https://doi.org/10.1101/2021.10.18.464797>

Gatti, M., De Dea Lindner, J., De Lorentiis, A., Bottari, B., Santarelli, M., Bernini, V., & Neviani, E. (2008). Dynamics of Whole and Lysed Bacterial Cells during Parmigiano-Reggiano Cheese Production and Ripening. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(19), 6161-6167. <https://doi.org/10.1128/AEM.00871-08>

Gómez, M., Gutkosvi, L. C., & Bravo-Núñez, A. (2020). Understanding whole-wheat flour and its effect in breads: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12625>

Hajnal, E. J., Mastilović, J., Bagi, F., Orčić, D., Budakov, D., Kos, J., & Savić, Z. (2019). Effect of Wheat Milling Process on the Distribution of *Alternaria* Toxins. *Toxins*, 11(3), 139. <https://doi.org/10.3390/toxins11030139>

Hammes, W. P., Brandt, M. K., Francis, K. L., Rosenheim, J., Seitter, M. F. H., & Vogelmann, S. A. (2005). Microbial ecology of cereal fermentations. *Trends in Food Science & Technology*, 16(1-3), 4-11. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.02.010>

Iosca, G., Vero, L. De, Gullo, M., Licciardello, F., Quartieri, A., & Pulvirenti, A. (2020). Exploring the microbial community of traditional sourdoughs to select yeasts and lactic acid bacteria. *MDPI*, 66(1), 3. <https://doi.org/10.3390/proceedings2020066003>

Khan, M. Q & Bhutta, A. R. (1994). Seed-borne fungi of wheat cultivars in Pakistan. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial*, 9, 397-398.

- Kiymaci, M. E., Altanlar, N., Gumustas, M., Ozkan, S. A., & Akin, A. (2018). Quorum sensing signals and related virulence inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* by a potential probiotic strain's organic acid. *Microb. Pathog.* 121, 190–197. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.05.042>
- Landis, E. A., Oliverio, A. M., McKenney, E. A., Nichols, L. M., Kfoury, N., Biango-Daniels, M., Shell, L. K., Madden, A. A., Shapiro, L., Sakunala, S., Drake, K., Robbat, A., Booker, M., Dunn, R. R., Fierer, N., & Wolfe, B. E. (2021). The diversity and function of sourdough starter microbiomes. *eLife*, 10, 1–24. <https://doi.org/10.7554/eLife.61644>
- Lau, S. W., Chong, A. Q., Chin, N. L., Talib, R. A., & Basha, R. K. (2021). Sourdough Microbiome Comparison and Benefits. *Microorganisms*, 9(7), 1355. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071355>
- Lhomme, E., Urien, C., Legrand, J., Dousset, X., Onno, B., & Sicard, D. (2016). Sourdough microbial community dynamics: An analysis during French organic bread-making processes. *Food Microbiology*, 53, 41–50. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.11.014>
- Liu, T., Li, Y., Chen, J., Sadiq, F. A., Zhang, G., Li, Y., & He, G. (2016). Prevalence and diversity of lactic acid bacteria in Chinese traditional sourdough revealed by culture dependent and pyrosequencing approaches. *LWT - Food Science and Technology*, 68, 91–97. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.12.025>
- Liu, T., Li, Y., Sadiq, F. A., Yang, H., Gu, J., Yuan, K., Lee, Y. K., & He, G. (2018). Predominant yeasts in Chinese traditional sourdough and their influence on aroma formation in Chinese steamed bread. *Food Chemistry*, 242, 404–411. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.081>
- Malammanavar, S. G. (2016). Seed-Borne Fungi Of Wheat And Wheat Related Products. *International Journal of Scientific Research and Engineering Studies*, 3(8). ISSN: 2349-8862
- Mamhoud, A., Nionelli, L., Bouzaine, T., Hamdi, M., Gobbeti, M., & Rizzello, C. G. (2016). Selection of lactic acid bacteria isolated from Tunisian cereals and exploitation of the use as starters for sourdough fermentation Understanding whole-wheat flour and its effect in breads: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 225, 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.03.004>
- McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS ONE*, 8(4), e61217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>
- Menezes, L. A. A., Molognoni, L., Sá Plôêncio, L., A., Costa, F. B. M., Daguier, H., & De Dea Lindner, J. (2019). Use of sourdough fermentation to reducing FODMAPs in breads. *European Food Research and Technology*, 245, 1183–1195. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03239-7>

- Menezes, L. A. A., Savo Sardaro, M. L., Duarte, R. T. D., Mazzon, R. R., Neviani, E., Gatti, M., & De Dea Lindner, J. (2020). Sourdough bacterial dynamics revealed by metagenomic analysis in Brazil. *Food Microbiology*, 85, 103302. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103302>
- Minervini, F., Di Cagno, R., Lattanzi, A., De Angelis, M., Antonielli, L., Cardinali, G., Cappelle, S., & Gobbetti, M. (2011). Lactic acid bacterium and yeast microbiotas of 19 sourdoughs used for traditional/typical Italian breads: Interactions between ingredients and microbial species diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(4), 1251–1264. <https://doi.org/10.1128/AEM.07721-11>
- Minervini, F., Lattanzi, A., De Angelis, M., Di Cagno, R., & Gobbetti, M. (2012). Influence of Artisan Bakery- or Laboratory-Propagated Sourdoughs on the Diversity of Lactic Acid Bacterium and Yeast Microbiotas. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(15), 5328-5340. <https://doi.org/10.1128/AEM.00572-12>
- Minervini, F., De Angelis, M., Di Cagno, R., & Gobbetti, M. (2014). Ecological parameters influencing microbial diversity and stability of traditional sourdough. *International Journal of Food Microbiology*, 171, 136–146. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.11.021>
- Minervini, F., Lattanzi, A., De Angelis, M., Celano, G., & Gobbetti, M. (2015). House microbiotas as sources of lactic acid bacteria and yeasts in traditional Italian sourdoughs. *Food Microbiology*, 52, 66–76. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.06.009>
- Minervini, F., Dinardo, F. R., Celano, G., De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2018). Lactic acid bacterium population dynamics in artisan sourdoughs over one year of daily propagations is mainly driven by flour microbiota and nutrients. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01984>
- Minutillo, S. A., Ruano-Rosa, D., Abdelfattah, A., Schena, L., & Malacrino, A. The Fungal Microbiome of Wheat Flour Includes Potential Mycotoxin Producers. *Foods*, 11(5), 676. <https://doi.org/10.3390/foods11050676>
- Moroni, A. V., Dal Bello, F., Zannini, E., & Arendt, E. K. (2011). Impact of sourdough on buckwheat flour, batter and bread: Biochemical, rheological and textural insights. *Journal of Cereal Science*, 54(2), 195-202. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2011.04.008>
- Nionelli, L., Curri, N., Curiel, J. A., Di Cagno, R., Pontonio, E., Cavoski, I., Gobbetti, M., & Rizzello, C. G. (2014). Exploitation of Albanian wheat cultivars: Characterization of the flours and lactic acid bacteria microbiota, and selection of starters for sourdough fermentation. *Food Microbiology*, 44, 96–107. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.05.011>
- Oshiro, M., Zendo, T., & Nakayama, J. (2020). Diversity and dynamics of sourdough lactic acid bacteriota created by a slow food fermentation system. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 131(4), 333-340. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2020.11.007>

- Pontonio, E., Nionelli, L., Curiel, J. A., Sadeghi, A., Di Cagno, R., Gobbetti, M., & Rizzello, C. G. (2015). Iranian wheat flours from rural and industrial mills: Exploitation of the chemical and technology features, and selection of autochthonous sourdough starters for making breads. *Food Microbiology*, 47, 99–110. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.10.011>
- Reese, A. T., Madden, A. A., Joossens, M., Lacaze, G., & Dunn, R. R. (2020). Influences of ingredients and bakers on the bacteria and fungi in sourdough starters and bread. *Applied and Environmental Science*, 5(1). <https://doi.org/10.1128/msphere.00950-19>
- Rizzello, C. G., Calasso, M., Campanella, D., De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2014). Use of sourdough fermentation and mixture of wheat, chickpea, lentil and bean flours for enhancing the nutritional, texture and sensory characteristics of white bread. *International Journal of Food Microbiology*, 180, 78–87. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.04.005>
- Rizzello, C. G., Cavoski, I., Turk, J., Ercolini, D., Nionelli, L., Pontonio, E., De Angelis, M., De Filippis, F., Gobbetti, M., & Di Cagno, R. (2015). Organic cultivation of *Triticum turgidum* subsp. *durum* is reflected in the flour-sourdough fermentation-bread axis. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(9), 3192–3204. <https://doi.org/10.1128/AEM.04161-14>
- Rocha, J. M. & Malcata, F. X. (2012). Microbiological profile of maize and rye flours, and sourdough used for the manufacture of traditional Portuguese bread. *Food Microbiology*, 31(1), 72–88. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.01.008>
- Rogers, L., Power, K., Gaora, P. O., & Fanning, S. (2015). *Escherichia coli* and Other Enterobacteriaceae: Occurrence and Detection. 1st Ed, Encyclopedia of Food and Health. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00259-2>.
- Salim-ur-Rehman, Paterson, A., & Piggott, J. R. (2006). Flavour in sourdough breads: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 17(10), 557–566. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.03.006>
- Schoster, A., Kokotovic, B., Permin, A., Pedersen, P. D., Bello, F. D., & Guardabassi, L. (2013). In vitro inhibition of *Clostridium difficile* and *Clostridium perfringens* by commercial probiotic strains. *Anaerobe* 20, 36–41. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2013.02.006>.
- Siepmann, F. B., Almeida, B. S., Ripari, V., Silva, B. J. G., Peralta-Zamora, P., Waczynskyj, N., & Spier, M. R. (2019). Brazilian sourdough: microbiological, structural, and technological evolution. *European Food Research and Technology*, 245, 1583–1594. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03254-8>
- Stets, M. I., Pinto, A. S., Huergo, L. F., Souza, E. M., Guimarães, V. F., Alves, A. C., Steffens, M. B. R., Monteiro, R. A., Pedrosa, F. O., & Cruz, L. M. (2013). Rapid identification of bacterial isolates from wheat roots by high resolution whole cell MALDI-TOF MS analysis. *Journal of Biotechnology*, 165(3-4), 167–174. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2013.04.001>

- Sun, X., Wu, S., Koksel, F., Xie, M., & Fang, Y. (2023). Effects of ingredient and processing conditions on the rheological properties of whole wheat flour dough during breadmaking - A review. *Food Hydrocolloids*, 135, 108123. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108123>
- Tafti, A. G., Peighardoust, S. H., Behnam, F., Bahrami, A., Aghagholizadeh, R., Ghamari, M., & Rafat, S. A. (2013). Effects of spray-dried sourdough on flour characteristics and rheological properties of dough. *Czech Journal of Food Science*, 31, 361-367. <https://doi.org/10.17221/183/2012-CJFS>
- Urien, C., Legrand, J., Montalent, P., Casaregola, S., & Sicard, D. (2019). Fungal species diversity in French bread sourdoughs made of organic wheat flour. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00201>
- Van Kerrebroeck, S., Maes, D., & De Vuyst, L. (2017). Sourdoughs as a function of their species diversity and process conditions, a meta-analysis. *Trends in Food Science & Technology*, 68, 152–159. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.08.016>
- Ventimiglia, G., Alfonzo, A., Galluzzo, P., Corona, O., Francesca, N., Caracappa, S., Moschetti, G., & Settanni, L. (2015). Codominance of *Lactobacillus plantarum* and obligate heterofermentative lactic acid bacteria during sourdough fermentation. *Food Microbiology*, 51, 57–68. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.04.011>
- Vogelmann, S. A., & Hertel, C. (2011). Impact of ecological factors on the stability of microbial associations in sourdough fermentation. *Food Microbiology*, 28(3), 583-589. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.11.010>
- Vrancken, G., De Vuyst, L., Van Der Meulen, R., Huys, G., Vandamme, P., & Daniel, H. M. (2010). Yeast species composition differs between artisan bakery and spontaneous laboratory sourdoughs: Research article. *FEMS Yeast Research*, 10(4), 471–481. <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2010.00621.x>
- Vrancken, G., Rimaux, T., Weckx, S., Leroy, F., & De Vuyst, L. (2011). Influence of temperature and backslopping time on the microbiota of a type I propagated laboratory wheat sourdough fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(8), 2716–2726. <https://doi.org/10.1128/AEM.02470-10>
- Wang, X., Zhu, X., Bi, Y., Zhao, R., Nie, Y., & Yuan, W. (2020). Dynamics of microbial community and changes of metabolites during production of type I sourdough steamed bread made by retarded sponge-dough method. *Food Chemistry*, 330, 127316. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127316>
- Wang, X., Huangfu, X., Zhao, M., & Zhao, R. (2023). Chinese traditional sourdough steamed bread made by retarded sponge-dough method: Microbial dynamics, metabolites changes and bread quality during continuous propagation. *Food Research International*, 163, 112145. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112145>

- Weckx, S., Van der Meulen, R., Maes, D., Scheirlink, I., Huys, G., Vandamme, P., & De Vuyst, L. (2010). Lactic acid bacteria community dynamics and metabolite production of rye sourdough fermentations share characteristics of wheat and spelt sourdough fermentations. *Food Microbiology*, 27(8), 1000-1008. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.06.005>
- Yan, B., Sadiq, F. A., Cai, Y., Fan, D., Chen, W., Zhang, H., & Zhao, J. (2019). Microbial diversity in traditional type I sourdough and jiaozi and its influence on volatiles in Chinese steamed bread. *LWT - Food Science and Technology*, 101, 764-773. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.004>
- Yin, W., Wang, J., Yang, S., Feng, J., Jia, F., & Zhang, C. (2015). Protein degradation in wheat sourdough fermentation with *Lactobacillus plantarum* M616. *Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences*, 7, 205-210. <https://doi.org/10.1007/s12539-015-0262-0>
- Zannini, E., Garofalo, C., Aquilanti, L., Santarelli, S., Silvestri, G., & Clementi, F. (2009). Microbiological and technological characterization of sourdoughs destined for bread-making with barley flour. *Food Microbiology*, 26(7), 744-753. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.07.014>
- Zhang, J., Liu, W., Sun, Z., Bao, Q., Wang, F., Yu, J., Chen, W., & Zhang, H. (2011). Diversity of lactic acid bacteria and yeasts in traditional sourdoughs collected from western region in Inner Mongolia of China. *Food Control*, 22(5), 767-774. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.11.012>
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., O'Toole, P. W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G. E., Gänzle, M. G., & Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2782-2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>

### **CAPÍTULO 3: Caracterização sensorial e físico-química de pães *sourdough* produzidos com diferentes fermentos desenvolvidos a partir de farinhas de trigo brasileiras**

#### **Resumo**

Pães *sourdough* apresentam características sensoriais distintas e benefícios à saúde decorrentes da complexa microbiota presente no fermento *sourdough*. Este estudo investigou a influência de seis fermentos *sourdough*, originados de diferentes farinhas de trigo brasileiras, na elaboração de pães de fermentação natural. A avaliação incluiu composição centesimal, análises físico-químicas, reológicas e sensoriais visando à caracterização do produto. A avaliação sensorial, conduzida com a participação de 300 provadores, empregou escalas *Just-About-Right* (JAR), hedônica e fichas *Check-All-That-Apply* (CATA) para uma descrição baseada nas experiências dos consumidores. Embora as microbiotas dos fermentos tenham variado significativamente, a maioria dos atributos não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. No entanto, notáveis diferenças observadas pelos provadores, especialmente em termos de textura e sabor, foram apontadas, evidenciando-se uma discrepância entre os resultados estatísticos e as percepções sensoriais. A análise de textura revelou parâmetros comparáveis entre as amostras, com diferenças que podem ser atribuídas à atividade microbiana, interações de glúten e amido. Foram identificados atributos sensoriais distintos, com o sabor ácido predominante nos pães integrais. O estudo concluiu que as espécies microbianas diferiram nos fermentos, além de influenciar, especificamente, nos aspectos visuais e sensoriais na qualidade dos pães. Assim, a farinha pode ser considerada um parâmetro importante para distinguir pães *sourdough* quanto às suas propriedades tecnológicas.

**Palavras-chave:** Provadores; Escala JAR; Análise CATA.

## 1. Introdução

O pão é considerado um alimento fundamental para o sustento do planeta, consumido por bilhões de pessoas em todo o mundo em diferentes tipos e formas (Brandt, 2019). Um tipo que vem atraindo considerável interesse tanto entre os consumidores quanto na comunidade científica devido às suas características sensoriais distintas e potenciais benefícios à saúde consiste no pão *sourdough*. Diferenças no processo de produção, incluindo a utilização de fermentos e farinhas distintos, podem resultar em variações significativas nas propriedades centesimais, reológicas, funcionais e sensoriais do pão *sourdough*.

As tendências atuais de consumo priorizam alimentos com apelo de sustentabilidade e saudabilidade; no entanto, as propriedades sensoriais dos alimentos são ainda a razão mais importante pela qual as pessoas os consomem (Forde e Graaf, 2022). Por isso, além das características nutricionais e centesimais, é imprescindível compreender a adequação dos atributos à preferência dos consumidores. Essa avaliação tem sido frequentemente realizada pelo uso de escalas JAR (*Just-About-Right*) e fichas CATA (*Check-All-That-Apply*), que permitem uma descrição mais detalhada baseada nas experiências individuais dos provadores, relevantes para se determinar o nível de satisfação do consumidor.

A qualidade dos pães *sourdough* é resultado da combinação entre matéria-prima, condições do processo de fermentação e microbiota fermentadora (Brandt, 2019). Assim, fermentos com consórcios microbianos distintos podem resultar em produtos heterogêneos. Sabendo-se que há distinção em termos de espécies, diversidade e abundância microbiana nos fermentos *sourdough*, é esperado que pães produzidos com *sourdough* distintos apresentem variedade de características visuais e sensoriais, com atributos de sabor, aroma, textura e aparência distintos, bem como aspectos nutricionais.

Neste sentido, o presente estudo investigou a influência de seis diferentes fermentos *sourdough*, com microbiotas significativamente diversas, na elaboração de pães de fermentação natural, bem como de suas características e qualidade. Por meio desta abordagem, o presente estudo visou compreender se as diferenças na microbiota dos fermentos se refletiriam na qualidade dos pães por eles fermentados.

## 2. Materiais e métodos

### 2.1 Produção dos pães

Seis fermentos *sourdough* (S-A, S-B, S-C, S-D, S-E e S-F) foram produzidos por Lima (capítulo 2, *a ser publicado*) utilizando-se seis farinhas de trigo distintas. S-A, S-B e S-C foram produzidos a partir de farinhas refinadas distintas, enquanto S-D, S-E e S-F, de farinhas integrais. Foram produzidos 3 pães de farinha refinada, denominados SB-A, SB-B e SB-C e 3 de farinha integral, denominados SB-D, SB-E e SB-F. Para garantir que fosse avaliada exclusivamente a influência da microbiota do fermento, adotou-se a padronização da farinha utilizada na produção dos pães. Assim, uma única variedade de farinha refinada foi empregada nos três pães produzidos com fermentos de tal natureza, enquanto uma única farinha integral foi empregada nos três tipos de fermento de igual constituição.

As formulações das massas estão apresentadas na Tabela 1. Massas brancas foram produzidas com 60% de hidratação; as integrais, com 75%, devido à capacidade de absorção de água diferente desse tipo de farinha. Para produção, farinha e água foram misturadas por 5 min em amassadeira semi-industrial (G. Paniz<sup>®</sup>, modelo AE 05L). Esta mistura foi autolisada durante 30 min. Após, fermento e sal foram adicionados à massa e misturados por mais 10 min na amassadeira. Após 4 etapas sucessivas de dobras na massa, totalizando-se 120 min, as massas foram porcionadas (800 g), modeladas, mantidas à temperatura ambiente por aproximadamente 3 h e posteriormente incubadas em câmara de crescimento (Progás<sup>®</sup>, modelo PRCL-200 G2), por 12 h à temperatura de 3 °C. Então, os pães foram forneados em forno de convecção com vapor (Prática Technipan<sup>®</sup>, modelo HPE80), pré-aquecido a 230 °C. As configurações do forno foram 3 min a 230 °C, seguido de 22 min a 190 °C e 5 min a 230 °C. Após o forneamento, os pães foram resfriados à temperatura ambiente ( $20 \pm 2^\circ\text{C}$ ) durante 2 h e então analisados. Para fins de ilustração, a Figura 1 apresenta as características visuais dos tratamentos após os pães serem resfriados.

**Tabela 1:** Ingredientes dos pães (base de peso da farinha, valores expressos em g).

	<b>Farinha de trigo (% na fórmula)</b>	<b>Água</b>	<b>Fermento <i>Sourdough</i></b>	<b>NaCl</b>
<b>Pães A, B e C</b>	2100 (100%)	1260 (60%)	840 (40%)	42 (2%)
<b>Pães D, E e F</b>	2100(100%)	1575 (75%)	525 (25%)	42 (2%)



**Figura 1:** Pães produzidos a partir de diferentes fermentos *sourdough*. Ordem de cima para baixo: pães produzidos com *sourdough* A, B, C, D, E e F.

## 2.2 Delineamento experimental

Embora o processo tenha sido realizado na iminência de se reduzir ao máximo todos os tipos de interferência externa, devido às condições locais (temperatura e umidade, por exemplo) sempre heterogêneas, os pães foram produzidos em três semanas consecutivas, adotando-se o delineamento em blocos casualizados, no intuito de controlar a variação experimental e reduzir o efeito de fatores externos não controlados. Todo o processo produtivo foi padronizado, repetindo-se rigorosamente as etapas nos mesmos dias e mesmas condições de produção. Com o intuito de mitigar as influências da distribuição espacial dos pães dentro do forno durante o processo de cocção, foi empregado o procedimento de rotação dos mesmos, consistindo na alteração de suas posições e na sua inversão no meio do ciclo da fornada. No total, 5 pães *sourdough* a partir de cada fermento *sourdough* foram produzidos em semanas distintas. Assim, três lotes independentes (cada um com 5 pães) para cada formulação foram obtidos. Dessa forma, todas as análises foram realizadas em triplicata, a partir de 3 repetições experimentais.

## 2.3 Avaliação da acidez das massas

O pH das massas foi mensurado em diferentes estágios, utilizando-se pHmetro portátil com uma sonda de penetração própria para alimentos (Testo, modelo 206-pH2). Os valores de pH foram determinados em momentos distintos: i) diretamente no fermento *sourdough*, imediatamente antes de adicioná-los à massa; ii) das massas, antes da modelagem; iii) das massas, antes da fermentação refrigerada; e iv) das massas, após a fermentação refrigerada de 12 h e previamente ao forneamento.

## 2.4 Composição nutricional dos pães

As análises de composição consistiram em: teor de cinzas, umidade, proteínas e lipídeos. O teor de cinzas foi determinado por incineração em mufla (TECNAL, modelo TE-387) a 550 °C por 300 min. A umidade foi determinada por secagem em estufa (FANEM, modelo 320-SE) a 130 °C por 90 min. O teor de gordura foi avaliado por extração direta em Soxhlet, segundo o método 032/IV (Instituto Adolfo Lutz, 2008, p. 117). Os resíduos secos e desengordurados foram utilizados para análise dos teores de

proteína pelo método Kjeldahl modificado (037/IV) (Instituto Adolfo Lutz, 2008, p. 123) com fator de conversão de 5,83, específico para trigo e produtos farináceos, a fim de se converter o nitrogênio total em valores de proteína. Os carboidratos totais foram calculados por diferença (100 - (proteínas + lipídios + cinzas + umidade)), de acordo com Menezes et al. (2004).

## **2.5 Análises físico-químicas e tecnológicas dos pães**

Parâmetros como altura, peso e volume foram mensurados após o resfriamento dos pães por um período de 2 horas. A altura foi mensurada após o forneamento, no intuito de se comparar o crescimento dos diferentes produtos, utilizando-se paquímetro digital (Carbon fiber CE). Já as massas foram determinadas antes do forneamento e o completo resfriamento dos pães, para cálculo da perda de forneamento, conforme Demirkesen et al. (2013). O volume específico dos pães (cm<sup>3</sup>/g) foi determinado pela técnica de deslocamento de sementes de painço e calculado através da taxa entre o volume e a massa de cada pão, conforme Silva et al. (1998). Os pães foram, ainda, avaliados quanto ao pH, acidez titulável (AT) e atividade de água (Aw) no mesmo dia em que foram produzidos. Primeiramente, 10 g de cada pão triturados (Thermomix, modelo TM5) foram homogeneizados com 90 mL de água destilada. Os valores de pH foram determinados em pHmetro (ION, modelo pHB 500). TTA foi determinada após homogeneização e expressa como a quantidade (mL) de NaOH 0,1 M necessária para atingir o valor de pH de 8,3, utilizando-se fenolftaleína 0,1% como indicador, de acordo com o método 02-31.01 (AACC, 2010). A atividade de água foi determinada em equipamento Aqualab (Meter, modelo 4TE).

## **2.6 Análises colorimétricas dos pães**

A medição instrumental da cor foi realizada por meio de colorímetro Konica Minolta Optics (Color Reader, CR-10 câmera), na crosta e miolo dos pães, em triplicata. As fatias utilizadas foram as mais ínteras, medindo-se um ponto em cada, após resfriamento de 2 horas e no mesmo dia de sua produção. Para medida da cor do miolo, os pães foram fatiados, resultando em fatias com espessura de aproximadamente 1,5cm, mensurados de acordo com as configurações: CIE, ângulo do observador 10°, iluminante D65; ângulo de iluminação 8° e visão difusa. As coordenadas de cores foram

determinadas no espaço de cores CIELAB, cujos resultados foram expressos em termos de L\* (luminosidade), a\* (vermelhidão) e b\* (amarelecimento).

## 2.7 Análise do perfil de textura (TPA) dos pães

A análise de textura da crosta e do miolo dos pães foi realizada por meio de texturômetro (Stable Micro Systems, modelo TA.XT Express com carga de 4,5 kg), em triplicata, para cada repetição dos pães, no mesmo dia em que foram produzidos. Para a análise de firmeza do miolo e crocância da crosta, os pães foram cortados em fatias de 1,5 cm de espessura. Os parâmetros avaliados consistiram em dureza, coesividade, elasticidade, mastigabilidade e resiliência, determinados de acordo com as recomendações do fabricante. Para a mensuração dos parâmetros, as fatias foram dispostas de forma a se avaliar a casca e o miolo simultaneamente. O teste foi realizado utilizando-se probe cilíndrica de alumínio P/100 mm, com célula de carga de 5 kg, velocidade de retorno 10 mm/s, distância de retorno 50 mm, força de contato e *trigger force* 10, tempo de 5 seg entre o 1º e 2º contato, com as velocidades de pré-teste, teste e pós teste iguais a 5 mm/s, considerando-se uma distância < 10 mm/s.

## 2.8 Análise sensorial dos pães

A análise sensorial dos pães *sourdough* foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa (CAAE 59705422.5.0000.5153) e realizada no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa. Após a leitura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, os provadores foram acomodados em cabines individuais. Em cada semana, 100 provadores não treinados participaram dos testes sensoriais. Ao final das três semanas, totalizaram-se 300 participantes, compostos por membros da comunidade acadêmica ou externos. Os critérios de exclusão compreendiam: indivíduos com idade inferior a 18 anos e aqueles que apresentassem aversão, sensibilidade ou intolerância ao glúten.

Três diferentes lotes de cada formulação foram avaliados, sempre 24 horas após a produção. Para as análises, os pães foram cortados em fatias de 1,5 cm de espessura, as quais foram cortadas em 8 pedaços cúbicos medindo 4x4x2; cada provador recebeu um pedaço de cada uma das amostras. Assim, os provadores avaliaram 6 amostras em

uma única sessão, contemplando, no mesmo momento, todos os testes sensoriais. As amostras foram apresentadas uma a uma, seguindo-se um delineamento experimental de blocos completos balanceados para equilibrar o efeito da ordem de apresentação (Macfie et al., 1989). As amostras foram codificadas com números aleatórios de três dígitos e servidas em temperatura ambiente, em aparato de acrílico e avaliadas sob condições de luz branca. Entre uma amostra e outra, os provadores foram orientados a limpar o palato com água mineral não gaseificada e biscoito tipo água e sal.

Os provadores indicaram o grau de aceitação de cada amostra a partir de uma escala hedônica de nove pontos, variando de 1 = “desgostei extremamente” a 9 = “gostei extremamente” com valor médio 5 = “nem gostei nem desgostei”, considerando-se os atributos aparência, cor, aroma, crocância, sabor e aspecto geral (Tabela Suplementar 1). Análise CATA foi empregada para determinar os principais atributos, fornecidos em lista pré-definida (Tabela Suplementar 2), que melhor descrevessem as amostras disponíveis. O número de atributos na ficha CATA foi igual a 61, contemplando-se aspectos de cor, sabor, aroma, propriedades de textura e consistência, aparência, percepções e sentimentos, visando à definição das particularidades de cada pão. Para estabelecer se determinado atributo foi percebido em um nível excessivo, escasso ou ideal, análise JAR foi realizada a partir de uma escala de cinco pontos, com variação de 1 “muito menos” a 5 “muito mais”, com valor médio 3 considerado “ideal”. Os extremos da escala (1 e 5) representam o nível de um atributo que se afasta do ponto teórico ideal. Os atributos avaliados foram acidez, sabor azedo, miolo macio, crocância, miolo elástico, número de mastigadas, cor, firmeza e umidade (Tabela Suplementar 3). A análise de penalidade (PA) foi realizada transformando-se a escala JAR de cinco pontos em uma de três pontos. Para tanto, as respostas “muito menos” e “menos” foram agrupadas em um grupo único denominado “muito menos” e as respostas “mais” e “muito mais” foram agrupadas em um grupo único denominado “muito mais”. A análise das penalizações foi realizada para se compreender quais dos atributos em avaliação afetaram em maior ou menor grau a aceitabilidade do produto. As penalizações indicam como a aceitabilidade global de um produto diminui quando um determinado atributo é visto como “muito mais” ou “muito menos”, de forma que quanto maiores forem os valores obtidos, maior será o impacto na aceitabilidade. Nas categorias em que o número de respostas se mostrou abaixo do limite de 20%, as penalizações não foram levadas em consideração (Rothman e Parker, 2009). Esse limite permite que a análise se concentre nos problemas avaliados pela maioria do painel de provadores. Além disso,

considerou-se que um atributo foi capaz de afetar a aceitabilidade do produto quando a redução média foi superior a 1 (Popper, 2014).

## 2.9 Análise dos dados

Os resultados das propriedades físico-químicas das massas, nutricionais dos pães, físico-química dos pães, colorimétricas e texturais dos pães foram submetidos ao teste ANOVA, com nível de significância de 5%, no software R (versão 4.2.2). Para os resultados da sensorial, as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software XLSTAT 2023. Os resultados da ficha CATA foram submetidos à análise de correspondência, com base na distância do *qui-quadrado*. O teste Q de Cochran foi realizado para identificar diferenças significativas entre as amostras para cada um dos descritores do questionário CATA. Os resultados do JAR foram apreciados pela análise de penalidade para identificar direções potenciais para melhoria do produto relacionados à aceitabilidade do consumidor, destacando os atributos mais penalizadores. Os resultados da escala hedônica foram submetidos à avaliação da média dos scores.

## 3. Resultados

### 3.1 Acidez das massas

O pH dos fermentos *sourdough* antes da adição à massa variou de  $3,70 \pm 0,18$  (A) a  $4,13 \pm 0,10$  (F), conforme destacado na Tabela 2. Não houve diferença estatística significativa entre os valores de pH para os fermentos brancos. Em relação aos integrais, apenas E e F diferiram estatisticamente entre si. A diferiu de D e F. F, por sua vez, diferiu também de C. Durante a etapa de modelagem, o pH variou de  $4,60 \pm 0,09$  (B) a  $5,07 \pm 0,10$  (F). As diferenças estatísticas significativas foram apenas entre as massas brancas e as integrais, o que significa que as brancas não diferiram entre si, assim como as integrais também não.

**Tabela 2:** Valor de pH dos fermentos *sourdough*. pH inicial = pH dos fermentos *sourdough* antes da adição à massa; pH AFR = pH da massa antes da fermentação refrigerada; pH DFR = pH da massa após a fermentação refrigerada; pH e TTA pães = pães pós-ferneamento e completo resfriamento. **Nota:** Valores médios (n = 3) com letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente (teste de Tukey,  $p < 0,05$ ).

	pH inicial	pH AFR	pH DFR	pH pães	TTA pães
<b>A</b>	3,70 ± 0,18 <sup>a</sup>	4,95 ± 0,16 <sup>a</sup>	4,46 ± 0,33 <sup>a</sup>	4,01 ± 0,03 <sup>a</sup>	5,64 ± 0,61 <sup>a</sup>
<b>B</b>	3,88 ± 0,12 <sup>ab</sup>	4,96 ± 0,23 <sup>a</sup>	4,38 ± 0,22 <sup>a</sup>	4,03 ± 0,03 <sup>a</sup>	6,19 ± 0,31 <sup>a</sup>
<b>C</b>	3,84 ± 0,11 <sup>ac</sup>	4,98 ± 0,25 <sup>a</sup>	4,41 ± 0,23 <sup>a</sup>	4,03 ± 0,07 <sup>a</sup>	6,28 ± 0,39 <sup>a</sup>
<b>D</b>	4,03 ± 0,03 <sup>bc</sup>	5,43 ± 0,05 <sup>b</sup>	4,52 ± 0,22 <sup>a</sup>	4,26 ± 0,02 <sup>b</sup>	12,46 ± 0,08 <sup>b</sup>
<b>E</b>	3,82 ± 0,08 <sup>ac</sup>	5,28 ± 0,14 <sup>ab</sup>	4,46 ± 0,21 <sup>a</sup>	4,25 ± 0,01 <sup>b</sup>	11,60 ± 0,40 <sup>b</sup>
<b>F</b>	4,13 ± 0,10 <sup>b</sup>	5,42 ± 0,04 <sup>b</sup>	4,66 ± 0,37 <sup>a</sup>	4,34 ± 0,10 <sup>b</sup>	10,76 ± 1,15 <sup>b</sup>

Após a modelagem, as massas fermentaram por 12 h sob refrigeração. Antes de iniciada a fermentação refrigerada, o pH variou de 4,95 ± 0,16 (A) a 5,43 ± 0,05 (D). Massas brancas diferiram das integrais, exceto de D, mas não diferiram entre si. Após a fermentação refrigerada, a variação no pH foi de 4,38 ± 0,22 (B) a 4,66 ± 0,37 (F), sem diferença estatística significativa (Tabela 2).

### 3.2 Análises físico-químicas dos pães

Os pães brancos apresentaram menores valores de pH e TTA, variando o pH de 4,01 ± 0,03 (C) a 4,03 ± 0,07 (A) e a TTA de 5,64 ± 0,61 (A) a 6,28 ± 0,39 (C) mL de NaOH. Para os integrais, o pH variou de 4,25 ± 0,01 (E) a 4,34 ± 0,10 (F) e a TTA de 10,76 ± 1,15 (F) a 12,46 ± 0,08 (E) mL de NaOH. Contudo, os valores de pH e TTA do pão assado só diferiram entre os pães brancos e os integrais, sem diferença significativa entre pães do mesmo tipo de farinha (Tabela 2). Não houve nenhuma diferença significativa para os valores de altura (mm) e volume (real e específico) (cm<sup>3</sup>/g) entre as amostras. Para perda de forneamento (%), a única diferença significativa foi entre A e D

(Tabela 3). Em relação à atividade de água, nenhuma diferença significativa foi observada, com valores variando de  $0,966 \pm 0,00$  (D) a  $0,968 \pm 0,00$  (F).

**Tabela 3:** Valor dos parâmetros mensurados pós-forneamento e completo resfriamento dos pães. Aw = atividade de água. **Nota:** Valores médios (n = 3) com letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente (teste de Tukey,  $p < 0,05$ ).

	Altura (mm)	Volume específico (cm <sup>3</sup> /g)	Perda de peso no forneamento (%)	Aw
<b>A</b>	$88,7 \pm 10,30^a$	$1,88 \pm 0,25^a$	$9,08 \pm 1,45^a$	$0,967 \pm 0,00^a$
<b>B</b>	$85,4 \pm 3,03^a$	$1,89 \pm 0,21^a$	$11,39 \pm 1,12^{abc}$	$0,968 \pm 0,00^a$
<b>C</b>	$89,6 \pm 5,47^a$	$1,81 \pm 0,07^a$	$9,98 \pm 1,02^{ab}$	$0,968 \pm 0,00^a$
<b>D</b>	$72,6 \pm 3,18^a$	$2,02 \pm 0,07^a$	$12,56 \pm 1,18^{bc}$	$0,968 \pm 0,00^a$
<b>E</b>	$77,5 \pm 9,97^a$	$1,83 \pm 0,03^a$	$11,49 \pm 0,29^{abc}$	$0,966 \pm 0,00^a$
<b>F</b>	$79,17 \pm 2,82^a$	$1,99 \pm 0,18^a$	$11,27 \pm 0,26^{abc}$	$0,968 \pm 0,00^a$

### 3.3 Composição nutricional

O teor de cinzas variou de  $1,18 \pm 0,10$  (C) a  $1,80 \pm 0,04$  (F). As diferenças significativas se deram dos pães brancos em relação aos integrais; no entanto, não houve diferença entre os pães do mesmo tipo (branco ou integral). O teor de umidade variou de  $37,52 \pm 1,37$  (C) a  $40,45 \pm 0,93$  (D) e as diferenças estatísticas se deram apenas entre pães brancos e integrais. A concentração de proteínas variou de  $7,04 \pm 0,13$  (B) a  $7,78 \pm 0,13$  (D), não existindo diferença estatística entre os pães do mesmo tipo, apenas entre os brancos e os integrais. O teor de lipídeos variou de  $0,26 \pm 0,05$  (A) a  $0,41 \pm 0,03$  (E), com a única diferença significativa entre A e E. Por fim, no cálculo do teor de carboidratos por diferença (Carboidratos =  $100 - (\%Proteínas + \%Lipídios + \%Umidade + \%Cinzas)$ ), a variação foi de  $49,83 \pm 0,92$  (E) a  $53,92 \pm 1,35$  (B). A nível de significância, E e F diferiram dos pães brancos, enquanto D se diferenciou apenas do pão C. Não houve diferenças significativas entre os pães do mesmo tipo (Tabela 4).

**Tabela 4:** Valor dos parâmetros mensurados pós-forneamento e completo resfriamento dos pães. **Nota:** Valores médios ( $n = 3$ ) com letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente (teste de Tukey,  $p < 0,05$ ).

	<b>Cinzas</b>	<b>Umidade</b>	<b>Proteínas</b>	<b>Lipídeos</b>	<b>Carboidratos totais</b>
<b>A</b>	$1,23 \pm 0,07^a$	$38,64 \pm 0,29^{ab}$	$7,24 \pm 0,14^a$	$0,26 \pm 0,05^a$	$52,63 \pm 0,23^{bc}$
<b>B</b>	$1,23 \pm 0,16^a$	$38,04 \pm 0,96^a$	$7,04 \pm 0,13^a$	$0,33 \pm 0,11^{ab}$	$53,36 \pm 0,9^{bc}$
<b>C</b>	$1,18 \pm 0,10^a$	$37,52 \pm 1,37^a$	$7,09 \pm 0,14^a$	$0,29 \pm 0,04^{ab}$	$53,92 \pm 1,35^c$
<b>D</b>	$1,57 \pm 0,23^b$	$39,15 \pm 0,46^{ab}$	$7,78 \pm 0,13^b$	$0,30 \pm 0,08^{ab}$	$51,20 \pm 0,55^{ab}$
<b>E</b>	$1,74 \pm 0,06^b$	$40,45 \pm 0,93^b$	$7,57 \pm 0,06^b$	$0,41 \pm 0,03^b$	$49,83 \pm 0,92^a$
<b>F</b>	$1,80 \pm 0,04^b$	$40,01 \pm 0,23^{ab}$	$7,67 \pm 0,14^b$	$0,35 \pm 0,08^{ab}$	$50,17 \pm 0,40^a$

### 3.4 Análises colorimétricas

A colorimetria do miolo, para os parâmetros  $L^*$  (luminosidade) e  $a^*$  (vermelhidão), revelou diferenças significativas entre os pães de farinhas distintas, mas não entre amostras elaboradas com a mesma matéria-prima, exceto para o parâmetro luminosidade do pão A e pão B. O valor de  $L$  variou de  $53,07 \pm 0,38$  (B) a  $58,93 \pm 1,68$  (A) para os pães brancos e de  $42,92 \pm 0,56$  (D) a  $44,70 \pm 0,78$  (E) para os integrais. Para  $a^*$ , a variação foi de  $4,23 \pm 0,28$  (A) a  $5,02 \pm 1,22$  (C) para os pães brancos e de  $8,19 \pm 0,53$  (E) a  $9,48 \pm 1,44$  (D) para os integrais. Em relação à  $b^*$ , não houve diferença estatística entre nenhuma das amostras, com variação de  $13,68 \pm 0,64$  (B) a  $15,89 \pm 0,40$  (A) para os brancos e de  $15,9 \pm 1,08$  (F) a  $16,33 \pm 0,64$  (E) para os integrais. Em relação à casca, para  $L^*$ , os pães brancos A e C diferiram estatisticamente de todos os integrais, enquanto B não diferiu de nenhum. Para  $a^*$ , não houve nenhuma diferença significativa entre as amostras e para  $b^*$  as diferenças se concentraram entre os tipos, com todos os brancos diferindo de todos os integrais (Tabela 5).

**Tabela 5:** Valor dos resultados das análises colorimétricas para miolo e casca. **Nota:** Valores médios ( $n = 3$ ) com letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente (teste de Tukey,  $p < 0,05$ ).

	Miolo			Casca		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
<b>A</b>	58,93 ± 1,68 <sup>d</sup>	13,34 ± 1,24 <sup>a</sup>	20,75 ± 0,72 <sup>b</sup>	47,72 ± 2,01 <sup>c</sup>	4,23 ± 0,28 <sup>a</sup>	15,89 ± 0,40 <sup>a</sup>
<b>B</b>	53,07 ± 0,38 <sup>c</sup>	13,61 ± 0,50 <sup>a</sup>	21,68 ± 1,54 <sup>b</sup>	43,57 ± 0,85 <sup>bc</sup>	4,23 ± 0,95 <sup>a</sup>	13,68 ± 0,64 <sup>a</sup>
<b>C</b>	56,02 ± 0,39 <sup>cd</sup>	13,43 ± 1,19 <sup>a</sup>	19,93 ± 2,59 <sup>b</sup>	47,47 ± 2,55 <sup>c</sup>	5,02 ± 1,22 <sup>ab</sup>	14,64 ± 0,66 <sup>a</sup>
<b>D</b>	42,92 ± 0,56 <sup>ab</sup>	11,25 ± 1,27 <sup>a</sup>	15,60 ± 1,18 <sup>a</sup>	37,92 ± 2,29 <sup>ab</sup>	9,48 ± 1,44 <sup>c</sup>	16,81 ± 1,52 <sup>a</sup>
<b>E</b>	44,70 ± 0,78 <sup>b</sup>	11,83 ± 0,37 <sup>a</sup>	15,19 ± 0,30 <sup>a</sup>	39,08 ± 0,22 <sup>ab</sup>	8,19 ± 0,53 <sup>bc</sup>	16,33 ± 0,64 <sup>a</sup>
<b>F</b>	43,88 ± 1,80 <sup>b</sup>	11,48 ± 1,37 <sup>a</sup>	15,21 ± 0,65 <sup>a</sup>	39,91 ± 2,03 <sup>ab</sup>	8,67 ± 0,57 <sup>c</sup>	15,90 ± 1,08 <sup>a</sup>

### 3.5 Análise do perfil de textura

A Tabela 6 apresenta as propriedades mecânicas determinadas através da análise do perfil de textura dos pães elaborados (dureza, elasticidade, coesividade, resiliência e mastigabilidade). Em decorrência de a análise ter sido realizada na casca e no miolo simultaneamente, os valores referentes ao desvio foram consideráveis para dureza e mastigabilidade. Não houve diferença significativa entre as amostras para nenhum dos parâmetros avaliados. Adesividade e fraturabilidade também foram mensurados, no entanto, os resultados não foram condizentes.

**Tabela 6:** Parâmetros de texturas das amostras de pão *sourdough* analisado. **Nota:** Valores médios (n = 3) com letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente (teste de Tukey,  $p < 0,05$ ).

	Dureza (G)	Mastigabilidade	Coesividade	Elasticidade	Resiliência
<b>A</b>	3757,5 ± 777,35 <sup>a</sup>	3067,8 ± 747,90 <sup>a</sup>	0,83 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,98 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,45 ± 0,07 <sup>a</sup>
<b>B</b>	4894,4 ± 831,25 <sup>a</sup>	3073,3 ± 751,00 <sup>a</sup>	0,81 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,98 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,43 ± 0,04 <sup>a</sup>
<b>C</b>	4134,7 ± 634,45 <sup>a</sup>	3149,1 ± 239,09 <sup>a</sup>	0,81 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,96 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,41 ± 0,06 <sup>a</sup>
<b>D</b>	4283,9 ± 641,59 <sup>a</sup>	3324,2 ± 588,68 <sup>a</sup>	0,81 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,96 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,41 ± 0,02 <sup>a</sup>
<b>E</b>	4747,0 ± 264,49 <sup>a</sup>	3172,1 ± 241,84 <sup>a</sup>	0,80 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,98 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,42 ± 0,06 <sup>a</sup>
<b>F</b>	3699,3 ± 266,07 <sup>a</sup>	2898,1 ± 238,40 <sup>a</sup>	0,81 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,97 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,43 ± 0,02 <sup>a</sup>

### 3.6 Análise sensorial

A análise sensorial foi realizada por 300 provadores não treinados, divididos em três sessões de 100 provadores cada. Destes, 36% corresponderam a homens e 64% a mulheres, com idade média de 26 anos, variando entre 18–66 anos. 28,93% dos provadores possuíam formação completa em nível superior, 65,72% superior incompleto, 4,40% não possuíam ensino médio completo e 0,95% não informaram a escolaridade. 84,60% dos provadores afirmaram que consomem pão frequentemente/sempre; 12,26%, ocasionalmente; 2,83%, raramente; e 0,31% não responderam. 82,07% declararam gostar muito de pão; 16,67%, gostam; e 1,26% se mostraram indiferentes. Quanto ao pão *sourdough* propriamente dito, apenas 36,67% declararam já ter consumido, enquanto 34,67% não responderam a esta questão.

### 3.6.1 Análise CATA

Os consumidores foram solicitados a assinalar todos os termos aplicáveis a cada uma das amostras avaliadas. No total, foram disponibilizados 61 termos para os provadores, distribuídos entre sabor, aroma, aparência, textura e aspecto geral. As Tabelas 7, 8, 9, 10 e 11 mostram a frequência com que cada um dos termos foi utilizado na descrição dos pães, em cada uma das sessões. Os valores correspondem às marcações indicadas pelos 100 consumidores em cada sessão. Dentre os termos que abrangiam uma classificação geral, para todas as amostras, o termo majoritariamente marcado foi “fácil de mastigar”, seguido por “difícil de mastigar”, mostrando a divisão de opinião entre os provadores. Aquém desses dois termos, “prazer em consumir” foi característico de todos. Para classificação no quesito aroma, os atributos “aroma agradável”, “aroma fermentado” e “aroma suave” foram marcantes. Para o sabor, “gostoso”, “sabor marcante” e “sabor ácido” se destacaram. “Sabor azedo” e “sabor ácido” foram mais atribuídos para as amostras integrais. Na textura, o aspecto rústico foi destaque, seguido por “macio” e “textura agradável”. Na aparência, “atrativo/bonito” foi o atributo com maior ênfase. Os demais variaram entre os pães brancos e integrais, sobretudo no que diz respeito à cor. Ademais, pães integrais tiveram maior frequência no aspecto “muitos alvéolos” comparado aos brancos.

O teste Q de Cochran foi aplicado para identificar quaisquer diferenças significativas entre amostras para cada um dos descritores da ficha CATA. Os resultados demonstraram diferenças significativas para 47,69% dos atributos na sessão 1, sendo: 8 relacionados à aparência (cor e quantidade de alvéolos, além de rusticidade); 9 relacionados ao sabor (azedo, tostado, acastanhado, agradável, desagradável, rançoso, ruim, forte e sabor marcante); 5 relacionados ao aroma (doce, agradável, tostado, caramelizado e aroma suave); 1 relacionado à textura (gelatinoso) e 2 relacionados ao aspecto geral (massa crua e estimula o apetite). Para a sessão 2, 58,46% foram diferentes estatisticamente, sendo: todos os 10 relacionados à aparência; 9 relacionados ao sabor (salgado, azedo, tostado, ácido, agradável, ruim, forte, marcante e indiferente); 5 relacionados ao aroma (lácteo, tostado, caramelizado, assado e suave); 10 relacionados à textura (miolo elástico, boa consistência, úmido, pegajoso, macio, duro, agradável, desagradável, casca pururucada e gelatinoso) e 4 relacionados ao aspecto geral (massa crua, fácil de mastigar, difícil de mastigar e estimula o apetite). Por fim, na sessão 3, 52,31% dos atributos demonstraram diferenças significativas: 8 relacionados à

aparência (cor cobre e feio foram os únicos sem diferenças); 10 relacionados ao sabor (azedo, tostado, ácido, acético, agradável, amargo, gostoso, forte, marcante e indiferente); 4 relacionados ao aroma (desagradável, tostado, caramelizado e suave); 8 relacionados à textura (idem sessão 2, exceto pela não significância de úmido e agradável) e 3 relacionados ao geral (idem sessão 3, exceto pela não significância de estimula o apetite).

Nas Figuras 2, 3, 4, 5 e 6 estão representados os mapas bidimensionais com os resultados da análise de correspondências para visualizar a associação entre os atributos e as amostras. Para aparência (Fig. 2) é possível observar que apenas os pães brancos foram correlacionados com “pouco alvéolos”, em todas as sessões. No entanto, em cada uma das sessões, pães diferentes foram associados a este atributo (SB-C na sessão 1, SB-A na sessão 2 e na sessão 3, SB-B e SB-C). Da mesma forma, “feio” também foi correlacionado apenas com os brancos. No aspecto de sabor (Fig. 3), os pães brancos foram correlacionados com doce, indiferente, salgado, gostoso e agradável. Para “acético”, “ácido” e “azedo”, atributos característicos de pães *sourdough*, foi observado correlação apenas para os pães integrais, com destaque para o pão E (SB-E), correlacionado, também, aos termos amargo, desagradável, rançoso e ruim. Nos resultados de aroma (Fig. 4), os pães integrais foram associados à “caramelizado”, “tostado”, “fermentado” e “doce”, para todas as sessões, enquanto os brancos aos termos “lácteo”, “macio”, “agradável”, além de “azedo” e “cítrico” nas sessões 1 e 2. Em relação à textura (Fig. 5), os pães brancos foram correlacionados com “gelatinoso”, “desagradável”, “miolo elástico”, “pegajoso” e “casca pururucada”. Os integrais, por sua vez, foram atribuído aos termos “boa consistência”, “esfarinhado”, “textura agradável”, “áspero”, “seco” e “aparência rústica”. Por fim, no aspecto geral, os integrais foram mais correlacionados à “fácil de mastigar”, enquanto os brancos à “prazer ao consumir”, “sensação de conforto”, “memória afetiva” e “massa crua”.

**Tabela 7:** Termos disponíveis na ficha CATA para avaliação de aparência das amostras. **Nota:** S1, S2 e S3, referem-se, respectivamente, aos valores da sessão 1, 2 e 3. SB = *sourdough* bread.

Amostra	SB-A			SB-B			SB-C			SB-D			SB-E			SB-F		
	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3
Casca marrom	23	20	10	23	17	12	17	16	24	87	89	87	89	91	85	93	88	81
Casca cobre	20	16	13	22	24	20	23	19	17	8	11	11	11	9	16	7	17	19
Casca laranja	20	17	17	21	17	20	25	16	18	1	4	1	2	2	0	2	1	5
Casca creme	32	26	41	26	19	25	27	34	22	2	2	0	2	1	0	1	3	0
Casca dourada	29	41	35	30	46	35	29	32	31	8	5	4	3	6	4	9	8	8
Muitos alvéolos	29	18	38	28	49	41	32	38	30	46	43	55	46	39	49	44	44	39
Poucos alvéolos	35	54	38	31	24	35	32	33	42	16	27	22	19	32	37	29	23	35
Bonito	63	61	65	55	81	59	65	70	66	60	81	74	62	73	70	65	71	71
Feio	15	26	18	15	5	20	7	16	21	11	7	11	13	10	9	8	11	8
Aparência rústica	38	36	45	47	46	43	43	39	51	65	72	74	59	72	72	66	75	76

**Tabela 8:** Termos disponíveis na ficha CATA para avaliação de sabor das amostras. **Nota:** S1, S2 e S3, referem-se, respectivamente, aos valores da sessão 1, 2 e 3. SB = *sourdough* bread.

Amostra	SB-A			SB-B			SB-C			SB-D			SB-E			SB-F		
	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3
Salgado	22	22	24	20	22	23	25	25	21	16	13	23	16	16	23	16	8	18
Azedo	28	33	29	32	37	26	33	34	27	52	57	48	57	57	48	42	53	56
Tostado	6	5	7	7	7	9	10	8	4	12	15	14	20	11	13	15	18	5
Ácido	30	29	24	31	28	21	23	30	18	31	45	38	32	48	50	35	41	52
Acético	12	15	16	18	21	17	19	23	16	22	29	29	26	27	23	21	28	33
Acastanhado	7	7	7	3	9	7	4	5	6	15	7	16	14	15	11	17	13	13
Agradável	61	51	53	47	58	59	47	48	54	38	38	37	24	34	43	51	38	26
Desagradável	12	20	20	14	16	14	8	18	15	17	25	21	26	23	24	9	21	24
Doce	12	10	5	11	7	7	8	6	9	10	3	5	8	8	3	10	7	3
Rançoso	6	7	10	5	8	9	8	11	7	5	11	9	19	11	7	6	16	7
Amargo	10	15	10	11	13	7	9	15	2	12	20	12	18	20	15	12	24	15
Gostoso	50	38	52	39	49	43	46	44	46	38	36	34	37	36	32	47	36	33
Ruim	16	22	19	19	11	18	12	22	16	16	28	25	27	38	23	13	25	22
Forte	17	20	20	24	20	17	22	20	17	40	55	49	45	55	51	37	44	51
Marcante	26	22	27	28	32	15	36	35	24	44	47	46	39	47	49	43	39	47
Indiferente	21	28	16	17	27	24	21	27	26	12	8	11	12	8	8	17	14	16

**Tabela 9:** Termos disponíveis na ficha CATA para avaliação de aroma das amostras.

**Nota:** S1, S2 e S3, referem-se, respectivamente, aos valores da sessão 1, 2 e 3. SB = *sourdough bread*.

Amostra	SB-A			SB-B			SB-C			SB-D			SB-E			SB-F		
	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3
Doce	11	11	0	9	18	18	10	13	14	9	14	14	22	15	17	14	15	14
Lácteo	8	8	15	5	22	6	6	14	11	4	6	8	4	4	11	6	5	6
Fermentado	35	41	50	34	46	34	34	40	40	40	38	54	43	47	54	35	44	52
Agradável	51	42	51	39	39	47	47	51	50	44	53	51	31	40	40	49	44	48
Desagradável	2	7	14	7	9	3	3	8	8	9	5	3	9	9	6	5	7	12
Tostado	2	3	2	4	3	5	7	4	3	12	14	10	12	11	12	13	13	9
Cítrico	11	12	12	16	9	7	15	14	4	13	13	11	13	10	13	7	8	10
Caramelizado	2	3	1	0	1	2	0	1	1	5	8	11	5	11	7	5	8	9
Assado	12	11	16	10	14	17	18	11	15	16	21	19	11	22	15	15	22	10
Azedo	21	14	15	17	22	15	16	21	12	15	22	22	19	17	24	17	17	22
Suave	47	46	31	29	36	40	35	44	43	25	25	28	19	28	22	29	26	22

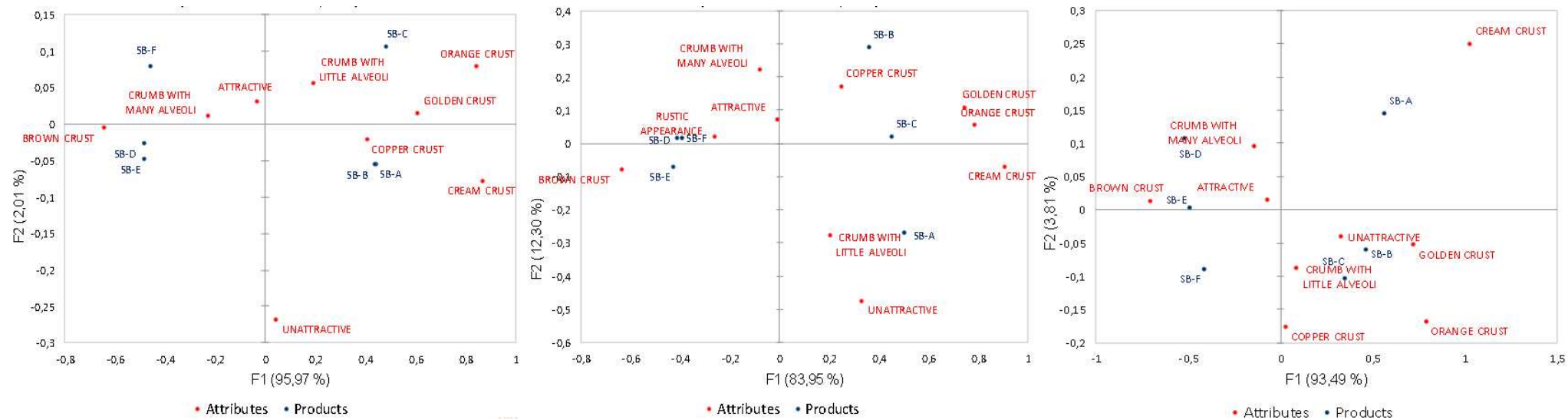
**Tabela 10:** Termos disponíveis na ficha CATA para avaliação de textura das amostras.

**Nota:** S1, S2 e S3, referem-se, respectivamente, aos valores da sessão 1, 2 e 3. SB = *sourdough bread*.

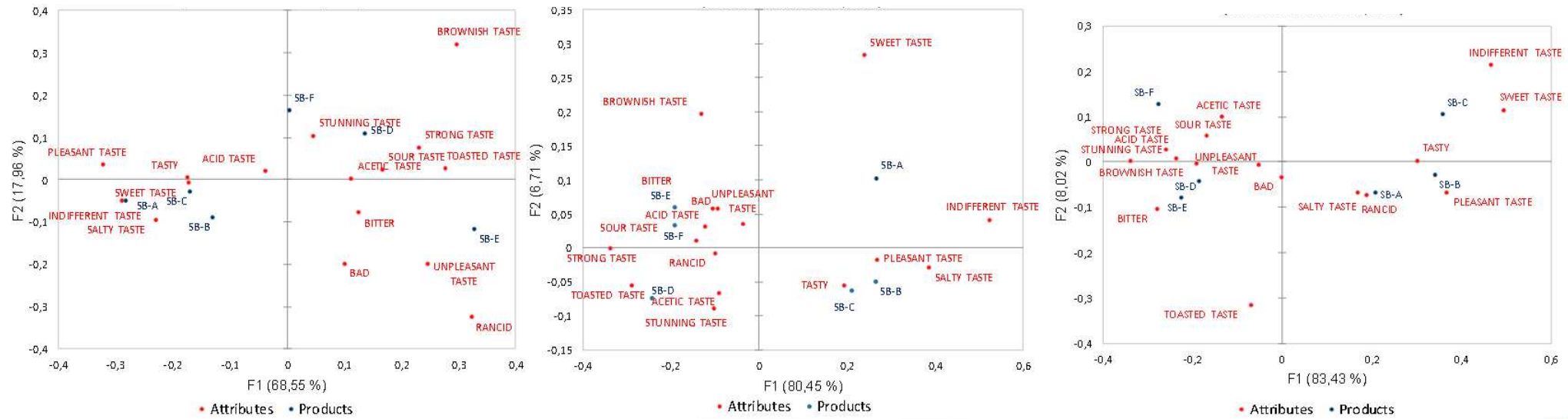
Amostra	SB-A			SB-B			SB-C			SB-D			SB-E			SB-F		
	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3
Miolo elástico	37	56	51	24	49	55	40	49	61	34	56	38	31	48	32	28	29	33
Boa consistência	37	26	30	31	50	44	38	40	30	45	28	53	42	41	51	42	54	43
Seco	18	22	17	20	19	23	17	19	18	30	47	14	24	20	22	23	28	26
Úmido	57	51	49	42	53	37	51	58	52	48	13	48	44	57	43	43	40	46
Pegajoso	10	30	28	14	22	28	11	26	24	7	65	9	10	17	15	10	13	14
Macio	47	47	51	45	61	53	54	57	50	56	7	68	53	64	66	59	69	64
Duro	21	20	20	24	19	19	19	20	21	14	13	9	26	33	31	14	8	11
Agradável	44	34	47	46	56	45	50	48	42	58	14	59	52	55	50	59	62	56
Desagradável	16	37	27	21	11	30	13	24	34	18	7	13	18	23	17	13	14	23
Áspero	9	5	7	8	3	4	6	3	5	9	3	5	11	6	3	12	8	6
Barulhento	4	3	3	3	2	2	1	6	2	1	15	2	1	3	4	3	3	5
Casca crocante	24	11	11	17	16	10	20	13	14	29	52	17	22	18	13	22	18	17
Casca mole	37	60	52	44	49	48	41	59	57	36	15	61	35	46	51	35	54	55
Casca pururucada	14	24	21	19	19	31	20	19	15	16	7	11	18	12	19	14	10	12
Gelatinoso	10	28	17	14	19	19	11	19	16	4	7	4	7	15	8	3	3	3
Esfarinhado	4	2	3	4	3	8	4	3	4	6	9	7	4	6	6	6	8	7
Viscoso	8	19	17	2	17	15	15	14	17	13	13	13	16	12	9	12	14	19

**Tabela 11:** Termos disponíveis na ficha CATA para avaliação do aspecto geral das amostras. **Nota:** S1, S2 e S3, referem-se, respectivamente, aos valores da sessão 1, 2 e 3. SB = *sourdough bread*.

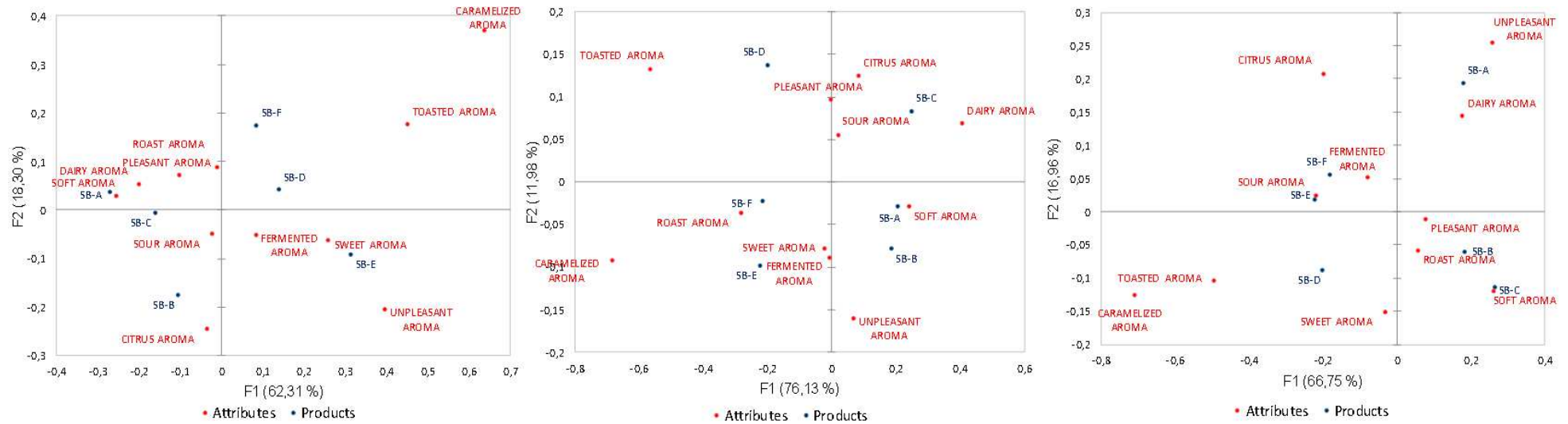
Amostra	SB-A			SB-B			SB-C			SB-D			SB-E			SB-F		
	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3
Massa crua	11	31	15	20	9	14	12	21	21	9	8	7	9	13	11	7	8	14
Fácil de mastigar	46	41	44	43	52	44	44	58	41	42	64	64	50	53	57	51	70	58
Difícil de mastigar	34	32	31	26	24	34	36	23	39	25	21	18	26	18	20	26	14	18
Sensação de conforto	16	11	16	16	15	17	13	14	17	10	6	12	10	7	11	11	6	8
Prazer em consumir	23	17	23	19	28	22	20	23	20	18	19	18	11	14	22	19	19	14
Memória afetiva	3	7	10	4	7	12	8	9	8	6	5	7	4	5	7	7	1	9
Estimula o apetite	15	7	16	12	20	14	19	14	15	9	13	15	7	9	13	15	7	9



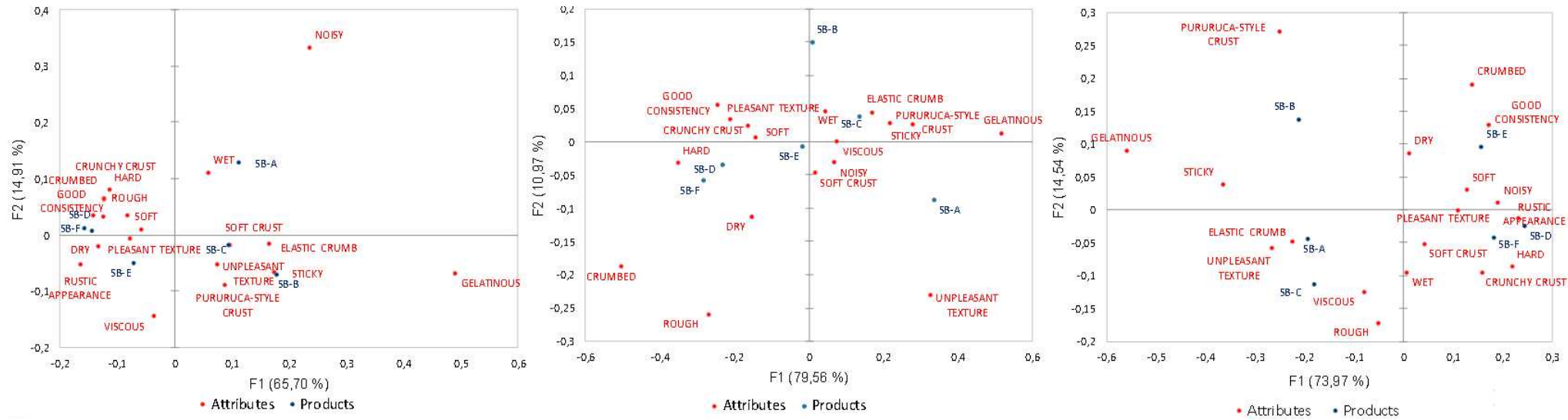
**Figura 2:** Gráfico de análise de correspondência (com índice de confiança de 95% baseado na distância do *qui-quadrado*) para aparência das amostras de pão avaliadas. SB = *sourdough bread*. Da esquerda para direita: Sessão 1; Sessão 2; Sessão 3.



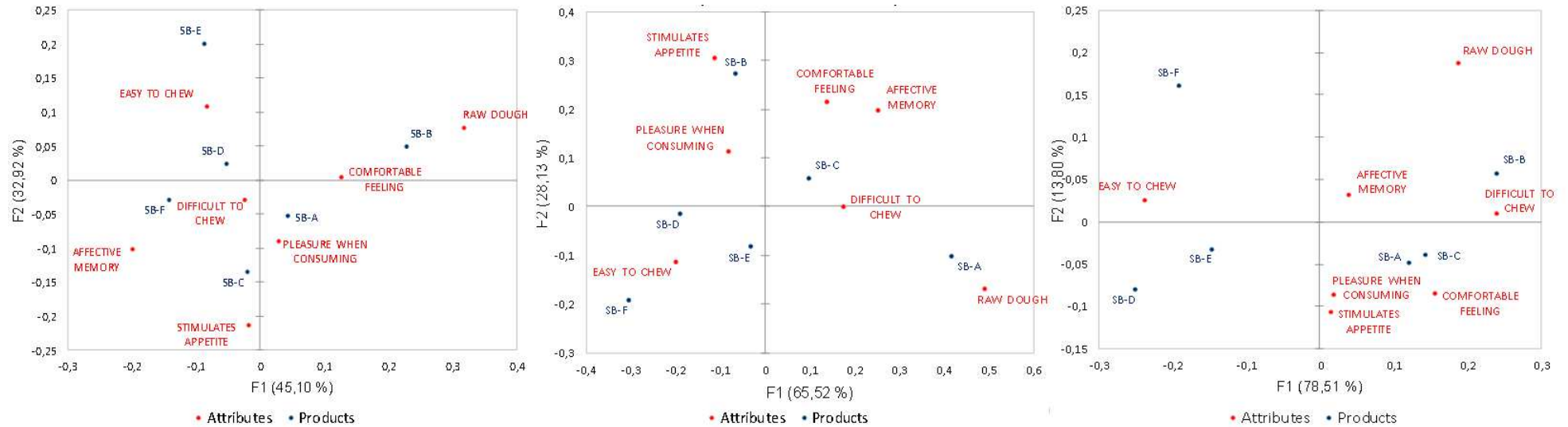
**Figura 3:** Gráfico de análise de correspondência (com índice de confiança de 95% baseado na distância do *qui-quadrado*) para sabor das amostras de pão avaliadas. SB = *sourdough* bread. Da esquerda para direita: Sessão 1; Sessão 2; Sessão 3.



**Figura 4:** Gráfico de análise de correspondência (com índice de confiança de 95% baseado na distância do *qui-quadrado*) para aroma das amostras de pão avaliadas. SB = *sourdough bread*. Da esquerda para direita: Sessão 1; Sessão 2; Sessão 3.



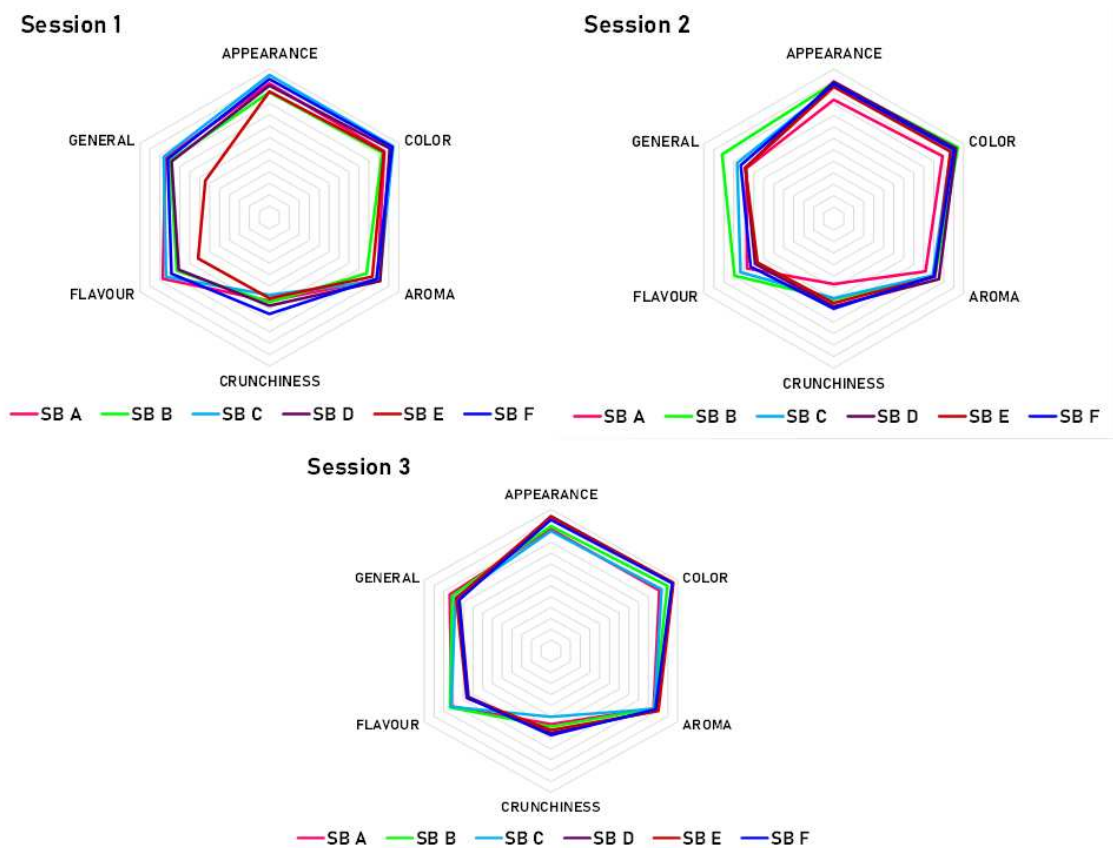
**Figura 5:** Gráfico de análise de correspondência (com índice de confiança de 95% baseado na distância do *qui-quadrado*) para textura das amostras de pão avaliadas. SB = *sourdough bread*. Da esquerda para direita: Sessão 1; Sessão 2; Sessão 3.



**Figura 6:** Gráfico de análise de correspondência (com índice de confiança de 95% baseado na distância do *qui-quadrado*) para aspecto geral das amostras de pão avaliadas. SB = *sourdough* bread. Da esquerda para direita: Sessão 1; Sessão 2; Sessão 3.

### 3.6.2 Escala hedônica

Os scores médios das amostras de pão estão apresentados na Fig. 7 para cada um dos atributos avaliados através da escala hedônica. Na sessão 1, o pão E apresentou significativamente menores valores para sabor e aspecto geral, enquanto para cor, aparência e aroma, se assemelhou ao pão B. Na sessão 2, o pão A apresentou os menores scores para aparência, cor, aroma e crocância, seguido do pão E para aparência e cor. Na sessão 3, os scores foram muito semelhantes, destacando-se os maiores valores para o atributo sabor dos pães B e C. Os demais parâmetros não foram considerados diferentes entre as amostras.

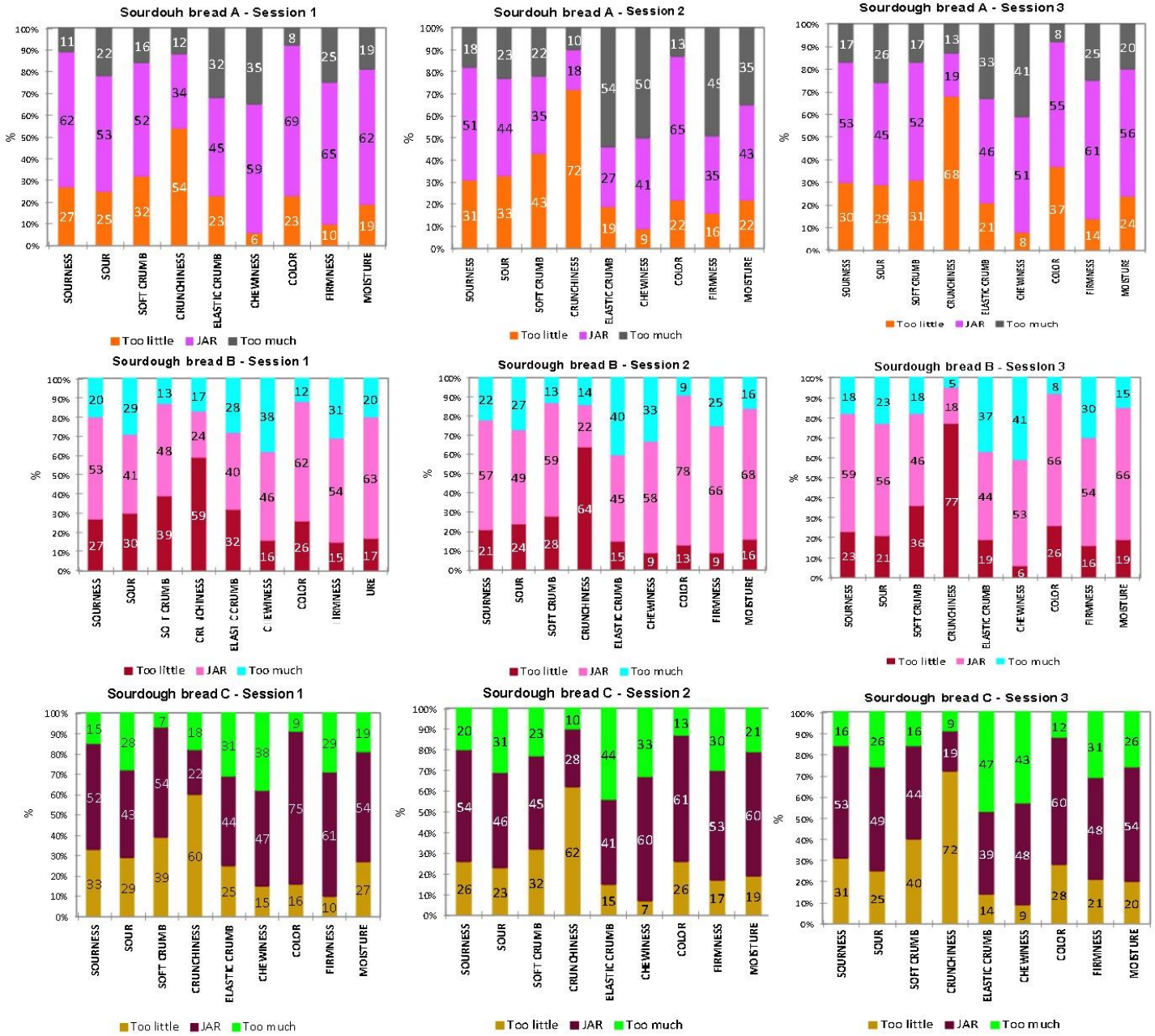


**Figura 7:** Scores obtidos na escala hedônica para todas as amostras, nas três diferentes sessões.

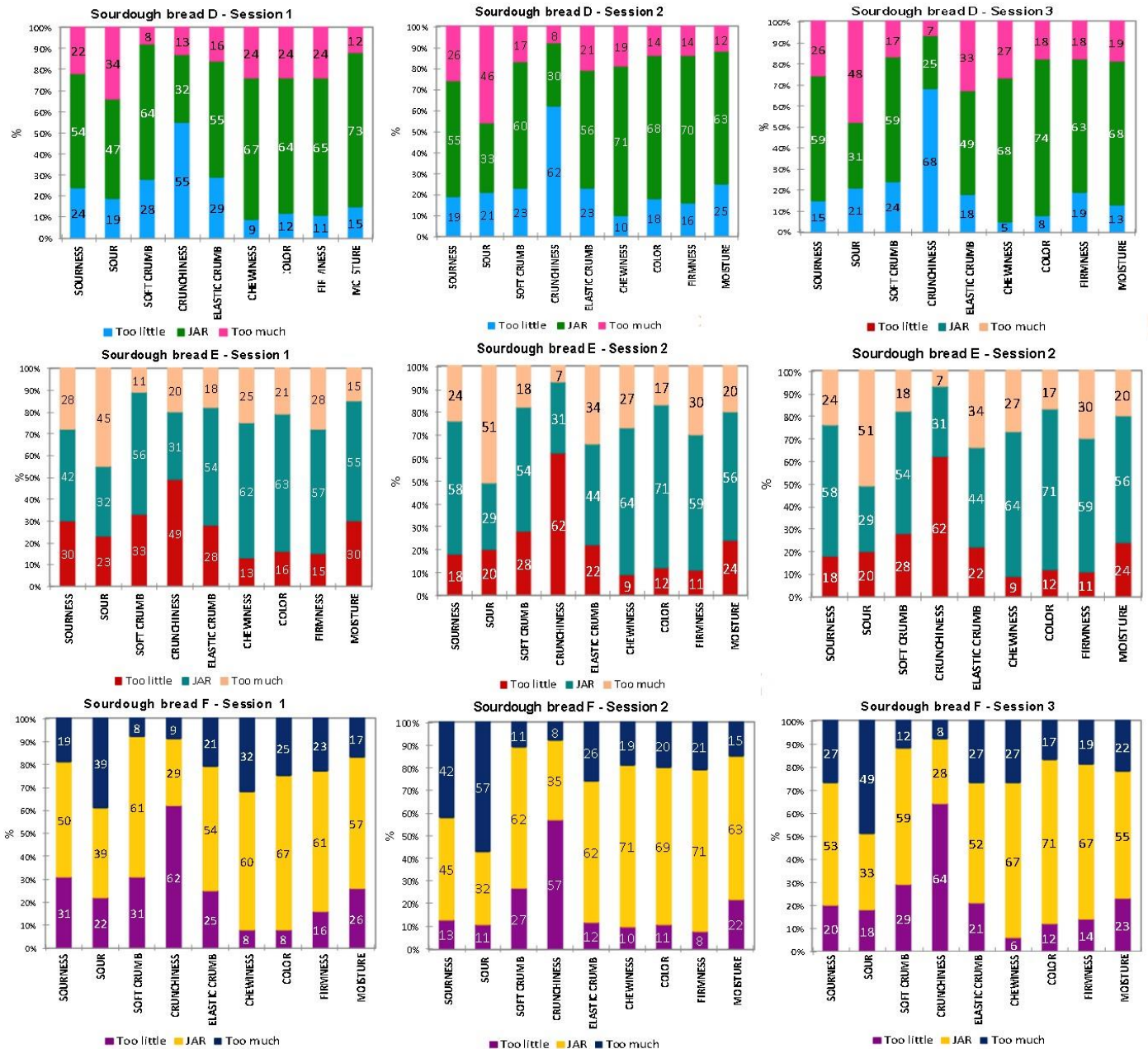
### 3.6.3 Análise JAR

Os resultados obtidos para as fichas JAR, após transformação da escala de 5 para 3 pontos, estão demonstrados na Figura 8, separados por pão e sessão. No atributo acidez, na

sessão 2, as amostras foram consideradas pela maioria dos provadores como “JAR” (condizente com a idealidade da amostra), exceto o pão F, que apresentou valores próximos para JAR e “muito mais”, sendo, contudo, maior para “JAR”. Para a característica de sabor azedo, os pães integrais apresentaram maior classificação como “muito mais”, por outro lado, os brancos foram considerados pela maioria como “JAR”. O pão E apresentou o maior percentual de “muito mais”. No quesito maciez do miolo, apenas o pão A (sessão 2) apresentou discrepância dos resultados, com a maioria dos avaliadores classificando-o como “muito menos”. A crocância, para todos os pães e sessões, foi o atributo mais classificado como “muito menos” por mais de 50% dos provadores em todas as amostragens (exceto para pão F, sessão 1, que foi 49%). Em relação à elasticidade do miolo, número de mastigadas necessárias e firmeza do produto, apenas o pão A (sessão 2) foi classificado pela maioria como “muito mais”. Pão C, na sessão 3, apresentou valores muito próximos para JAR e “muito mais” para mastigabilidade e JAR e “muito menos” para maciez do miolo, contudo, sendo maior para “JAR”. Além disso, para miolo elástico, “muito mais” foi maior que as correspondências JAR. Cor e umidade foram sempre classificadas como “JAR” para todas as amostras e sessões, no entanto, cabe destacar que a cor deve sempre a maior porcentagem de “JAR”. Os resultados mais notáveis e significativos foram relacionados à crocância, considerada como abaixo do ideal em absolutamente todas as sessões e amostras.



**Figura 8:** Porcentagens de respostas da escala *Just-About-Right* agrupadas em três níveis. Coluna à esquerda: sessão 1, coluna do meio: sessão 2, coluna à direita: sessão 3. Linha 1: *sourdough bread A*, Linha 2: *sourdough bread B*, Linha 3: *sourdough bread C*, Linha 4: *sourdough bread D*, Linha 5: *sourdough bread E* e Linha 6: *sourdough bread F*.



**Figura 8, continuação:** Porcentagens de respostas da escala *Just-About-Right* agrupadas em três níveis. Coluna à esquerda: sessão 1, coluna do meio: sessão 2, coluna à direita: sessão 3. Linha 1: *sourdough* bread A, Linha 2: *sourdough* bread B, Linha 3: *sourdough* bread C, Linha 4: *sourdough* bread D, Linha 5: *sourdough* bread E e Linha 6: *sourdough* bread F.

Em relação aos percentuais de respostas JAR de todos os atributos, dentre os pães brancos, o pão B apresentou o melhor score de idealidade, enquanto o pão A, o pior. Para os pães integrais, o pão F foi considerado pela maioria como ideal e o pão E, o menos ideal. A maior idealidade do pão F pode ser justificada por uma possível adaptabilidade do fermento, o qual foi produzido a partir da farinha empregada como padrão para os pães integrais. A acidez e o gosto azedo foram mais pronunciados nos pães integrais, uma vez que para estes, menores

percentuais de avaliação “JAR” foram observados em comparação aos brancos, especialmente para o atributo azedo. No que diz respeito aos atributos penalizadores, na sessão 1 o pão A apresentou o atributo “azedo” penalizado ( $p = 0.005$ ), especificado majoritariamente como “muito menos”. Na sessão 2, apenas os pães A e B apresentaram atributos penalizados. O pão A foi penalizado na elasticidade do miolo ( $p = 0.023$ ) e na umidade do produto ( $p = 0.026$ ), ambos considerados “muito mais”. Para o pão B, a elasticidade foi o atributo penalizado ( $p = 0.012$ ), sendo também considerado “muito mais”. Na sessão 3 não houve atributo penalizado com significância estatística.

#### 4. Discussão

Devido à variação na capacidade acidificante e produção de metabólitos entre diferentes BAL e leveduras que compõem o consórcio microbiano dos fermentos *sourdough*, é esperado que a qualidade do pão seja variável dado a microbiota presente. Apesar dos pães deste trabalho serem produzidos com *sourdough* distintos, que apresentaram microbiota particular (Lima et al., *a ser publicado*), a maior parte dos atributos avaliados não apresentaram diferenças significativas entre as amostras ( $p > 0,05$ ), contrariando as premissas e ilustrando o fenômeno de redundância funcional (Louca et al., 2018). Na grande maioria, as diferenças significativas observadas foram entre os pães produzidos com farinha branca e os produzidos com integral, o que já era esperado devido à constituição distinta destes tipos de farinhas.

Para *sourdough* de trigo, de acordo com Arendt et al. (2007), o pH em geral varia de 3,5 a 4,3. Antes de misturados às massas, os pH dos fermentos *sourdough* variaram de 3,70 a 4,13, típicos de massas fermentadas em bom desenvolvimento e dentro da faixa de valores esperados. O menor valor de pH (3,70) foi observado para o fermento A, mas sem diferença estatística em relação aos demais. Tais valores são semelhantes aos relatados por Rizzello et al. (2019) (3,89). Para os pães assados, Rizzello et al. (2015) observaram variação no pH de 4,9 a 5,2; Aplevicz et al. (2013), de 4,45 a 4,74; estes valores estão acima dos observados neste estudo, cujo maior valor de pH (4,34) foi observado para o pão F. Estas diferenças podem ser explicadas pelo tempo de fermentação; por nossos pães serem produzidos apenas com fermento *sourdough*, sem acréscimo de fermento convencional, ao contrário de Rizzello et al. (2015), o período necessário para que a massa alcançasse o ponto foi consideravelmente maior; portanto, o pH tende a ser menor. Ademais, a temperatura empregada no presente estudo, de refrigeração, foi 10 x menor que a empregada por ambos os autores. Verdonck et

al. (2023), por sua vez, observou valores de pH mais próximos dos observados para os pães integrais, com variação de 4,18 a 4,32. Em relação à TTA dos pães, Sanz-Penella et al. (2012) relataram pão integral produzido com 20% de *sourdough* com TTA de 10,60 mL de NaOH, em consonância com os aqui apresentados (variação de 10,76 a 12,46 mL). Em contrapartida, para os pães brancos, os valores foram mais semelhantes aos reportados por Komlenić et al. (2010) (5,25 mL de NaOH 0,1 M), uma vez que observamos variação de 5,64 a 6,28 mL. Rizzello et al. (2019) utilizaram 6,9 mL de NaOH, enquanto Katsi et al. (2021), para pães misto (farinha branca ( $\frac{1}{3}$ ) e integral ( $\frac{2}{3}$ )), 7,9 mL. Porcentagens distintas de fermento adicionado podem, em parte, explicar as discrepâncias nos valores de pH e acidez titulável.

O volume específico do pão depende de dois fatores principais: a quantidade de gás produzido e a capacidade de retenção da massa. CO<sub>2</sub> é majoritariamente produzido por leveduras; no entanto, BAL heterofermentativas também o produzem, contribuindo para o aumento de volume dos pães. Dentre as BAL identificadas nos fermentos *sourdough* utilizados neste trabalho (Lima, *a ser publicado*), apenas *Levilactobacillus brevis* tem metabolismo heterofermentativo. Pães integrais produzidos com 20% de *sourdough* apresentaram volume específico de 2,22 cm<sup>3</sup>/g (Sanz-Penella et al., 2012). Verdonck et al. (2023) identificaram um volume específico máximo de 2,13 cm<sup>3</sup>/g em pães integrais (massa com 67% de hidratação), com média de 1,96 cm<sup>3</sup>/g. Tais valores são sutilmente maiores que os observados neste trabalho, os quais variaram de 1,83 (E) a 2,02 cm<sup>3</sup>/g (D), com média de 1,90 cm<sup>3</sup>/g (Tabela 3), sendo os maiores valores observados para os integrais, condições que podem ser relacionadas à microbiota constituinte de cada *sourdough* e, também a capacidade de retenção dos gases na massa.

Durante o processo de forneamento e resfriamento do pão, parte da massa (g) é perdida em decorrência da evaporação de água e outras substâncias voláteis, como dióxido de carbono, álcool e ácidos voláteis, caracterizando-se o efeito conhecido como *baking loss*. Desta perda, 95% corresponde à evaporação da água (Sanz-Penella et al., 2012). Pães com maiores perda de massa (*baking loss*) terão, conseqüentemente, menor peso. Apenas os pães A e D diferiram estatisticamente, sendo a maior e a menor massa, respectivamente. Os demais tratamentos não diferiram estatisticamente em relação ao peso e *baking loss*. Para este, os maiores índices foram observados para os pães integrais; uma vez que os mesmos eram produzidos com 15% mais água em relação aos brancos, este resultado era esperado. Diferenças na hidratação das massas também impactam na umidade do produto (Therdthai e Zhou, 2003), justificando os maiores resultados de umidade para pães integrais (Tabela 4). Variações relacionadas à perda de umidade são causadas pela natureza da massa e pelas

condições de forneamento (Therdthai e Zhou, 2003). Como estas condições foram padronizadas para todos os pães do mesmo tipo, e considerando-se que a composição das massas diferiu apenas quanto ao fermento *sourdough* utilizado, as diferenças nos valores de umidade entre os pães E e F podem ser relacionadas, portanto, ao efeito dos fermentos distintos. Em geral, a umidade ideal dos pães é em torno de 38%; teores muito acima podem prejudicar a textura, resultando em pães grudentos e borrachudos (Oliveira et al., 2011). Na literatura foram encontrados valores bem variados para a umidade de pães (Crowley et al., 2002; Torrieri et al., 2014; Rinaldi et al., 2015). Nossos resultados para teor de umidade estão de acordo com os valores observados na literatura.

Zhang et al. (2018) demonstraram *baking loss* de 17,33% e umidade de 38,37% para pães com 20% de fermento *sourdough*, entretanto, com acréscimo de gordura vegetal e fermento convencional. O *baking loss* foi mais expressivo comparado aos resultados aqui encontrados, com o maior valor relacionado ao pão D (12,56%), enquanto o teor de umidade foi semelhante aos observados para os pães brancos. Certamente, a maior taxa de *baking loss* apontada pelos referidos autores decorreu da diferença na composição dos pães, bem como do binômio tempo/temperatura empregado no forneamento (15 min a 190 °C e 15 min a 210 °C). Os valores de *aw* encontrados estão de acordo com os relatados em outros estudos, variando entre 0,96 e 0,98 (Katsi et al., 2021; Belz et al., 2012; Smith et al., 2004), demonstrando uniformidade para com o tipo do produto (panificados), não diferindo significativamente entre si.

O teor de cinzas, carboidratos e proteínas diferiram apenas dos pães brancos para os integrais; pode-se concluir, portanto, que as diferenças observadas não foram resultantes dos fermentos *sourdough*, mas sim da farinha utilizada. Considerando-se que a farinha integral apresenta teor de cinzas e proteínas maior, os valores de carboidratos são, conseqüentemente, menores (Ngozi, 2014; Saka et al., 2021). Em contraposição, o maior teor de carboidratos dos pães brancos está relacionado ao fato de que farinhas brancas são produzidas a partir do endosperma do trigo, constituído basicamente por amido; já as integrais, além do endosperma contêm componentes do farelo e do germe, ricos em minerais e proteínas (Liu et al., 2015; Ma et al., 2021). Dentre os pães integrais, D apresentou o maior teor de carboidratos. Ainda que não se tenha realizada a análise das farinhas propriamente ditas, seria correto supor que a farinha utilizada no preparo do fermento D, mesmo que integral, apresentasse menor porção de farelo e germe, uma vez que o pão produzido apresentou o menor teor de cinzas (1,57% contra 1,74% e 1,80% para os pães E e F, respectivamente). Em relação ao teor de lipídeos, baixo teor foi observado, como já era esperado, especialmente porque não houve a adição de

nenhum ingrediente lipídico na formulação. Assim, todo esse conteúdo é proveniente da farinha utilizada, e os resultados estão condizentes, uma vez que, apesar de não diferirem significativamente entre si, as formulações elaboradas com as farinhas integrais apresentaram maior teor médio de lipídeos (0,41), em comparação com os pães elaborados com farinha refinada (0,26).

A cor é considerada um indicador da qualidade do pão e desempenha um papel relevante na aceitação do consumidor (Cacak-Pietrzak et al., 2023). Conforme pode-se observar na Tabela 5, os pães integrais apresentaram-se mais escuros, com menores valores para luminosidade ( $L^*$ ), tanto na crosta quanto no miolo, condizentes com a farinha utilizada, uma vez que os produtos integrais tem coloração mais amarronzada devido ao farelo (Hidalgo et al., 2014; Ma et al., 2021). Ademais, a percepção da cor também é influenciada pela granulometria da farinha (Hidalgo et al., 2014). Farinhas com maiores teores de fibras também podem resultar em pães mais escuros, tendo em vista que este componente pode afetar a cor do produto (Pontonio et al., 2015). Diferença significativa foi observada entre os pães brancos e integrais, estes últimos apresentando menor luminosidade tanto na crosta quanto no miolo. Dentre os brancos, apenas o miolo de A e B diferiram. B apresentou menor valor de  $L^*$ , apresentando-se, portanto, mais escuro em relação aos outros pães brancos, o que pode ser indicativo de maior concentração de açúcares redutores e aminoácidos livres na amostra, favorecendo a reação de Maillard. Comparando-se crosta e miolo, é notório o maior escurecimento da crosta, fenômeno que ocorre quando a temperatura de cocção é superior a  $110^{\circ}\text{C}$ ; nessa condição, quando há presença de aminoácidos livres e açúcares redutores nas massas, a reação de Maillard contribui para a cor característica dos pães *sourdough* (Mondal e Datta, 2008). Os valores de luminosidade da crosta para pães brancos (de 43,57 a 47,72) foram menores que aqueles observados por Rizzello et al. (2019) (54,7).

Na tabela 5 estão apresentados os resultados das análises colorimétricas. Menores valores de  $a^*$  indicam coloração mais clara, que corresponderam aos pães brancos. O miolo dos integrais se apresentou mais vermelho (ou seja, aumento no índice  $a^*$ ). Os valores maiores para os pães integrais são devidos a uma reação de Maillard mais intensa com consequente formação de compostos marrons. Como pode ser observada, a combinação dos parâmetros  $a^*$  e  $b^*$  deu como resultado a cor de cada amostra. Em termos do índice  $b^*$ , todos os pães foram iguais, tendendo ao espectro amarelo. Na casca, as diferenças para  $L^*$  se mantiveram, exceto de A e B, que se tornou inexistente, enquanto que para  $a^*$  não foram observadas diferenças nem entre brancos e integrais, como foi observado em  $b^*$ . Nos integrais,  $b^*$  foi condizente com o amarelecimento característico dos panificados integrais. A

mesma tendência no parâmetro  $b^*$  foi observada por Pontonio et al. (2015). No contexto da análise sensorial, os pães brancos foram correlacionados com cor da crosta tendendo ao dourado, cobre, laranja e a cor creme, enquanto os integrais foram relacionados à coloração marrom (Figura 2). A cor dos pães não foi, em nenhuma sessão e amostra, um parâmetro penalizador. Contudo, nas sessões 2 e 3, o pão A obteve a menor nota na escala hedônica para tal parâmetro (Figura 7), o que pode impactar na aceitação dos consumidores. Amina, Ismail e Abdelkader (2018) relataram que a aparência geral do pão tende a ser mais agradável quando a crosta está regularmente colorida (marrom), o que pode justificar os melhores scores obtidos na escala hedônica para os pães integrais no quesito cor em relação aos pães brancos.

Valores de elasticidade, coesividade e resiliência muito próximos aos aqui apresentados foram observados por Therdthai e Jitrakbumrung (2014) para pães produzidos com farinha de trigo com 30% de fermento *sourdough*. Quanto maior a quantidade de fermento na massa, maiores foram as grandezas relativas aos parâmetros de textura, exceto para dureza e mastigabilidade, que tendem a diminuir (Therdthai e Jitrakbumrung, 2014; Novotni et al., 2012). A diminuição da dureza e, conseqüentemente, da mastigabilidade, se deve à melhor retenção de gases na massa, que tem relação direta com o teor de fermento *sourdough*. A elasticidade e a dureza dos pães *sourdough* muitas vezes não agradam tanto os consumidores (Sanz-Penella et al., 2012; Abedfar e Sadeghi, 2019). Em comparação ao pão tradicional, pães *sourdough* em geral apresentam maior dureza após a produção; no entanto, atingem menor dureza decorridos alguns dias de armazenamento (Katsi et al., 2021). Este fenômeno pode ser atribuído à maior capacidade de retenção de água, que têm a particularidade de retardar a retrogradação do amido, extendendo o *shelf life* do produto *sourdough* (Hayta e Ertop, 2019).

A dureza dos pães está diretamente relacionada à acidez da massa fermentada (Sanz-Penella et al., 2012); assim, a redução do pH causada pela produção de ácidos orgânicos exerce influência no comportamento viscoelástico da massa (Wehrle e Arendt, 1998). A elevação da acidez resulta em modificações das estruturas do glúten e amido, resultando em massas mais elásticas, podendo, também, resultar em maior dureza (Siepmann et al., 2019). O teor de glúten e amido, portanto, são importantes para a dureza do produto. Como não se observaram diferenças neste parâmetro entre as amostras avaliadas, o consórcio microbiano que compõe cada um dos fermentos *sourdough* (Lima et al., *a ser publicado*) certamente resultam em capacidade de degradação de amido e glúten semelhantes. Em estudos anteriores (Therdthai e Jitrakbumrung, 2014; Casado et al., 2017; Subaşı e Ercan, 2024) foi observada uma correlação na tendência do comportamento, onde valores de dureza superiores estavam

associados a uma maior grandeza para os demais parâmetros. No entanto, os resultados deste estudo não corroboraram com essa relação direta, uma vez que amostras com maior dureza não necessariamente manifestaram uma maior mastigabilidade, por exemplo, o que pode ser justificado pelo procedimento experimental adotado, em que se avaliou casca e miolo simultaneamente.

A fermentação *sourdough* resulta em atributos sensoriais distintos nos pães em relação aos convencionais. Gosto ácido e sabor acético são tradicionalmente atribuídos a produtos *sourdough*. Interessante destacar que a percepção do gosto ácido varia consideravelmente entre os indivíduos; em geral, os consumidores tendem a preferir produtos caracterizados por níveis de acidez mais baixos (Ervina, Berget e Almlí, 2020; Tornwall et al., 2014). “Sabor azedo” e “Sabor ácido” prevaleceram para os pães integrais, o que refletiu em mais atribuições de “Sabor agradável” para os pães brancos (Tabela 8). Cabe ressaltar que a maior parte dos provadores nunca havia consumido pão *sourdough*; assim, é comum certa estranheza em relação ao gosto mais ácido quando do primeiro contato com o produto.

Textura e sabor são atributos considerados importantes pelos consumidores para determinar a qualidade do pão (Dong e Karboune, 2021). Como característica sensorial chave dos alimentos à base de cereais, a textura é considerada crucial para a qualidade. A maior dureza percebida para o pão E corrobora com os dados obtidos para a análise de volume (Tabela 6). Este tratamento foi considerado o mais firme, com maiores quantidades de indicações “duro” como demonstrado pela análise de correspondência da ficha CATA. Da mesma forma, foi associado à menor expansão, culminando em menor retenção de dióxido de carbono e maior densidade da massa e, conseqüentemente, miolo mais compacto e duro, de menor volume. Tais resultados explicam o fato do pão E ter sido considerado o menos ideal dentre os integrais pelos provadores, pois, além da maior dureza sensorial, apresentou o gosto azedo mais pronunciado além de descritores tipicamente desagradáveis, conforme Figura 3. No fermento *sourdough* utilizado para fazer o pão E, *Loigolactobacillus coryniformis* foi a bactéria predominante, espécie até então não relatada como dominante no fermento *sourdough*. *L. coryniformis* consiste em uma BAL que já foi isolada de diferentes alimentos fermentados, como carnes fermentadas (Parlindungan et al., 2021), *sauerkraut* (Zhang et al., 2022) e queijo (Mohammed e Çon, 2021). Até o momento não se sabe, contudo, qual sua relação com a qualidade do pão *saourdough*. Os resultados do pão E nos dão indícios de que essa espécie pode não refletir em resultados satisfatórios ao produto final, portanto, é essencial investigar detalhadamente se a mesma tem características adequadas para compor uma cultura *starter*. O maior valor de dureza sensorial na amostra E pode ser atribuída à

maior acidez da amostra (Limbad et al., 2020), como demonstrado pelo menor valor de pH e maior volume de NaOH gasto na determinação da ATT.

Dentre os pães brancos, a avaliação de menos ideal e não atrativo do pão A pode estar relacionada aos atributos de firmeza, elasticidade, mastigabilidade e menor maciez do miolo; além disso, sua massa foi considerada como crua por 31% dos provadores na sessão 2, além da cor ter recebido o menor score na escala hedônica nas sessões 2 e 3 e de ter sido associado à “aroma desagradável” nas duas últimas sessões de análise sensorial. A microbiota do pão A revelou maiores abundâncias de *Lactiplantibacillus plantarum* e *Pediococcus* sp., grupos microbianos frequentemente relatados em fermentos *sourdough* maduros por estudos no mundo todo. Dado que todos os pães foram produzidos e assados nas mesmas condições, é correto supor que a microbiota de SB-A tenha impactado na qualidade sensorial do produto, uma vez que S-A foi o que apresentou os menores valores de pH antes da adição na massa (Lima, *a ser publicado*). Desse modo, a microbiota de S-A, em temperaturas de fermentação mais baixas (3 °C), parece necessitar de um maior tempo de fermentação para desenvolvimento de características adequadas da massa.

Os resultados da análise de idealidade destacam que a crocância da crosta foi um dos parâmetros mais distantes do “ideal” para todas as amostras avaliadas. A crocância é resultado da desidratação da superfície do pão durante o forneamento, o que leva à formação de uma crosta crocante, com forte influência na aceitação do consumidor. Contudo, à medida que o pão esfria e se mantém exposto ao ar, a umidade ambiente é parcialmente absorvida pela crosta, tornando-a mais macia (Crowley et al., 2001; Primo-Martín et al., 2006). No momento da avaliação sensorial, os pães haviam sido assados há cerca de 24 horas, o que pode justificar a classificação da crocância como “muito menos” ideal para todas as amostras. Normalmente, pães perdem maciez durante o armazenamento devido à migração de água para o ambiente (Martins et al., 2021); contudo, a perda de maciez não foi parâmetro de destaque em nossos resultados, corroborando com os dados da literatura acerca da redução da taxa de retrogradação do amido em pães *sourdough*, que se reflete em maiores teores de umidade em comparação aos pães convencionais (Lima et al., 2023).

Nas sessões 1 e 2, houve atributos penalizados. No entanto, apenas o pão A foi recorrentemente penalizado, embora por atributos distintos em cada uma das sessões. Nesta amostra, considerada a menos ideal, a penalidade revelou atributos que por si só afetaram significativamente a aceitabilidade. A avaliação do grau de aceitabilidade de cada atributo de forma individual inerente à escala JAR consiste em uma das limitações do método (Popper, 2015); o ideal seria avaliar se um determinado atributo influencia as percepções como um

todo, de maneira positiva ou negativa. Apesar desta limitação, as análises JAR, CATA e hedônica permitem que os atributos e seus direcionamentos para o aprimoramento dos produtos possam ser definidos, dessa forma, tornando essas análises ferramentas promissoras para desenvolvimento de itens com maior aceitabilidade.

## 5. Conclusões

Estatisticamente, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos dos pães produzidos com fermentos *sourdough* distintos, apesar das microbiotas apresentarem variações notáveis. Esta discrepância entre os resultados estatísticos e as avaliações físicas e sensoriais revela a complexidade da análise estatística em responder adequadamente a testes biológicos, especialmente focados na microbiota de produtos complexos como pães de fermentação natural. A título de exemplo, o pão E foi considerado duro na avaliação da maioria dos 300 provadores, enquanto nos resultados de TPA não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas. Tal dificuldade em se capturar determinadas nuances decorrentes de variáveis biológicas é evidenciada pela constatação de que os fermentos apresentaram microbiotas distintas e, visualmente e sensorialmente, tais diferenças afetaram de maneira perceptível a qualidade dos pães. No entanto, em avaliação estatística, os resultados demonstraram composições centesimais e reológicas muito semelhantes, destacando, ainda, a ausência de diferença entre pães que claramente mostraram-se distintos sob a ótica dos provadores. É sabido que embora os microrganismos pertençam a táxons diferentes, estes podem compartilhar funções metabólicas similares, contrariando a expectativa de que espécies diferentes devem ocupar nichos metabólicos distintos e, conseqüentemente, desempenhar padrões fisiológicos divergentes. Nossos resultados demonstram, portanto, que a microbiota pode influenciar nas características dos produtos finais sem necessariamente refletir em diferenças estatísticas detectáveis pelos métodos empregados.

A farinha utilizada na produção e manutenção dos *sourdough* tem a particularidade de conferir microbiotas distintas aos fermentos *sourdough* e, apesar de não ser compatível com os resultados da estatística, nossos resultados corroboram que a matéria-prima é um parâmetro crucial na formação de características típicas dos produtos finais. As pontuações mais baixas para aceitabilidade foram atribuídas pelos avaliadores aos pães A e E, que apresentavam, respectivamente, massa mais densa, com pouca elasticidade e maciez, e maior dureza e pronunciamento do sabor azedo. A acidez e o gosto azedo foram, no geral, aspectos de

destaque, sendo considerados além do ideal pelos consumidores em geral. As diferenças entre os resultados aqui apresentados e outros estudos podem estar relacionadas ao tipo de *sourdough* utilizado (se tipo I, II ou III), proporção *sourdough*/farinha/água, temperatura de fermentação da massa, tipo de farinha utilizada e temperatura do forno, dentre outros parâmetros. Este é o primeiro trabalho que avaliou as diferenças entre pães produzidos com fermentos *sourdough* distintos, a nível centesimal e reológico, elaborados com farinhas de trigo processadas no país.

## Referências

Abedfar, A., & Sadeghi, A. (2019). Response surface methodology for investigating the effects of sourdough fermentation conditions on Iranian cup bread properties. *Heliyon*, 5(10), e02608. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02608>

American Association of Cereal Chemist (AACC). **Approved Methods of Analysis**. Cereals & Grains Association, St. Paul, MN, U.S.A., 11th ed, 2011.

Amina, D. B., Ismail, M., & Abdelkader, D. B. (2018). Whey powder in the preparation of special bread. *Academic Perspective Procedia*, 1(1), 148–157. <https://doi.org/10.33793/acperpro.01.01.32>

Arendt, E. K., Ryan, L. A. M., & Dal Bello, F. (2007). Impact of sourdough on the texture of bread. *Food Microbiology*, 24(2), 165-174. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.07.011>

Aplevicz, K. S., Ogliari, P. J., & Sant'Anna, E. S. (2013). Influence of fermentation time on characteristics of sourdough bread. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49(2).

Belz, M. C. E., Mairinger, R., Zannini, E., Ryan, L. A. M., Cashman, K. D., & Arendt, E. K. (2012). The effect of sourdough and calcium propionate on the microbial shelf-life of salt reduced bread. *Applied microbial and cell physiology*, 96, 493-501. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4052-x>

Brandt, M. J. (2019). Industrial production of sourdoughs for the baking branch – An overview. *International Journal of Food Microbiology*, 302, 3–7. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.09.008>

Cacak-Pietrzak, G., Dziki, D., Gawlik-Dziki, U., Parol-Nadłonek, N., Kalisz, S., Krajewska, A., & Stepniewska, S. (2023). Wheat Bread Enriched with Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) Pomace: Physicochemical Properties and Sensory Evaluation. *Applied Sciences*, 13(12), 6936. <https://doi.org/10.3390/app13126936>

Casado, A., Álvarez, A., González, L., Fernández, D., Marcos, J. L., & Tornadijo, M. (2017). Effect of Fermentation on Microbiological, Physicochemical and Physical Characteristics of Sourdough and Impact of its Use on Bread Quality. *Food Technology and Economy, Engineering and Physical Properties*, 35(6), 496-506. <https://doi.org/10.17221/68/2017-CJFS>

Clarke, C. I., Schober, T. J., Angst, E., & Arendt, E. K. (2003). Use of response surface methodology to investigate the effects of processing conditions on sourdough wheat bread quality. *European Food Research and Technology*, 217, 23-33. <https://doi.org/10.1007/s00217-003-0724-1>

Corsetti, A., Gobetti, M., Marco, B., Balestrieri, F., Paoletti, F., Russi, L., & Rossi, J. (2000). Combined Effect of Sourdough Lactic Acid Bacteria and Additives on Bread Firmness and Staling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(7), 3044-3051. <https://doi.org/10.1021/jf990853e>

Crowley, P., Schober, T. J., Clarke, C. I., & Arendt, E. K. (2002). The effect of storage time on textural and crumb grain characteristics of sourdough wheat bread. *European Food Research and Technology*, 214, 498-496. <https://doi.org/10.1007/s00217-002-0500-7>

Demirkesen, I., Sumnu, G., & Sahin, S. (2013). Quality of gluten-free bread formulations baked in different ovens. *Food Bioprocess Technology*, 6(3), 746-753. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0712-6>

Dong, Y., & Karboune, S. (2021). A review of bread qualities and current strategies for bread bioprotection: Flavor, sensory, rheological, and textural attributes. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 20(2), 1937-1981. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12717>

Ervina, E., Berget, I., & Almlı, V. L. (2020). Investigating the Relationships between Basic Tastes Sensitivities, Fattiness Sensitivity, and Food Liking in 11-Year-Old Children. *Foods*, 9(9), 1315. <https://doi.org/10.3390/foods9091315>

Forde, C. G., & Graaf, K. (2022). Influence of sensory properties in moderating eating behaviors and food intake. *Frontiers in Nutrition*, 9, 841444. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.841444>

Gumustop, I. & Ortakci, F. (2023). Comparative genomics of *Loigolactobacillus coryniformis* with an emphasis on *L. coryniformis* strain FOL-19 isolated from cheese. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 21, 5111-5124. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2023.10.004>

Hayta, M., & Ertop, M. H. (2019). Physicochemical, textural and microbiological properties of optimised wheat bread formulations as affected by differently fermented sourdough. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 11(3), 283-293. <https://doi.org/10.3920/QAS2018.1387>

Hidalgo, A., Fongaro, L., & Brandolini, A. (2014). Wheat flour granulometry determines colour perception. *Food Research International*, 64, 363-370. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.06.050>

Instituto Adolfo Lutz. (2008). **Métodos Físico-químicos para análise de alimentos**. Zenebon, O., Pascuet, N. S., & Tigela, P. (Coordenadores). 1 ed. digital. São Paulo: IAL, 1020p. Disponível em: <[http://ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016\\_3\\_19/analisedealimentosial\\_2008.pdf](http://ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf)>. Acesso em: 28 out. 2023.

- Katsi, P., Kosma, I. S., Michailidou, S., Argiriou, A., Badeka, A. V., & Kontominas, M. G. (2021). Characterization of Artisanal Spontaneous Sourdough Wheat Bread from Central Greece: Evaluation of Physico-Chemical, Microbiological, and Sensory Properties in Relation to Conventional Yeast Leavened Wheat Bread. *Foods*, 10(3), 635. <https://doi.org/10.3390/foods10030635>
- Komlenić, D. K., Ugarčić-Hardi, Ž., Jukić, M., Planinić, M., Bucić-Kojić, A., & Strelec, I. (2010). Wheat dough rheology and bread quality effected by *Lactobacillus brevis* preferment, dry sourdough and lactic acid addition. *International Journal of Food Science + Technology*, 45(7), 1417-1425. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02282.x>
- Lima, T. T. M., Hosken, B. O., De Dea Lindner, J., Menezes, L. A. A., Pirozi, M. R., & Martin, J. G. P. (2023). How to deliver sourdough with appropriate characteristics for the bakery industry? The answer may be provided by microbiota. *Food Bioscience*, 56, 103072. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103072>
- Lima, T. T. M. (*a ser publicado*). Caracterização sensorial e físico-química de pães sourdough produzidos com diferentes fermentos desenvolvidos a partir de farinhas de trigo brasileiras.
- Limbad, M., Maddox, N. G., Hamid, N., & Kantono, K. (2020). Sensory and Physicochemical Characterization of Sourdough Bread Prepared with a Coconut Water Kefir Starter. *Foods*, 9, 1165. <https://doi.org/10.3390/foods9091165>
- Liu, C., Liu, L., Li, L., Hao, C., Zheng, X., Bian, K., Zhang, J., & Wang, X. (2015). Effects of different milling processes on whole wheat flour quality and performance in steamed bread making. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1), 310-318. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.030>
- Louca, S., Polz, M. F., Mazel, F., Albright, M. B. N., Huber, J. A., O'Connor, M. I., Ackermann, M., Hahn, A. S., Srivastava, D. S., Crowe, S. A., Doebeli, M., & Parfrey, L. W. (2018). Function and functional redundancy in microbial systems. *Nature Ecology & Evolution*, 2, 936-948. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0519-1>
- Ma, S., Wang, Z., Guo, X., Wang, F., Huang, J., Sun, B., & Wang, X. (2021). Sourdough improves the quality of whole-wheat flour products: Mechanisms and challenges—A review. *Food Chemistry*, 360, 130038. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130038>
- Macfie, H. J., Bratchell, N., Greenhoff, K., & Vallis, L. V. (1989). Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. *Journal of Sensory Studies*, 4(2), 129-148. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.1989.tb00463.x>
- Martins, I. E., Shittu, T. A., Onabanjo, O. O., Adesina, A. D., Soares, A. G., Okolie, P. I., Kupoluyi, A. O., Ojo, O. A., & Obadina, A. O. (2021). Effect of packaging materials and storage conditions on the microbial quality of pearl millet sourdough bread. *Journal of Food Science and Technology*, 58, 52-61. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04513-3>
- Menezes, E. W., de Melo, A. T., Lima, G. H., & Lajolo, F. M. (2004). Measurement of carbohydrate components and their impact on energy value of foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 17(3-4), 331-338. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2004.03.018>

- Mohammed, S., & Çon, A. H. (2021). Isolation and characterization of potential probiotic lactic acid bacteria from traditional cheese. *LWT - Food Science and Technology*, 152, 112319. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112319>
- Mondal, A., & Datta, A. K. (2008) Bread Baking—A Review. *Journal of Food Engineering*, 86, 465-476. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.11.014>
- Ngozi, A. A. (2014). Effect of whole wheat flour on the quality of wheatbaked bread. *Global Journal of Food Science and Technology*, 2(3), 127-133.
- Novotni, D., Čukelj, N., Smerdel, B., Bituh, M., Dujmić, F., & Ćurić, D. (2012). Glycemic index and firming kinetics of partially baked frozen gluten-free bread with sourdough. *Journal of Cereal Science*, 55(2), 120-125. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2011.10.008>
- Oliveira, N. M. A. L., Maciel, J. F., Lima, A. S., Salvino, E. M., Maciel, C. E. P., Oliveira, D. P. M. N., & Farias, L. R. G. (2011). Características físico-químicas e sensoriais de pão de forma enriquecido com concentrado protéico de soro de leite e carbonato de cálcio. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, 70(1), 16-22.
- Parlindungan, E., Lugli, G. A., Ventura, M., van Sinderen, D., & Mahony, J. (2021). Lactic acid bacteria diversity and characterization of probiotic candidates in fermented meats. *Foods*, 10(7), 1519. <https://doi.org/10.3390/foods10071519>
- Pontonio, E., Nionelli, L., Curiel, J. A., Sadeghi, A., Di Cagno, R., Gobbetti, M., & Rizzello, C. G. (2015). Iranian wheat flours from rural and industrial mills: Exploitation of the chemical and technology features, and selection of autochthonous sourdough starters for making breads. *Food Microbiology*, 47, 99-110. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.10.011>
- Popper, R. Use of Just-About-Right scales in consumer research. In: *Novel Techniques in Sensory Characterization and Consumer Profiling*; Varela, P., Ares, G., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2014; pp. 150–169.
- Primo-Martín, C., van de Pijpekamp, A., van Vliet, T., de Jongh, H. H. J., Plijter, J. J., & Hamer, R. J. (2006). The role of the gluten network in the crispness of bread crust. *Journal of Cereal Science*, 43(3), 342-352. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2005.12.007>
- Purlis, E., & Salvadori, V. O. (2007). Bread browning kinetics during baking. *Journal of Food Engineering*, 80(4), 1107-1115. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.09.007>
- Rinaldi, M., Paciulli, M., Caligiani, A., Sgarbi, E., Cirlini, M., Dall'Asta, C., & Chiavaro, E. (2015). Durum and soft wheat flours in sourdough and straight-dough bread-making. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 6254-6265. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1787-2>
- Rizzello, C. G., Cavoski, I., Turk, J., Ercolini, D., Nionelli, L., Pontonio, E., De Angelis, M., De Filippis, F., Gobbetti, M., & Di Cagno, R. (2015). Organic Cultivation of *Triticum turgidum* subsp. *durum* Is Reflected in the Flour-Sourdough Fermentation-Bread Axis. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(9), 3192-3204. <https://doi.org/10.1128/AEM.04161-14>.

Rizzello, C. G., Portincasa, P., Montemurro, M., Di Palo, D. M., Lorusso, M. P., De Angelis, M., Bonfrate, L., Genot, B., & Gobbetti, M. (2019). Sourdough Fermented Breads are More Digestible than Those Started with Baker's Yeast Alone: An In Vivo Challenge Dissecting Distinct Gastrointestinal Responses. *Nutrients*, 11(12), 2954. <https://doi.org/10.3390/nu11122954>

Rothman, L.; Parker, M. Just-About-Right (JAR) Scales. ASTM International: West Conshohocken, PA, USA, 2009

Saka, I., Topcam, H., Son, E., Ozkaya, B., & Erdogdu, F. (2021). Effect of radio frequency processing on physical, chemical, rheological and bread-baking properties of white and whole wheat flour. *LWT - Food Science and Technology*, 147, 111563. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111563>

Sanz-Penella, J. M., Tamayo-Ramos, J. A., & Haros, M. (2012). Application of Bifidobacteria as Starter Culture in Whole Wheat Sourdough Breadmaking. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 2370-2380. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0547-1>

Siepmann, F. B., de Almeida, B. S., Ripari, V., da Silva, B. J. G., Peralta-Zamora, P. G., Waszczynskyj, N., & Spier, M. R. (2019). Brazilian sourdough: microbiological, structural, and technological evolution. *European Food Research and Technology*, 245, 1583-1594. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03254-8>

Silva, M. R., Silva, M. A. A. P. D., & Chang, Y. K. (1998). Utilização da farinha de jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.) na elaboração de biscoitos tipo cookie e avaliação de aceitação por testes sensoriais afetivos univariados e multivariados. *Food Science and Technology*, 18, 25-34. <https://doi.org/10.1590/S0101-20611998000100007>

Smith, J. P., Daifas, D. P., El-Khoury, W., Koukoutsis, J., & El-Khoury. (2004). Shelf Life and Safety Concerns of Bakery Products—A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(1), 19-55. <https://doi.org/10.1080/10408690490263774>

Subaşı, A. S., & Ercan, R. (2024). Technological characteristics of whole wheat bread: effects of wheat varieties, sourdough treatments and sourdough levels. *European Food Research and Technology*. <https://doi.org/10.1007/s00217-024-04560-6>

Therdthai, N., & Zhou, W. (2003). Recent Advances in the Studies of Bread Baking Process and Their Impacts on the Bread Baking Technology. *Food Science and Technology Research*, 9(3), 219-226. <https://doi.org/10.3136/fstr.9.219>

Therdthai, N., & Jitrakbumrung, S. (2014). Effect of Addition of Sourdough on Physicochemical Characteristics of Wheat and Rice Flour Bread. *Kasetsart Journal - Natural Science*, 48(6), 964-969.

Torrieri, E., Pepe, O., Ventrino, V., Masi, P., & Cavella, S. (2014). Effect of sourdough at different concentrations on quality and shelf life of bread. *LWT - Food Science and Technology*, 56(2), 508-516. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.12.005>

Törnwall, O., Silventoinen, K., Hiekkalinna, T., Perola, M., Tuorila, H., & Kaprio, J. (2014). Identifying flavor preference subgroups. Genetic basis and related eating behavior traits. *Appetite*, 75, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2013.11.020>

Wehrle, K., & Arendt, E. K. (1998). Rheological Changes in Wheat Sourdough During Controlled and Spontaneous Fermentation. *Cereal Chemistry*, 75(6), 882-886.

Verdonck, C., De Bondt, Y., Pradal, I., Bautil, A., Langenaeken, N. A., Brijs, K., Goos, P., De Vuyst, L., & Courtin, C. M. (2023). Impact of process parameters on the specific volume of wholemeal wheat bread made using sourdough- and baker's yeast-based leavening strategies. *International Journal of Food Microbiology*, 396, 110193. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110193>

Zhang, Y., Guo, L., Xu, D., Li, D., Yang, N., Chen, F., Jin, Z., & Xu, X. (2018). Effects of dextran with different molecular weights on the quality of wheat sourdough breads. *Food Chemistry*, 256, 373-379. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.146>

Zhang, S., Zhang, Y., Wu, L., Zhang, L., & Wang, S. (2021). Characterization of microbiota of naturally fermented sauerkraut by high-throughput sequencing. *Food Science and Technology*, 32, 855-862. <https://doi.org/10.1007/s10068-022-01221-w>

## APÊNDICE

### 1. QUESTIONÁRIO DA ESCALA HEDÔNICA

Você está participando da análise sensorial de pães de fermentação natural (pão sourdough). Você fará a degustação de 6 amostras de pão, que estão codificadas. É essencial que você se concentre durante as análises para que consiga diferenciar bem as amostras que está avaliando. Sua opinião é muito importante para entendermos a sua preferência. Não existe resposta certa ou errada, o que importa é a sua opinião.

Antes de iniciar a degustação das amostras, tome um gole de água. Siga as instruções para responder as perguntas específicas. Você procederá da mesma forma para avaliar as demais amostras, seguindo a ordem indicada.

Amostra n°: \_\_\_\_\_

Por favor, **olhe** para o pão e responda:

1. O quanto você gostou ou não gostou da APARÊNCIA do produto?

<b>Desgostei muitíssimo</b>				<b>Indiferente</b>				<b>Gostei muitíssimo</b>
1	2	3	4	5	6	7	8	9

2. O quanto você gostou ou não gostou da COR que o produto apresenta?

<b>Desgostei muitíssimo</b>				<b>Indiferente</b>				<b>Gostei muitíssimo</b>
1	2	3	4	5	6	7	8	9

Por favor, **cheire** o pão e responda:

3. O quanto você gostou ou não gostou do AROMA do produto?

<b>Desgostei muitíssimo</b>				<b>Indiferente</b>				<b>Gostei muitíssimo</b>
1	2	3	4	5	6	7	8	9

Por favor, **experimente** o pão e responda:

4. O quanto você gostou ou não gostou da **CROCÂNCIA** do produto?

<b>Desgostei muitíssimo</b>				<b>Indiferente</b>				<b>Gostei muitíssimo</b>
1	2	3	4	5	6	7	8	9

5. O quanto você gostou ou não gostou do **SABOR** percebido na boca?

<b>Desgostei muitíssimo</b>				<b>Indiferente</b>				<b>Gostei muitíssimo</b>
1	2	3	4	5	6	7	8	9

6. O quanto você achou do produto **COMO UM TODO?**

<b>Desgostei muitíssimo</b>				<b>Indiferente</b>				<b>Gostei muitíssimo</b>
1	2	3	4	5	6	7	8	9

7. Você compraria o produto degustado?

<b>Certamente não compraria</b>		<b>Indiferente</b>		<b>Certamente compraria</b>
1	2	3	4	5

**Espaço livre para comentários sobre esta amostra, escrevendo o que gostou e o que não gostou:**

---



---



---



---



---



---



---

Faça a limpeza do palato com água e coma um biscoito tipo água e sal antes de experimentar a segunda amostra.

## 2. FORMULÁRIO DE ANÁLISE SENSORIAL PARA FICHA CATA

Data: \_\_\_\_\_

Amostra n<sup>o</sup>: \_\_\_\_\_

Você conhece ou já consumiu pão de fermentação natural? ( ) Sim ( ) Não

Assinale os atributos abaixo que se aplicam a esta amostra de pão.

<input type="checkbox"/> Casca cor marrom	<input type="checkbox"/> Aroma cítrico	<input type="checkbox"/> Aparência rústica/artesanal
<input type="checkbox"/> Casca cor cobre	<input type="checkbox"/> Sabor doce	<input type="checkbox"/> Gelatinoso/Grudento
<input type="checkbox"/> Casca cor alaranjada	<input type="checkbox"/> Sabor rançoso	<input type="checkbox"/> Esfarinhado <input type="checkbox"/> Viscoso
<input type="checkbox"/> Casca cor creme	<input type="checkbox"/> Aroma caramelizado	<input type="checkbox"/> Miolo com muitos alvéolos (orifícios)
<input type="checkbox"/> Casca cor dourada	<input type="checkbox"/> Aroma de assado	<input type="checkbox"/> Miolo com poucos alvéolos (orifícios)
<input type="checkbox"/> Sabor salgado	<input type="checkbox"/> Aroma azedo	<input type="checkbox"/> Aparência bonita
<input type="checkbox"/> Sabor azedo	<input type="checkbox"/> Aroma suave	<input type="checkbox"/> Aparência feia
<input type="checkbox"/> Sabor tostado	<input type="checkbox"/> Miolo elástico/puxento	<input type="checkbox"/> Gostoso <input type="checkbox"/> Ruim
<input type="checkbox"/> Sabor ácido	<input type="checkbox"/> Boa consistência	<input type="checkbox"/> Massa crua
<input type="checkbox"/> Sabor acético (vinagre)	<input type="checkbox"/> Seco <input type="checkbox"/> Úmido	<input type="checkbox"/> Fácil de mastigar
<input type="checkbox"/> Sabor acastanhado	<input type="checkbox"/> Grudento/Pegajoso	<input type="checkbox"/> Difícil de mastigar
<input type="checkbox"/> Sabor agradável	<input type="checkbox"/> Macio <input type="checkbox"/> Duro	<input type="checkbox"/> Gosto forte
<input type="checkbox"/> Sabor desagradável	<input type="checkbox"/> Textura agradável	<input type="checkbox"/> Sabor marcante
<input type="checkbox"/> Aroma adocicado	<input type="checkbox"/> Textura desagradável	<input type="checkbox"/> Sabor indiferente
<input type="checkbox"/> Aroma lácteo	<input type="checkbox"/> Áspero <input type="checkbox"/> Amargo	<input type="checkbox"/> Sensação de conforto
<input type="checkbox"/> Aroma fermentado	<input type="checkbox"/> Barulhento	<input type="checkbox"/> Prazer ao consumir
<input type="checkbox"/> Aroma agradável	<input type="checkbox"/> Casca crocante	<input type="checkbox"/> Memória afetiva
<input type="checkbox"/> Aroma desagradável	<input type="checkbox"/> Casca mole	<input type="checkbox"/> Estimula o apetite
<input type="checkbox"/> Aroma torrado	<input type="checkbox"/> Casca pururucada	

### 3. FORMULÁRIO DE ANÁLISE SENSORIAL ESCALA JAR

Data: \_\_\_\_\_

#### Escala de idealidade:

Você está recebendo uma amostra codificada de pão de fermentação natural. Indique sua opinião sobre os atributos desta amostra, considerando **MUITO MENOS** como **MUITO ABAIXO** do ideal; **MUITO MAIS** como **MUITO ACIMA** do ideal:

Amostra n°: \_\_\_\_\_

<b>Acidez</b> <input type="checkbox"/> Muito menos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Ideal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Muito mais
<b>Sabor azedo</b> <input type="checkbox"/> Muito menos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Ideal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Muito mais
<b>Miolo macio</b> <input type="checkbox"/> Muito menos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Ideal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Muito mais
<b>Crocância</b> <input type="checkbox"/> Muito menos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Ideal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Muito mais
<b>Miolo elástico</b> <input type="checkbox"/> Muito menos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Ideal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Muito mais
<b>Número de mastigadas</b> <input type="checkbox"/> Muito menos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Ideal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Muito mais
<b>Cor</b> <input type="checkbox"/> Muito menos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Ideal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Muito mais
<b>Firmeza</b> <input type="checkbox"/> Muito menos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Ideal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Muito mais
<b>Umidade</b> <input type="checkbox"/> Muito menos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Ideal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Muito mais

## **CAPÍTULO 4: Efeito de seis fermentos *sourdough* produzidos com diferentes farinhas brasileiras no perfil de ácidos orgânicos, açúcares, compostos bioativos e FODMAP em pão *sourdough***

### **Resumo**

A fermentação *sourdough*, devido ao aumento do valor nutricional e aos potenciais benefícios para a saúde associados aos produtos *sourdough*, levou à sua inclusão em vários portfólios industriais. A fermentação natural induz diversas transformações, incluindo o aumento de fitoquímicos como ácidos fenólicos, flavonoides e compostos com atividade antioxidante e redução do conteúdo de FODMAPs (do inglês, *fermentable oligo-, di-, and monosaccharides and polyols*). Essas modificações resultam das atividades microbianas e o presente estudo tem como objetivo avaliar se seis fermentos *sourdough*, elaborados com diferentes farinhas de trigo brasileiras, sobre as características de teor de açúcares, ácidos, etanol, FODMAPs e compostos bioativos, em formulações de pães de fermentação natural. A análise de carboidratos revelou diferenças significativas apenas no teor de arabinose e maltose entre as amostras. A concentração de maltose foi maior em pães produzidos com farinha refinada, enquanto a arabinose foi associada a pães integrais. Para ácidos orgânicos, apenas o ácido láctico apresentou diferenças significativas, com concentrações mais altas em pães de trigo integral. O etanol, o álcool mais abundante na fermentação natural, não mostrou variação significativa entre as amostras de pão, da mesma forma que os FODMAPs, apresentando diferenças apenas para glicose e frutose. Os pães integrais demonstraram maiores concentrações de fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante mais elevada. Grandes diferenças foram observadas entre as farinhas branca e integral, atribuídas ao tipo de farinha e não à diversidade microbiana, enfatizando a redundância funcional microbiana.

## 1. Introdução

O pão é um dos alimentos mais consumidos em todo o mundo, sendo uma importante fonte de cereais. O trigo é o cereal mais utilizado na panificação, estando presente no dia a dia da maior parte da população mundial, sendo uma fonte de carboidrato importante para o fornecimento de energia. Pães produzidos com farinha integral são, ainda, uma das principais fontes de fibra alimentar em vários países industrializados, conferindo benefícios à saúde decorrentes do seu consumo (Collar, 2005).

No setor de panificação, a fermentação *sourdough* tem sido utilizada com objetivo de melhorar as propriedades sensoriais, a vida útil do produto, bem como os aspectos funcionais e nutricionais de panificados. Devido ao aumento do valor nutricional e aos potenciais benefícios à saúde associados aos produtos *sourdough*, estes têm sido explorados pelas indústrias do setor, levando à inclusão em vários portfólios (Lima et al., 2023).

Oligossacarídeos, dissacarídeos, monossacarídeos e polióis fermentáveis (FODMAPs) são um grupo de compostos, a maioria carboidratos de cadeia curta, que podem ser mal digeridos e causar prejuízos à saúde, desencadeando os sintomas da Síndrome do Intestino Irritável (SII) e Sensibilidade ao Glúten Não Celíaca (SGNC) (Böhn et al. 2015; Barrett, 2017). São encontrados em uma ampla variedade de alimentos (Muir et al., 2009), tendo os produtos à base de trigo representando a maior parte dos FODMAPs consumidos diariamente (Verspreet et al., 2015). Assim, panificados normalmente são evitados por grupos de consumidores com má digestão dos FODMAPs. Pães com concentrações reduzidas de FODMAPs são ótimas alternativas para consumidores com essas necessidades nutricionais específicas.

A fermentação *sourdough* resulta na conversão de macromoléculas, como o amido, e de fitoquímicos, como ácidos fenólicos, flavonóides e compostos com atividade antioxidante. Já existem evidências de que FODMAPs podem ser reduzidos pela tecnologia *sourdough*, minimizando os sintomas em indivíduos com SII e SGNC (Marco et al., 2017; Menezes et al., 2018; Gravina et al., 2020). Estas propriedades, resultantes da atividade microbiana, possibilitam a elaboração de produtos interessantes para consumidores atentos à questões de saudabilidade e bem-estar e que apresentam restrições alimentares. O metabolismo das moléculas durante a fermentação *sourdough*, na grande maioria das vezes, é espécie-específico, de modo que, a depender do consórcio microbiano do fermento *sourdough*, diferenças quanto aos produtos finais gerados no processo fermentativo podem ser observadas. Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar se a microbiota de 6

amostras distintas de fermento *sourdough* elaboradas por Lima (a, *a ser publicado*) resultou em modificações no teor de açúcares, ácidos, etanol, FODMAPs e compostos bioativos nos pães de fermentação natural.

## 2. Materiais e métodos

### 2.1 Preparo dos pães

No total, 6 amostras de pães *sourdough* foram utilizados neste trabalho, codificados como *Sourdough Bread* – A (SB-A), SB-B, SB-C, SB-D, SB-E e SB-F. Cada pão foi produzido com um fermento *sourdough* específico, de microbiota distinta, obtido a partir de diferentes farinhas brasileiras, 3 à base de farinha refinada e 3 de farinha integral. Cabe destacar que as farinhas são provenientes de grãos cultivados em locais distintos, conforme destacado na Tabela 1. No trabalho de Lima et al. (a, *a ser publicado*) foi descrita a composição microbiana de cada *sourdough*. Os mesmos seis pães deste trabalho foram avaliados, a nível centesimal e sensorial, por Lima (b, *a ser publicado*). A descrição da produção dos pães encontra-se em Lima (b, *a ser publicado*). Os pães foram mantidos sob congelamento até o momento da realização das análises abaixo descritas. O descongelamento se deu à temperatura ambiente, *overnight*.

**Tabela 1:** Distribuição geográfica dos sítios de cultivos dos grãos de origem das farinhas utilizadas no presente trabalho.

<b>Tipo</b>	<b>Marca</b>	<b>Sítio de cultivo dos grãos</b>
<b>Refinadas</b>	Dallas	Mato Grosso do Sul – Dourados e Anaurilândia; Paraná – Cascavel
	Gebana Branca	Paraná – Céu Azul
	Rosa Branca	Rio Grande do Sul – Canoas; Pernambuco - Olinda, Maranhão - São Luís e Pará – Belém
<b>Integrais</b>	Biorgânica	Paraná – Realeza
	Fazenda Vargem	Goiás - Vianópolis
	Gebana Integral	Paraná – Céu Azul

## 2.2 Quantificação de açúcares, ácidos e etanol

Os teores de açúcares (arabinose, frutose, glicose, maltose, sacarose e xilose), ácidos orgânicos (acético, láctico, propiônico e succínico) e etanol dos pães foram mensurados por *High-performance liquid chromatography* (HPLC). O preparo dos extratos foi realizado conforme Mietton et al. (2022). Alíquotas de 2 mL de cada amostra, após procedimento de desproteinização com os reagentes de Carrez, foram filtradas em membranas de celulose com poros de 0,22 µm de diâmetro e injetadas no HPLC. As análises foram realizadas em cromatógrafo LC-20A Prominence (Shimadzu®, Japão) equipado com um detector de índice refrativo RID-20A. Para a quantificação dos ácidos e etanol, a coluna utilizada foi Aminex HPX-87H (300 x 7,8 mm, 9 µm, Munich, Germany) sob as seguintes condições: fase móvel 0,005N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, taxa de fluxo 0,7 mL/min e temperatura 45 °C. Para quantificação dos açúcares, a coluna utilizada foi a Hamilton HC-75 (Pb<sup>2+</sup>) (300 x 7,8 mm, USA), sob as seguintes condições: fase móvel água ultrapura, fluxo de 0,6 mL/min e temperatura de 80°C. Todas as concentrações foram calculadas por curva de calibração construída com padrões específicos. Todos os produtos utilizados como padrões foram grau HPLC, adquiridos da marca Sigma Aldrich. Com as quantificações dos ácidos por HPLC, o coeficiente de fermentação (FQ), que refere-se à razão molar de ácido láctico para ácido acético, foi calculado de acordo com Corsetti, 2012 e De Luca et al., 2021.

## 2.3 Preparo dos extratos para análise dos compostos bioativos

A extração de amostras foi realizada com base no método de Wahyono et al. (2020), com pequenas modificações. Os pães foram cortados com cerca de 1 cm de espessura. Após descongelamento *overnight*, foram desidratados em estufa a 40°C por 24 horas. Depois de secos, os mesmos foram esmigalhados e a partir das migalhas, foi realizado o processo de extração com metanol 80% (5 gramas de pão:12,5 mL de solvente). Em seguida, o extrato foi mantido em shaker (110 rpm) por 2 horas a 37 °C, sendo posteriormente centrifugado (4.000 g, 15 minutos); então, o sobrenadante foi filtrado em membrana de celulose com poros de 0,45 µm de diâmetro e armazenado em frasco escuro a -20°C até o momento das análises.

## 2.4 Determinação do teor de flavonóides

Os flavonóides totais foram quantificados pelo método colorimétrico do cloreto de alumínio, de acordo com metodologia de Li et al. (2015), com modificações relativas aos volumes para uso em microplacas. Para a curva padrão foi utilizada quercetina. Os resultados foram expressos em equivalentes de quercetina ( $\mu\text{g RE/g dry weight}$ ). A leitura foi realizada em leitor de microplacas (Biotec, PowerWave XS, Vermont, EUA), em triplicata, no comprimento de onda de 415 nm.

## 2.5 Determinação do teor de polifenóis totais

Para determinação do conteúdo fenólico total, o procedimento foi realizado conforme Wahyono et al. (2020), com modificações relativas aos volumes para uso em microplacas. A leitura foi realizada em leitor de microplacas (Biotec, PowerWave XS, Vermont, EUA), em triplicata, no comprimento de onda de 765 nm. Para quantificação dos compostos fenólicos, foi obtida uma curva-padrão com ácido gálico (Sigma Aldrich®). Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico equivalente.  $100 \text{ g}^{-1}$  de amostra.

## 2.6 Determinação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi avaliada pelo método do DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazil) conforme Wahyono et al. (2020), com modificações relativas aos volumes para uso em microplacas. A leitura foi realizada em leitor de microplacas (Biotec, PowerWave XS, Vermont, EUA), em triplicata, no comprimento de onda de 734 nm. A curva padrão foi construída utilizando Trolox (Sigma Aldrich®). Os resultados foram expressos em termos de % de inibição do DPPH (Sigma Aldrich®).

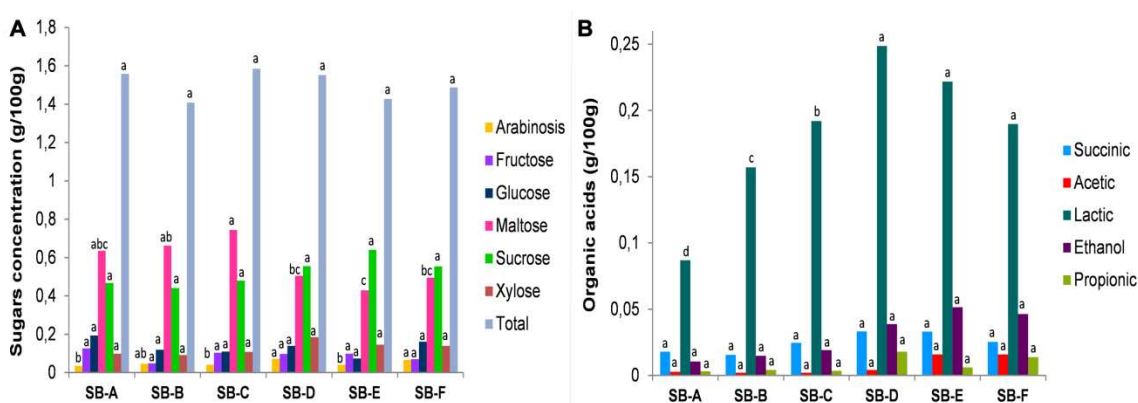
## 2.7 FODMAPs

Para a extração, análise e quantificação dos FODMAPs, o procedimento foi realizado conforme descrito por Menezes et al. (2019). A análise foi conduzida em um espectrômetro de massa de armadilha de íons linear triplo quadrupolo-linear híbrido 5500 QTRAP (Sciex, Framingham, MA, EUA), equipado com uma fonte de ionização por eletrospray (ESI). A instrumentação operou nos modos positivo e negativo, bem como no modo de monitoramento

de reação múltipla (MRM). O espectrômetro foi acoplado a um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) 1290 Infinity da Agilent Technologies Inc, com utilização dos softwares Analyst e MultiQuant (Sciex, Framingham, MA, EUA) para controle do sistema, aquisição e análise de dados.

### 3. Resultados e discussão

O conteúdo de carboidratos residuais identificado por HPLC está representado na Figura 2A. As diferenças significativas observadas entre os pães foram apenas para os açúcares arabinose e maltose.



**Figura 2:** Perfil de carboidratos residuais, ácidos orgânicos e etanol dos pães *sourdough* avaliados. Letras iguais para o mesmo composto e diferentes pães significam que não há diferenças significativas entre as amostras. SB = *sourdough* bread.

Maltose foi o carboidrato residual encontrado em maior concentração nos pães elaborados com farinha refinada, seguido de sacarose. Os laudos técnicos das farinhas utilizadas não discriminam o teor de carboidratos na matéria-prima; no entanto, sabe-se que a farinha refinada passa por um processo de moagem mais intenso, de forma que o endosperma do trigo fica mais exposto à ação das amilases endógenas, resultando em maior teor de maltose (Rakita et al., 2015). Em relação à arabinose, o maior teor foi para os pães integrais SB-D e SB-F, além de SB-B. A arabinose é normalmente associada à presença de fibras alimentares, provenientes da fração do farelo de trigo. Por preservar o farelo, a farinha integral normalmente contém mais arabinose (Mendis e Simsek, 2013). O teor total de carboidratos residuais não apresentou diferenças significativas, nem mesmo entre os tipos

(branco/integral). A variação identificada no conteúdo total de açúcares foi de  $1,408 \pm 0,35$  (SB-B) a  $1,585 \pm 0,20$  g/100g (SB-C).

Em relação aos ácidos orgânicos (Figura 2B), diferenças significativas foram observadas apenas para o ácido láctico. As concentrações de ácido láctico dos pães integrais foram maiores, sendo atribuído à SB-D a mais elevada ( $0,25 \pm 0,12$  g/100g dry weight); contudo, sem diferença em relação aos demais pães integrais. Os pães brancos diferiram entre si, com SB-A apresentando o menor teor de ácido láctico ( $0,09 \pm 0,04$  g/100g dry weight). A concentração de ácido acético e etanol não diferiu entre os pães, embora, em termos numéricos, o maior valor tenha sido observado para SB-E. Para todos os pães *sourdough* analisados, os teores de ácido láctico foram superiores aos de ácido acético, o que pode estar relacionado à maior abundância de bactérias lácticas (BAL) homofermentativas compondo a microbiota de cada um dos fermentos utilizados (Lima, a, *a ser publicado*). Na concentração total de ácidos, não houve diferença entre nenhum dos pães.

O coeficiente de fermentação (FQ) foi maior para SB-B (34,1) e SB-C (38,8), os quais apresentaram menor concentração de ácido acético, justificado pela microbiota dominante com metabolismo do tipo homofermentativo constituinte dos respectivos fermentos *sourdough* (Lima, a, *a ser publicado*). As propriedades de acidificação dependem da composição microbiana dos fermentos e determinam os perfis ácidos dos pães resultantes (Robert et al., 2006). O menor FQ (3,7) foi observado para SB-F, elaborado com *sourdough* co-dominado pelas espécies *Lactiplantibacillus plantarum* e *Levilactobacillus brevis*, homo e heterofermentativa, respectivamente. Esse foi o único fermento *sourdough* com abundância significativa de espécies heterofermentativas, sendo os demais mais abundantes em BAL homofermentativas. A capacidade de espécies heterofermentativas de produzir ácido é inferior àquelas homofermentativas (Zhang et al., 2022), o que reforça sua influência nos menores valores de FQ. Diferenças na atividade das leveduras e também a proporção entre BAL homo e heterofermentativa são diretamente responsáveis pelas variações do FQ (De Luca et al., 2021).

A faixa de concentração de ácido láctico foi de 0,09 g/100 g dw em SB-A a 0,25 g/100 g em SB-D e a de ácido acético de 0,002 g/100g dw em SB-B e SB-C a 0,016 g/100g dw em SB-D. Esses valores, para ácido láctico, estão dentro da faixa dos relatados por Warburton, Silcock e Eyres (2022), que avaliaram pães integrais elaborados a partir de 12 diferentes fermentos *sourdough* desidratados e observaram concentrações de ácido láctico variando de 0,06 a 0,531 g/100 g e ácido acético de 0,007 a 0,122 g/100 g. Para o ácido acético, os valores aqui demonstrados foram inferiores aos observados pelos referidos autores. Da mesma forma,

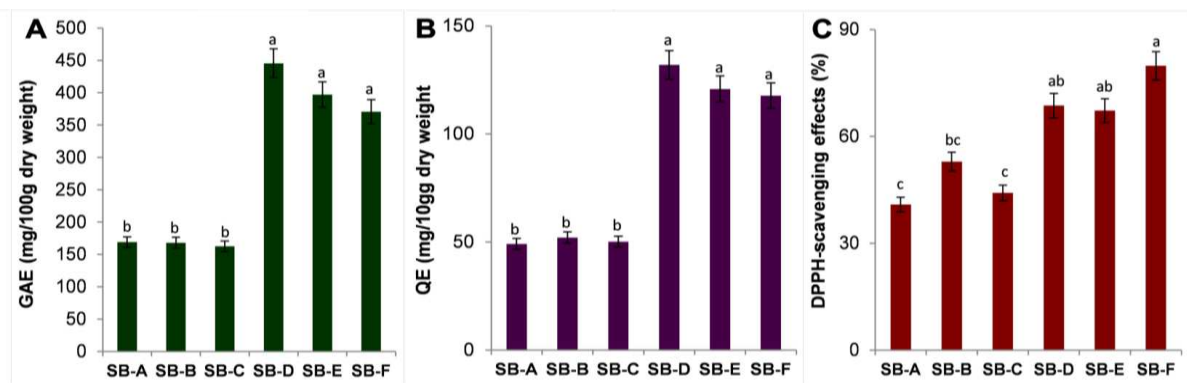
De Luca et al. (2021), em *sourdough* concebido por *Frutilactobacillus sanfranciscensis* e *Saccharomyces cerevisiae*, detectaram teores de 0,532 g/100 g de ácido láctico, 0,024 g/100 g de ácido acético e 0,098 g/100 g de ácido succínico, valores maiores que os identificados neste estudo. Os teores de ácido acético aqui revelados estão mais próximos aos relatados por Hadaegh et al. (2017), cujas concentrações variaram de 0,001 g/100 g dw (sem *sourdough*) a 0,017 g/100 g (*sourdough* composto por *L. plantarum*, *L. brevis*, *Lacticaseibacillus casei* e levedura) em torradas preparadas com diferentes *sourdough*. Warburton, Silcock e Eyres (2022) não caracterizaram o consórcio microbiano dos *sourdough* investigados. A produção de ácido láctico e ácido acético é conhecida por ser espécie específica, portanto, as diferenças nos resultados podem derivar da microbiota e dos ingredientes na composição da massa *sourdough* (De Luca et al., 2021; Lutter, Jõudu e Andreson, 2023).

Dentre os alcoóis produzidos na fermentação *sourdough*, etanol é o mais abundante (Warburton, Silcock e Eyres, 2022). O etanol pode ser produzido tanto por leveduras quanto por BAL heterofermentativas, que degradam as hexoses em ácido láctico, ácido acético, etanol e CO<sub>2</sub>. Apesar de BAL também produzirem etanol, este é derivado principalmente do metabolismo de leveduras, sendo CO<sub>2</sub> e etanol os principais produtos resultantes da fermentação (Pétel, Onno e Prost, 2017). Stolz et al. (1993), comparando pão produzido com BAL associada a *Saccharomyces cerevisiae* ou *Meyerozyma guilliermondii* identificaram etanol como um dos voláteis mais abundantes, especialmente no pão fermentado por *S. cerevisiae*. Vale ressaltar que pães *sourdough* podem variar nos compostos voláteis como resultado da composição da farinha, conforme demonstrado por Hansen e Hansen (1994) que o tipo de farinha influencia na concentração de etanol. Apesar deste achado, ao avaliar o teor de etanol nos pães, não foram observadas diferenças significativas entre as amostras, embora os resultados das integrais estejam em concordância com os autores, apresentando maiores valores (Fig. 2B).

Lima (b, *a ser publicado*), em avaliação sensorial dos mesmos pães deste estudo, observou menor aceitabilidade de SB-A e SB-E, ambos considerados os menos ideais pelos provadores. SB-A foi correlacionado ao atributo “massa crua”. Todos os pães foram produzidos e assados sob as mesmas condições, portanto, a diferença é relativa ao consórcio microbiano do fermento *sourdough* utilizado (Lima, a, *a ser publicado*). Neste caso, o *sourdough* empregado para a produção do SB-A demonstrou carecer de mais tempo para fermentação adequada da massa. Tendo em vista que os ácidos podem ser usados como indicadores para caracterizar o processo fermentativo (Lutter, Jõudu e Andreson, 2023), a menor concentração de ácido láctico observado para SB-A corrobora com o aspecto de “massa

crua”, indicando que, de fato, a fermentação não ocorreu por tempo suficiente, dada a baixa concentração de ácido láctico. Para SB-E, por sua vez, os atributos “acidez”, “acético” e “azedo” foram mais pronunciados. Tendo em vista que a maior parte dos avaliadores não declararam hábito de consumir pães *sourdough* com frequência, a baixa aceitação de SB-E pode estar relacionada à estranheza do paladar. A atribuição de “ácido” e “acético” está de acordo com os resultados do HPLC, com os maiores valores de ácido láctico e acético observados para os pães integrais. Dentre esses, SB-E apresentou maior FQ, justificado pelo domínio de *Loigolactobacillus coryniformis* no *sourdough* utilizado para sua produção (Salman et al., 2020; Gumustop e Ortakci, 2023).

A fermentação de cereais resulta em aumento e bioconversão de compostos fenólicos (Kim e Han, 2011). As enzimas endógenas dos cereais e do arsenal enzimático das BAL são as responsáveis pela conversão dos ácidos fenólicos durante a fermentação, relacionadas a, por exemplo, aumento da atividade antioxidante dos produtos fermentados (Rodríguez et al., 2009; Gänzle, 2014). Nos resultados obtidos, observou-se diferenças estatisticamente significativas no conteúdo de fenólicos (Figura 3A) e flavonoides (Figura 3B) entre os diferentes tipos de pães, sendo os integrais os que apresentaram o maior teor. Os resultados revelaram, ainda, uma disparidade substancial ao comparar o teor de fenólicos e flavonoides entre a farinha refinada e a integral, sendo a última conferindo concentração que o dobro em ambos os casos. Dessa forma, pode-se concluir que a diferença entre os pães brancos e integrais foi decorrente da farinha utilizada; não foi possível, portanto, associar estes resultados aos efeitos da microbiota dos fermentos. Apesar de não se tratar de pães *sourdough* como o do presente estudo, nossos resultados estão em concordância com os achados de Beta et al. (2005), cujas maiores concentrações de fenólicos e flavonóides foram obtidos para pães de farinha integral, provida de farelo e germe, e de Yu, Nanguet & Beta (2013), que observaram teor de fenólicos quase duas vezes maior para os pães integrais em comparação aos brancos.



**Figura 3:** Propriedades bioativas das seis amostras de pão *sourdough*. A) Concentração total de polifenóis, expresso em equivalente de ácido gálico; B) Concentração de flavonóides total, expresso em equivalente de quercetina; C) Percentual de inibição do radical DPPH. Barras de erros indicam o desvio padrão. Letras iguais para amostras diferentes, em cada figura, significam que não há diferenças significativas entre as mesmas. SB = *sourdough* bread.

Saa et al. (2017), avaliando pães produzidos com farinha de trigo integral, observaram variação média de 306,76 (grão em estágio leitoso) a 286,16 (grão em estágio totalmente maduro) mg/100g dw para fenóis total e de 48,10 (estágio leitoso) a 42,98 (estágio totalmente maduro) mg/100g dw para flavonóides total, utilizando o cultivar *Triticum turgidum* ssp. *durum*. O conteúdo total de polifenóis e de flavonóides do presente estudo, para todos os pães integrais, foi consideravelmente maior (variando de 163,99 (SB-C) a 445,56 (SB-D) mg/100g dw GAE para polifenóis e de 49,14 a 131,99 mg/100g QE para flavonóides). As farinhas aqui utilizadas foram produzidas com *Triticum aestivum* L. Dapčević-Hadnadev et al. (2022), com este mesmo tipo de trigo, identificaram cerca de 110 mg de GAE/100g dw para pães *sourdough* de trigo integral, valor próximo dos resultados obtidos para pães de farinha refinada. Cabe destacar que os autores compararam o teor de fenólicos com pães convencionais produzidos com fermento convencional. Estes apresentaram menos de 90 mg/100g de GAE, corroborando que a fermentação *sourdough* representa uma ferramenta importante no desenvolvimento de produtos de panificação funcionais com maior bioacessibilidade de fenólicos. Contrastando com os valores observados pelos autores referidos, observa-se que os fermentos do presente estudo exibiram uma notável produção bioativa, com teores significativamente mais elevados de compostos fenólicos e flavonoides em comparação com os estudos anteriores.

Gélinas & McKinnon (2005) reforçam que variações no conteúdo total de polifenóis (TPC) são mais influenciadas pelo local de crescimento, práticas agrícolas e condições

ambientais do que a variedade de trigo propriamente dita. Os estudos aqui conduzidos basearam-se em farinhas de trigo com região de cultivo dos grãos geograficamente próximas (Tabela 1), exceto para a farinha B, que, além do sítio de produção na região Sul (Rio Grande do Sul), há também dois sítios de produção nas regiões Nordeste e um na região Norte, sendo os grãos misturados durante o processo de moagem. As demais produções são centradas na região Sul (farinhas C, D e E) e Centro-Oeste (farinhas A e F).

Li, Shewry e Ward (2008), ao avaliarem 175 amostras de trigo cultivados em um único local e no mesmo ano, com a diferença apenas no genótipo do cultivar, concluíram que a diversidade genética impacta no teor de fenólicos. Assim, acreditamos que as diferenças genéticas entre as espécies de trigo podem influenciar nos compostos bioativos, da mesma forma que os demais fatores inerentes ao cultivo do grão. Pelos resultados de Saa et al. (2017), destaca-se que o estágio do grão também é um fator que influencia no teor bioativo. No entanto, no que se refere à fase de colheita, não temos essa informação para as farinhas utilizadas. Além disso, diferenças no método empregado para extração dos bioativos (solvente de extração e duração da extração) podem contribuir para variações no teor bioativo (Dapčević-Hadnađev et al., 2022).

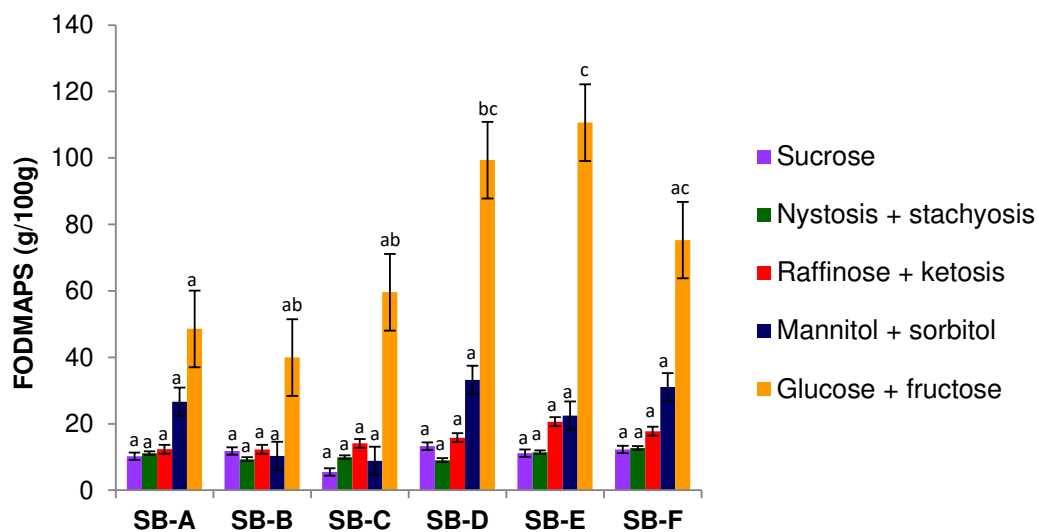
Neste trabalho, os compostos bioativos não foram avaliados nas massas, apenas nos pães assados. O efeito do forneamento no teor de compostos bioativos é controverso; enquanto alguns autores alegam que o processo de forneamento resulta na perda/conversão de alguns compostos fenólicos, lábeis a temperaturas de panificação (Olojede et al., 2020; Drakula et al., 2022), outros destacam maior atividade antioxidante no pão assado do que na massa fermentada, em decorrência da liberação de compostos fenólicos conjugados insolúveis devido ao aumento da temperatura de cozimento (Gélinas & McKinnon, 2006). Os resultados demonstrados por Dapčević-Hadnađev et al. (2022) reforçam a primeira premissa, com redução de TPC após o cozimento atribuído à destruição de alguns compostos fenólicos após exposição a altas temperaturas de forneamento. Os autores observaram, ainda, TPC mais baixo para pães fermentados apenas com leveduras, confirmando assim o papel das BAL no aumento do teor de polifenóis durante a fabricação do pão. Yu, Nanguet e Beta (2013) destacam que o cozimento também diminui a capacidade de eliminação de radicais DPPH.

A atividade de eliminação do radical DPPH, expressa em % de inibição, está apresentada na Figura 2C. Os pães integrais apresentam o maior percentual inibitório, sem diferenças estatísticas entre si. SB-D e SB-E não diferiram de SB-B. SB-B, por sua vez, não se diferenciou de SB-A e SB-C. Os pães brancos apresentaram menor percentual de inibição. O maior valor, em %, foi observado para SB-F. Peñas et al. (2015) identificaram melhor

atividade antioxidante no pão fermentado por *L. brevis*. SB-F foi produzido com o *sourdough* com maior abundância de *L. brevis*, que foi co-dominante com *L. plantarum* (Lima et al., 2024a). Não foi detectado *L. brevis* em SB-D e SB-E, apenas *Pediococcus* sp. (*sourdough* D), *L. plantarum* (*sourdough* D) e *L. coryniformis* (*sourdough* D e E). *L. coryniformis*, espécie comum à SB-D e SB-E, mostrou produzir compostos com potente atividade de eliminação do radical DPPH, inclusive com percentual maior do que o observado para *Lactilactobacillus curvatus* SR6 e *L. plantarum* C88 (Salman et al., 2020).

Assim como os outros compostos bioativos, os pães integrais demonstraram maiores atividades antioxidantes que os brancos, exceto SB-B, produzido utilizando-se *sourdough* constituído majoritariamente por *L. plantarum*, diferente de todos os demais *sourdough*. Sabe-se que *L. plantarum* é uma espécie com alta atividade antioxidante. A título de exemplo, Li et al. (2012) reportaram *L. plantarum* C88 com percentual de 53,05% de eliminação do radical DPPH, o que pode explicar a proximidade do teor antioxidante de SB-B com os integrais SB-D e SB-E. Ademais, há de se destacar que *L. plantarum* também constitui a microbiota de SB-F, juntamente a *L. brevis*, justificando o maior poder antioxidante desta amostra.

Em relação aos FODMAPs, a sacarose foi encontrada em maior concentração em SB-D (13,24 g/100g) e menor em SB-C (5,53 g/100g) (Figura 3). Para nistose e estaquiose, o maior teor foi em SB-F (12,74 g/100g) e o menor em SB-D (9,06 g/100g). SB-E apresentou maior teor de rafinose e quetose (20,66 g/100g), enquanto SB-B e SB-A os menores (12,30 e 12,33 g/100g, respectivamente). Para manitol e sorbitol, SB-D foi caracterizado pelo maior teor (33,24 g/100g) e SB-C o menor (8,85 g/100g). Por fim, no que se refere à glicose e frutose, SB-E apresentou o maior teor (110,65 g/100g), enquanto SB-B condiz com o menor (39,96 g/100g). Em relação à significância estatística, só foram observadas diferenças significativas para glicose e frutose.



**Figura 3:** Teores de FODMAPs dos pães *sourdough* avaliados. Letras iguais para os carboidratos e diferentes pães significam que não há diferenças significativas entre as amostras. SB = *sourdough* bread.

Boakye et al. (2022) e Pejcz et al. (2019) identificaram os frutanos como os FODMAPs predominantes em diferentes variedades de trigo. Haska et al. (2008) realizaram uma análise do teor de frutanos e observaram concentrações mais elevadas no farelo, indicando que os frutanos se acumulam principalmente nas partes externas dos grãos. Estes resultados corroboram com os demonstrados por Biesiekierski et al. (2011), cujas concentrações foram mais altas que as detectadas nos pães integrais neste estudo.

Longin et al. (2020) observaram que pães produzidos com fermento biológico com variedades distintas de trigo diferiam até cinco vezes no teor de FODMAPs. No presente estudo, todas as farinhas utilizadas foram produzidas com *Triticum aestivum* L.; no entanto, são farinhas obtidas a partir de práticas agrícolas distintas, além dossítios de cultivo. No entanto, não foram observadas diferenças significativas entre os pães, exceto para glicose e frutose, referentes a apenas um tratamento à base de farinha integral. Ziegler et al. (2016), por sua vez, observaram que o método de processamento aplicado na fermentação *sourdough* foi mais importante que a variedade de trigo utilizada. FODMAPs foram significativamente influenciados pela variedade e também pela localização do cultivo no trabalho de Boakye et al. (2022). Em nosso conjunto de dados, como todo o processo foi realizado de forma padronizada e considerando-se os achados dos autores, a não significância entre os teores de FODMAPs pode ser, de fato, justificada pelo emprego do mesmo cultivar de trigo e condições de processamento.

#### 4. Conclusões

Este estudo demonstrou que os efeitos dos diferentes *sourdough* no contexto do teor de ácidos, açúcares e compostos bioativos foi sutil, não apresentando diferenças significativas para a maior parte dos atributos avaliados, caracterizando o fenômeno de redundância funcional microbiana. As maiores diferenças foram dos pães brancos para os integrais, que são atribuídos à farinha utilizada, desse modo, corroborando com os dados da literatura de que os produtos de trigo integral são mais benéficos do que os produtos de trigo refinado. Portanto, as diferenças no consórcio microbiano dos *sourdough* utilizados, no contexto dos compostos biativos, açúcares e FODMAPs, estatisticamente não influenciaram no produto final, apesar das especificidades metabólicas diferentes das espécies. Não foi possível avaliar os atributos na massa dos pães antes da cocção. No entanto, pelos dados disponíveis na literatura, provavelmente nos *sourdough* em si encontraríamos muito mais compostos, os quais muitas vezes são perdidos ou reduzidos durante o procedimento de forneamento. A pesquisa fornece maior compreensão sobre como a fermentação *sourdough* pode influenciar na obtenção de alimentos funcionais. Diferentes proporções bactérias/leveduras e a relação entre os tipos de bactérias (homo e heterofermentativas) em *sourdough* utilizados para produzir pão determinam diferentes teores de ácidos orgânicos, que confluem em diferentes FQ. O FQ afeta o perfil aromático e é relevante para a estrutura do produto final. Assim, o conhecimento prévio das espécies é importante para controlar as propriedades sensoriais, modulando o consórcio no intuito de alcançar os atributos desejados pelos fabricantes de *sourdough*, uma vez que o perfil dos metabólitos pode modificar a taxa de reações bioquímicas durante a fermentação e, portanto, afetar o desempenho da panificação e a qualidade do pão em geral.

Desse modo, conclui-se que, apesar do uso de matérias-primas distintas na elaboração dos *sourdough*, os reflexos no produto final não foram significativamente relevantes. Assim, apesar de apresentarem microbiotas distintas, as especificidades metabólicas das mesmas não impactaram significativamente no produto final. Algumas espécies, no entanto, podem conferir atributos mais ou menos agradáveis, a depender da preferência dos consumidores. Observou-se, por exemplo, complementando os achados de Lima (b, *a ser publicado*), que a presença dominante de *L. coryniformis* confere ao produto características que conduzem à menor aceitabilidade sensorial. Portanto, a descrição das espécies quanto às habilidades das mesmas para fins de uso como cultura *starter* é imprescindível.

## Referências

- Beta, T., Nam, S., Dexter, J. E., & Sapirstein, H. D. (2005). Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal Chemistry*. <https://doi.org/10.1094/CC-82-0390>
- Biesiekierski, J. R., Rosella, O., Rose, R., Liels, K., Barrett, J. S., Shepherd, S. J., Gibson, P. R., & Muir, J. G. (2011). Quantification of fructans, galacto-oligosaccharides and other short-chain carbohydrates in processed grains and cereals. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 24(2), 154-176. <https://doi.org/10.1111/j.1365-277X.2010.01139.x>
- Boakye, P. G., Kouglblenou, I., Murai, T., Okyere, A. Y., Anderson, J., Bajgain, P., Philipp, B., LaPlante, B., Schlecht, S., Vogel, Ch., Carlson, M., Occhino, L., Stanislawski, H., Ray, S. S., & Annor, G. A. (2022). Impact of sourdough fermentation on FODMAPs and amylase-trypsin inhibitor levels in wheat dough. *Journal of Cereal Science*, 108, 103574. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2022.103574>
- Collar, C. (2005). Role of bread on nutrition and health worldwide. In: M Rosell, J Bajerska, and A F El Sheikha, editors. *Bread and Its Fortification: Nutrition and Health* 2st ed. CRC Press.
- Corsetti, A. (2012). Technology of Sourdough Fermentation and Sourdough Applications. In: M. Gobbetti and M. Gänzle (eds.). *Handbook on Sourdough Biotechnology*, pp. 85-103. US, EUA: Springer. [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5425-0\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5425-0_4)
- Dapčević-Hadnađev, T., Stupar, A., Stevanović, D., Škrobot, D., Maravić, N., Tomić, J., & Hadnađev, M. (2022). Ancient Wheat Varieties and Sourdough Fermentation as a Tool to Increase Bioaccessibility of Phenolics and Antioxidant Capacity of Bread. *Foods*, 11(24), 3985. <https://doi.org/10.3390/foods11243985>
- De Luca, L., Aiello, A., Pizzolongo, F., Blaiotta, G., Aponte, M., & Romano, R. (2021). Volatile Organic Compounds in Breads Prepared with Different Sourdoughs. *Applied Sciences*, 11(3), 1330. <https://doi.org/10.3390/app11031330>
- Drakula, S., Novotni, D., Mustač, N. Č., Voučko, B., Krpan, M., Hruškar, M., & Čurić, D. (2021). Alteration of Phenolics and Antioxidant Capacity of Gluten-Free Bread by Yellow Pea Flour Addition and Sourdough Fermentation. *Food Bioscience*, 44, 101424. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101424>
- Gänzle, M. G. (2014). Enzymatic and bacterial conversions during sourdough fermentation. *Food Microbiology*, 37, 2–10. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.04.007>
- Gelinas, P., & McKinnon, C. M. (2006). Effect of Wheat Variety, Farming Site, and Bread-Baking on Total Phenolics. *International Journal of Food Science*, 41, 329–332. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.01057.x>
- Gumustop, I., & Ortakci, F. (2023). Comparative genomics of *Loigolactobacillus coryniformis* with an emphasis on *L. coryniformis* strain FOL-19 isolated from cheese. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 21, 5111-5124. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2023.10.004>

- Hadaegh, H., Ardabili, S. M. S., Ebrahimi, M. T., Chamani, M., & Nezhad, R. A. (2017). The Impact of Different Lactic Acid Bacteria Sourdoughs on the Quality Characteristics of Toast Bread. *Journal of Food Quality*. <https://doi.org/10.1155/2017/7825203>
- Hansen, A., & Hansen, B. (1994). Influence of wheat flour type on the production of flavour compounds in wheat sourdoughs. *Journal of Cereal Science*, 19(2), 185-190. <https://doi.org/10.1006/jcrs.1994.1025>
- Haska, L., Nyman, M., & Andersson, R. (2008). Distribution and characterisation of fructan in wheat milling fractions. *Journal of Cereal Science*, 48(3), 768-774. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2008.05.002>
- Kim, D., & Han, G. D. (2011). Ameliorating effects of fermented rice bran extract on oxidative stress induced by high glucose and hydrogen peroxide in 3 T3-L1 adipocytes. *Plant Foods for Human Nutrition*, 66(3):285–290. <https://doi.org/10.1007/s11130-011-0243-3>
- Li, L., Shewry, P. R., & Ward, J. L. (2008). Phenolic Acids in Wheat Varieties in the HEALTHGRAIN Diversity Screen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(21), 9732-9739. <https://doi.org/10.1021/jf801069s>
- Li, S., Zhao, Y., Zhang, L., Zhang, X., Huang, L., Li, D., Niu, C., Yang, Z., & Wang, Q. (2012). Antioxidant activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditional Chinese fermented foods. *Food Chemistry*, 135(3), 1914-1919. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.048>
- Li, Y., Ma, D., Sun, D., Wang, C., Zhang, J., Xie, Y., & Guo, T. (2015). Total phenolic, flavonoid content, and antioxidant activity of flour, noodles, and steamed bread made from different colored wheat grains by three milling methods. *The Crop Journal*, 3(4), 328-334. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2015.04.004>
- Lima, T. T. M., Hosken, B. O., De Dea Lindner, J., Menezes, L. A. A., Pirozi, M. R., & Martin, J. G. P. (2023). How to deliver sourdough with appropriate characteristics for the bakery industry? The answer may be provided by microbiota. *Food Bioscience*, 56, 103072. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103072>
- Lima, T. T. M. (a, *a ser publicado*) - Caracterização sensorial e físico-química de pães sourdough produzidos com diferentes fermentos desenvolvidos a partir de farinhas de trigo brasileiras.
- Lima, T. T. M. (b, *a ser publicado*) - Caracterização sensorial e físico-química de pães sourdough produzidos com diferentes fermentos desenvolvidos a partir de farinhas de trigo brasileiras.
- Longin, C. F. H., Beck, H., Gütler, A., Gütler, H., Heiling, W., Zimmermann, J., Bischoff, S. C. & Würschum, T. (2020). Influence of wheat variety and dough preparation on FODMAP content in yeast-leavened wheat breads. *Journal of Cereal Science*, 95, 103021. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.103021>
- Lutter, L., Jõudu, J., & Andreson, H. (2023). Volatile organic compounds and their generation in sourdough. *Agronomy Research*, 21(S2), 504-536. <https://doi.org/10.15159/ar.23.017>
- Mendis, M., & Simsek, S. (2014). Arabinoxylans and human health. *Food Hydrocolloids*, 42(2), 239-243. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.07.022>

- Menezes, L. A. A., Molognoni, L., de Sá Ploêncio, L. A., Costa, F. B. M., Daguer, H., & De Dea Lindner, J. (2019). Use of sourdough fermentation to reducing FODMAPs in breads. *European Food Research and Technology*, 245, 1183-1195. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03239-7>
- Mietton, L., Samson, M.-F., Marlin, T., Godet, T., Nolleau, V., Guezenec, S., Second, D., Nidelet, T., Desclaux, D., & Sicard, D. (2022). Impact of Leavening Agent and Wheat Variety on Bread Organoleptic and Nutritional Quality. *Microorganisms*, 10, 1416. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071416>
- Olojede, A. O., Sanni, A. I., Banwo, K., & Adesulu-Dahunsi, A. T. (2020). Sensory and Antioxidant Properties and In-Vitro Digestibility of Gluten-Free Sourdough Made with Selected Starter Cultures. *LWT - Food Science and Technology*, 129, 109576. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109576>
- Pejcz, E., Spychaj, R., & Gil, Z. (2019). Technological Methods for Reducing the Content of Fructan in Wheat Bread. *Foods*, 8(12), 663. <https://doi.org/10.3390/foods8120663>
- Peñas, E., Diana, M., Frias, J., Quílez, J., & Martínez-Villaluenga, C. (2015). A Multistrategic Approach in the Development of Sourdough Bread Targeted Towards Blood Pressure Reduction. *Plant Foods Human Nutrition*, 70(1), 97-103. <https://doi.org/10.1007/s11130-015-0469-6>
- Pétel, C., Onno, B., & Prost, C. (2017). Sourdough volatile compounds and their contribution to bread: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 59, 105-123. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.015>
- Rakita, S., Torbica, A. M., Dokic, L., Tomić, J., Pojić, M., Hadnadjev, M., & Hadnadjev-Dapcevic, T. (2015). Alpha-amylase activity in wheat flour and breadmaking properties in relation to different climatic conditions. *Food and Feed Research*, 42(2), 91-99. <https://doi.org/10.5937/FFR1502092R>
- Robert, H., Gabriel, V., Lefebvre, D., Rabier, P., Vayssier, Y., & Fontagné-Faucher, C. (2006). Study of the behaviour of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc* starters during a complete wheat sourdough breadmaking process. *LWT - Food Science and Technology*, 39(3), 256-265. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.01.013>
- Rodríguez, H., Curiel, J. A., Landete, J. M., De las Rivas, B., de Felipe, F. L., Gómez-Cordovés, C., Mancheño, J. M., & Muñoz, R. (2009). Food phenolics and lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 132(2-3):79-90. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.03.025>
- Saa, D. T., Di Silvestro, R., Dinelli, G., & Gianotti, A. (2017). Effect of sourdough fermentation and baking process severity on dietary fibre and phenolic compounds of immature wheat flour bread. *LWT - Food Science and Technology*, 83, 26-32. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.04.071>
- Salman, M., Tariq, A., Ijaz, A., Naheed, S., Hashem, A., Abd\_Allah, E. F., Soliman, M. H., & Javed, M. R. (2020). In Vitro Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Lactobacillus coryniformis* BCH-4 Bioactive Compounds and Determination of their Bioprotective Effects on Nutritional Components of Maize (*Zea mays* L.). *Molecules*, 25(20), 4685. <https://doi.org/10.3390/molecules25204685>

- Stolz, P., Böcker, G., Vogel, R. F., & Hammes, W. P. (1993). Utilization of maltose and glucose by lactobacilli isolated from sourdough. *FEMS Microbiology Letters*, 109(2-3), 237–242. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1993.tb06174.x>
- Wahyono, A., Dewi, A. C., Oktavia, S., Jamilah, S., & Kang, W. W. (2020). Antioxidant activity and Total Phenolic Contents of Bread Enriched with Pumpkin Flour. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 411, 012049. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/411/1/012049>
- Warburton, A., Silcock, P., & Eyres, G. T. (2022). Impact of sourdough culture on the volatile compounds in wholemeal sourdough bread. *Food Research International*, 161, 111885. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111885>
- Yu, L., Nanguet, A.-N., & Beta, T. (2013). Comparison of Antioxidant Properties of Refined and Whole Wheat Flour and Bread. *Antioxidants (Basel)*, 2(4), 370-383. <https://doi.org/10.3390/antiox2040370>
- Zhang, Y., Yang, H., Huang, R., Wang, X., Ma, C., & Zhang, F. (2022). Effects of *Lactiplantibacillus plantarum* and *Lactiplantibacillus brevis* on fermentation, aerobic stability, and the bacterial community of paper mulberry silage. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1063914>
- Ziegler, U., Steiner, D., Friedrich, C., Longin, H., Würschum, T., Schweiggert, R. M., & Carle, R. (2016). Wheat and the irritable bowel syndrome – FODMAP levels of modern and ancient species and their retention during bread making. *Journal of Functional Foods*, 25, 257-266. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.05.019>

## CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados deste estudo indicam que, as diferenças na composição microbiana dos fermentos *sourdough* elaborados com diferentes farinhas de trigo brasileiras conferiram características sensoriais, físico-químicas e nutricionais distintas aos pães *sourdough* produzidos, apesar de não diferirem estatisticamente. As variações observadas nos atributos dos pães também foram associadas ao tipo de farinha utilizada na produção, sendo que os pães integrais demonstraram ter potencialmente maiores benefícios à saúde devido às suas concentrações mais elevadas de compostos bioativos. Para a indústria de panificação, a compreensão do papel da microbiota é essencial, sobretudo almejando padronização e otimização dos processos de produção em larga escala, visando fornecer pães *sourdough* com características sensoriais, nutricionais e de segurança consistentes e de alta qualidade. A continuidade de pesquisas nesse campo pode contribuir para o aprimoramento das práticas de produção e ampliação do mercado de pães *sourdough*, atendendo à crescente demanda dos consumidores por alimentos saudáveis e saborosos. Do mesmo modo, estudos relacionados à microbiota de diferentes produtos *sourdough* são essenciais para que novas culturas *starter* sejam descobertas, as quais podem ser potenciais candidatas para uso em escala industrial.

**ANEXOS: DEMAIS PUBLICAÇÕES**

Lima et al. *Journal of Ethnic Foods* (2022) 9:35  
<https://doi.org/10.1186/s42779-022-00153-4>

Journal of Ethnic Foods

REVIEW ARTICLE

Open Access



# Traditional Brazilian fermented foods: cultural and technological aspects

Thamylles Thuany Mayrink Lima, Bianca de Oliveira Hosken, Bárbara Côgo Venturim, Isabelle Lima Lopes and José Guilherme Prado Martin

## Abstract

Fermented foods production started thousands of years ago and comprised a wide variety of products from different cultures and countries. The discovery of fermented foods is considered an empirical process based on human observation and experimentation of food types susceptible to natural biochemical and microbiological effects. Given the historical miscegenation of Brazilian people, the country has rich cultural diversity and a complex mix of ethnicities, religions and culinary traditions, among others. Thus, the current review aims at presenting the main cultural, microbiological and technological aspects of different types of fermented foods and beverages produced and consumed in Brazil, such as traditional artisanal cheeses, fermented meat (*socol* and *charqui*), non-alcoholic or low-alcohol beverages (*aluá*, *calugi*, *tarubá* and *yakupá*), alcoholic beverages (*cachaça*, *tiquira*, *caçuma*, *cauim* and *caxiri*) and fermented foods based on cassava (*puba*, *farinha d'água*, *polvilho azedo* and *tucupi*).

**Keywords:** Artisanal cheeses, Fermented beverages, Indigenous food, Traditional food

Review

# Underexplored Potential of Lactic Acid Bacteria Associated with Artisanal Cheese Making in Brazil: Challenges and Opportunities

Bianca de Oliveira Hosken <sup>1</sup>, Gilberto Vinicius Melo Pereira <sup>2,\*</sup>, Thamylles Thuany Mayrink Lima <sup>1</sup>, João Batista Ribeiro <sup>3</sup>, Walter Coelho Pereira de Magalhães Junior <sup>3</sup> and José Guilherme Prado Martin <sup>1,\*</sup>

- <sup>1</sup> Microbiology of Fermented Products Laboratory (FERMICRO), Department of Microbiology, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa 36570-900, Brazil; bianca.hosken@ufv.br (B.d.O.H.)
- <sup>2</sup> Bioprocess Engineering and Biotechnology Department, Federal University of Paraná, Curitiba 81531-980, Brazil
- <sup>3</sup> Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Unidade Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora 36038-330, Brazil; joao-batista.ribeiro@embrapa.br (J.B.R.); walter.magalhaes@embrapa.br (W.C.P.d.M.J.)
- \* Correspondence: gilbertovinicius@gmail.com (G.V.M.P.); guilherme.martin@ufv.br (J.G.P.M.)

**Abstract:** Artisanal cheeses are prepared using traditional methods with territorial, regional and cultural linkages. In Brazil, there is a great diversity of artisanal cheeses (BAC), which have historical, socioeconomic and cultural importance. The diversity of the BAC between producing regions is due to the different compositions of raw milk, the steps involved in the process and the maturation time. The crucial step for cheese differentiation is the non-addition of starter cultures, i.e., spontaneous fermentation, which relies on the indigenous microbiota present in the raw material or from the environment. Therefore, each BAC-producing region has a characteristic endogenous microbiota, composed mainly of lactic acid bacteria (LAB). These bacteria are responsible for the technological, sensory and safety characteristics of the BAC. In this review, the biotechnological applications of the LAB isolated from different BAC were evidenced, including proteolytic, lipolytic, antimicrobial and probiotic activities. In addition, challenges and opportunities in this field are highlighted, because there are knowledge gaps related to artisanal cheese-producing regions, as well as the biotechnological potential. Thus, this review may provide new insights into the biotechnological applications of LAB and guide further research for the cheese-making process.

**Keywords:** traditional foods; fermentation; bioprospecting; biotechnology



Citation: Hosken, B.d.O.; Melo Pereira, G.V.; Lima, T.T.M.; Ribeiro, J.B.; Magalhães Júnior, W.C.P.d.; Martin, J.G.P. Underexplored Potential of Lactic Acid Bacteria Associated with Artisanal Cheese Making in Brazil: Challenges and Opportunities. *Fermentation* 2023, 9, 409. <https://doi.org/10.3390/fermentation9080409>



## Projeto Queijo+Forte: um plano de atendimento a produtores de queijos artesanais no contexto da pandemia de Covid-19

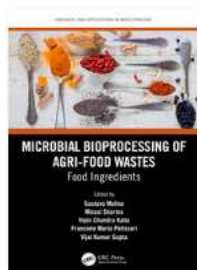
Thamylles Thuany Mayrink Lima<sup>1</sup>, Bianca de Oliveira Hosken<sup>1</sup>, Dalila Luiza de Oliveira Soares<sup>1</sup>,  
Neverson José Silva Ferreira<sup>1</sup>, Walmar Oliveira Leite<sup>1</sup>, Flaviana Coelho Pacheco<sup>1</sup>, Solimar Gonçalves  
Machado<sup>2</sup>, José Guilherme Prado Martin<sup>1,3</sup>

**Resumo:** Minas Gerais é um estado relevante para a produção de queijos artesanais, com regiões tradicionais reconhecidas; porém, em determinadas localidades, a atividade é relativamente restrita. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade queijeira na cidade de Diogo de Vasconcelos, Região do Alto Rio Doce, no contexto pandêmico. Após levantamento inicial, questionários sobre Boas Práticas de Fabricação (BPF), de ordenha e comercialização foram coletados para análise. Os queijos diferiram quanto ao peso (789 a 1072 g), diâmetro (116 a 160 cm) e altura (45 a 59 cm); os valores de pH variam de 5,66 a 6,77; acidez, de 0,95% a 5,2%; umidade, de 38% a 47,15%; cloretos, de 0,38% a 1,34%; e atividade e água, de 0,96 a 0,98. Baixas populações de estafilococos foram detectadas, em acordo com o padrão vigente; e foram observadas populações elevadas de aeróbios mesófilos, demonstrando falhas no processo produtivo, bem como de coliformes termotolerantes, ainda que dentro do padrão vigente. *E. coli* não foi detectada na água de nenhuma propriedade; 57,1% dos produtores necessitaram complementar a renda durante a pandemia; e 85,71% foram beneficiados pelo auxílio emergencial, demonstrando sua relevância para a subsistência dos produtores no período. Com a alta variabilidade observada, conclui-se que a produção de queijos não resulta em produtos característicos, condição que dificulta a criação de uma identidade queijeira para a região; além disso, medidas corretivas junto aos produtores visando ao atendimento às BPF se fazem necessárias.

*Originais recebidos em  
29 de março de 2023*

*Aceito para publicação em  
06 de setembro de 2023*

1  
Laboratório de Microbiologia de  
Produtos Fermentados  
(FERMICRO) Universidade Federal  
de Viçosa (UFV), Viçosa, Minas  
Gerais, Brasil



Chapter

## Microbial Production of Lactic Acid Using Agri-Food Wastes

*By Thamylles Thuany Mayrink Lima, Dalila Luzia de Oliveira Soares, José Guilherme Prado Martin*

Book [Microbial Bioprocessing of Agri-food Wastes](#)

Edition 1st Edition  
First Published 2023  
Imprint CRC Press  
Pages 32  
eBook ISBN 9781003341307



Share

# Alimentos fermentados: propriedades nutricionais e de saúde

*Luiza Carla Vidigal Castro,<sup>1</sup> Ana Íris Mendes Coelho,<sup>2</sup>  
Thamylles Thuany Mayrink Lima,<sup>3</sup> Isabelle Lima Lopes,<sup>3</sup>  
José Guilherme Prado Martin<sup>3</sup>*

## 2.1 FERMENTADOS: HISTÓRICO E FUNCIONALIDADE

A produção e o consumo de alimentos fermentados remontam a tempos anteriores ao desenvolvimento da agricultura. Acredita-se que os primeiros pães de fermentação natural teriam sido os primeiros alimentos fermentados produzidos há mais de 14 mil



By José Guilherme Prado Martin and Thamylles Thuany Mayrink Lima  
Microbiology of Fermented Products Laboratory (FERMICRO), Department of Microbiology, Federal University of Viçosa, Minas Gerais, Brazil