

EVELINE LOPES ALMEIDA

**ESTUDO DE PÃO FRANCÊS PRÉ-ASSADO CONGELADO
ELABORADO COM FARINHA DO TRIGO INTEGRAL:
INFLUÊNCIA DA FORMULAÇÃO, PROCESSO E
ESTOCAGEM CONGELADA**

Campinas - SP

2011



Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Engenharia de Alimentos
Departamento de Tecnologia de Alimentos



ESTUDO DE PÃO FRANCÊS PRÉ-ASSADO CONGELADO ELABORADO COM FARINHA DO TRIGO INTEGRAL: INFLUÊNCIA DA FORMULAÇÃO, PROCESSO E ESTOCAGEM CONGELADA

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da
Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do
Título de Doutor em Tecnologia de Alimentos.

Eveline Lopes Almeida
Engenheira de Alimentos
Mestre em Tecnologia de Alimentos

Prof. Dr. Yoon Kil Chang
Orientador

Campinas - SP
2011

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP**

Almeida, Eveline Lopes
Ev22e Estudo da qualidade de pão francês pré-assado congelado elaborado com farinha do trigo integral: influência da formulação, processo e estocagem congelada / Eveline Lopes Almeida. -- Campinas, SP: [s.n.], 2011.

Orientador: Yoon Kil Chang
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos

1. Pão pré-assado. 2. Pão francês. 3. Congelamento. 4. Farinha do trigo integral. 5. Enzimas. I. Chang, Yoon Kil. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Título em inglês: Study of quality of frozen part-baked french bread made with whole wheat flour: influence of formulation, process and frozen storage

Palavras-chave em inglês (Keywords): Part-baked bread, French bread, Freezing, Whole wheat flour, Enzymes

Titulação: Doutor em Tecnologia de Alimentos

Banca examinadora: Yoon Kil Chang

Caroline Joy Steel

Elizabeth Harumi Nabeshima

Maria Victoria Eiras Grossmann

Myriam de las Mercedes Salas Mellado

Data da defesa: 25/02/2011

Programa de Pós Graduação: Programa em Tecnologia de Alimentos

Este exemplar corresponde à redação final da tese “Estudo de pão francês pré-assado congelado elaborado com farinha do trigo integral: influência da formulação, processo e estocagem congelada” defendida por Eveline Lopes Almeida e aprovada pela comissão julgadora em 25/02/2011.

Prof. Dr. Yoon Kil Chang
Universidade Estadual de Campinas - Unicamp
(Orientador)

Profa. Dra. Caroline Joy Steel
Universidade Estadual de Campinas - Unicamp
(Membro Titular)

Profa. Dra. Elizabeth Harumi Nabeshima
Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL
(Membro Titular)

Profa. Dra. Maria Victoria Eiras Grossmann
Universidade Estadual de Londrina - UEL
(Membro Titular)

Profa. Dra. Myriam de las Mercedes Salas Mellado
Universidade Federal do Rio Grande - UFRG
(Membro Titular)

Profa. Dra. Gláucia Maria Pastore
Universidade Estadual de Campinas - Unicamp
(Membro Suplente)

Prof. Dr. José Assis Fonseca Faria
Universidade Estadual de Campinas - Unicamp
(Membro Suplente)

Prof. Dr. Vivaldo Silveira Jr.
Universidade Estadual de Campinas - Unicamp
(Membro Suplente)

*Dedico esta conquista à minha família:
aos meus pais **José Carlos e Maria José**
e aos meus irmãos **Everton e Evelise***

AGRADECIMENTOS

À Deus por sempre estar comigo, me ajudar nas horas mais difíceis e me conceder uma vida plena de realizações;

À minha família pelo amor incondicional sempre me dedicado;

À Faculdade de Engenharia de Alimentos/Unicamp especialmente ao Departamento de Tecnologia de Alimentos pela oportunidade de estudo;

Ao Prof. Yoon pela orientação e por aceitar fazê-la mesmo eu não estando em condição de aluna em dedicação exclusiva ao doutorado;

Aos professores membros da banca pelas valiosas sugestões e contribuições apresentadas;

À AB Brasil pela liberação de horário de trabalho nos primeiros anos do curso e pela doação do *freezer* para estocagem dos pães. Ao Osmar agradecimento pela oportunidade de desenvolver-me na área de panificação e colaboração no tracejar do projeto;

À MasterSense pela liberação de horário de trabalho por dois anos. Ao Gustavo, Paulo e Tiago por me aceitarem na empresa com esta condição. A todos os amigos de trabalho que sempre compreenderam minha ausência nas sextas-feiras. Agradecimento especial ao Tiago por toda amizade, compreensão e incentivo para a conclusão deste trabalho e ao Edmilson pelas sugestões práticas;

À todas as empresas que gentilmente forneceram as matérias primas para a realização da pesquisa:

AB Brasil (Robison) pela doação do fermento;

AB Enzymes (Alessandra) pela doação de enzimas;

DSM (Doralice, Eliane e Kelly) pela doação de enzimas;

Globalfood (Josiane e Adriana) pela doação de enzimas;

Labonathus (Fernando) pela doação do glúten de trigo;

MasterSense (Tiago) pela doação dos emulsificantes e enzimas;

Moinho Anaconda (Valnei, Lauri e Bruna) pela doação das farinhas de trigo;

Oxiteno (Roberta) pela doação de emulsificante;

Purac (Denir) pela doação de emulsificantes;

Ao Márcio da Extralab por gentilmente desenvolver vários programas de teste para análise de textura;

Ao Ângelo da Klimaquip e ao Wagner da Maqtec pela dedicação e auxílio para que o ultracongelador fosse adquirido para a realização desta pesquisa;

Ao Prof. Vivaldo pela disponibilização de parte da verba para compra do ultracongelador e pela concessão da instalação do equipamento na Planta Piloto de Cereais. Agradecimento também pelo consentimento de uso do sistema de aquisição de dados de temperatura. À Lena e ao Juliano pelo auxílio na manipulação do mesmo;

Ao Prof. Antônio José pelo consentimento de uso do DSC. À Camila e à Vanessa pela ajuda na execução das análises e especialmente à Natália por me dar prioridade no uso do equipamento e providenciar DSC em outro laboratório em períodos de uso extremo;

À Profa. Maria Tereza pela amizade e disponibilidade por transportar e armazenar os pães na sua casa por ocasião de falta de energia na Unicamp;

Ao Prof. Flávio pelo consentimento de uso do liofilizador e à Ana Kom pela ajuda na operação do equipamento e reserva para utilização do mesmo;

À Profa. Caroline pela amizade e conselhos nos períodos difíceis;

À Fifa e à Elizama por me concederem o uso do liofilizador. À Cris e ao Remi por abrirem para mim o Laboratório de Engenharia de Bioprocessos nos finais de semana;

À Renata pela confiança e concessão de livre acesso ao Laboratório de Instrumentação no período noturno e nos finais de semana;

À Beth pela concessão de uso da câmara de congelamento do DTA;

À Zezé e à Juliana do Departamento de Compras da FEA por todo auxílio e empenho prestado no processo de compra do ultracongelador;

Ao Cosme por todo auxílio em relação ao cumprimento de prazos e documentações necessárias para a defesa;

À Luciana da Biblioteca da FEA pela ajuda na formatação final da tese;

Aos queridos amigos da Padaria da FEA: Edna, Izilda, Lu, Luciano, Nilo, Simone, Tamires e Zezé por serem companheiros e tornarem o ambiente de trabalho tão agradável;

Aos queridos amigos do Laboratório de Cereais. Além de agradecer por toda amizade e companheirismo (inclusive nos finais de semana), não posso deixar de agradecer também

À Alessandra Coelho pelo auxílio nas análises reológicas da farinha, RVA e sensorial;

À Camila pelo auxílio na elaboração do projeto para submissão ao Comitê de Ética;

À Eliza pela ajuda na análise de FTIR;

À Gabi pela compra de assadeiras e ajuda na análise de microscopia eletrônica;

À Leandra pela disponibilização de seus estagiários para auxílio na análise sensorial;

Ao Márcio pela compra dos termopares;

Ao Noé pela ajuda nas análises dos resultados da DSC e FTIR;

Aos demais amigos do Laboratório de Cereais: André, Alessandra Penteado, Débora, Karime, Patrícia e Simone pela amizade e boa convivência;

À Leandra, Milene e Paula pela amizade, incentivo e por “me darem um teto” em Campinas sempre que precisei;

A todas as pessoas que voluntariamente participaram das análises sensoriais;

E aos demais amigos que torceram para que eu chegasse à conclusão deste trabalho.

A todos vocês, o meu sincero agradecimento!

“Toda a nossa ciência,
comparada com a realidade,
é primitiva e infantil - ainda assim,
é o bem mais precioso que temos.”

Albert Einstein

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	xix
GENERAL ABSTRACT	xxi
INTRODUÇÃO GERAL	1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. CEREAL INTEGRAL	7
2. PÃES PRÉ-ASSADOS	11
2.1. Formulação	12
2.2. Processo	15
2.2.1. Pré-assamento	16
2.2.2. Estocagem	19
2.2.2.1. Estocagem à temperatura ambiente	19
2.2.2.2. Estocagem sob atmosfera modificada	20
2.2.2.3. Estocagem refrigerada	20
2.2.2.4. Estocagem congelada	22
2.2.2.4.1. Congelamento	23
2.2.2.4.2. Tempo de estocagem congelada	26
2.2.2.4.3. Defeitos dos pães pré-assados em estocagem congelada	28
2.2.2.4.3.1. Redução/contração do volume específico	28
2.2.2.4.3.2. Encolhimento da estrutura	29
2.2.2.4.3.3. Descoloração <i>snow white</i>	30
2.2.2.4.3.4. Separação da crosta do miolo	30
2.2.2.4.3.5. Esfarelamento	31
2.2.3. Reassamento	32
3. ENZIMAS EM PANIFICAÇÃO	34
3.1. Glicolipase	36
3.1.1. Lipídeos do trigo	36
3.1.1. Lipases	39
3.2. Hemicelulase (xilanase)	41

3.2.1. Arabinoxilanas	41
3.2.2. Hemicelulase (xilanase)	43
3.2.3. Interação xilanase e enzimas açúcar-oxidativas	46
3.2.4. Inibidores de xilanase	47
3.2.5. Efeito da xilanase na qualidade da massa e dos pães	48
3.3. Hexose oxidase	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

CAPÍTULO 1

Efeito do tempo de fermentação na qualidade de pão francês pré-assado congelado elaborado com farinha do trigo integral

RESUMO	69
ABSTRACT	71
1. INTRODUÇÃO	73
2. MATERIAL E MÉTODOS	74
2.1. Material	74
2.2. Métodos	76
2.2.1. Produção dos pães	76
2.2.1.1. Formulação	76
2.2.1.2. Processo	76
2.2.2. Avaliação do produto	78
2.2.2.1. Volume específico	78
2.2.2.2. Textura: firmeza e elasticidade	78
2.2.2.3. Salto de forno	79
2.2.2.4. Formato	79
2.2.2.5. Abertura e pestana	80
2.2.2.6. Fotos	80
2.2.3. Análise estatística	80
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	81
3.1. Volume específico	81
3.2. Textura: firmeza e elasticidade	83
3.3. Salto de forno	84

3.4. Formato	85
3.5. Abertura e pestana	86
3.6. Fotos	87
4. CONCLUSÃO	94
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95

CAPÍTULO 2

Efeito da adição de enzimas na qualidade de pão francês pré-assado congelado elaborado com farinha do trigo integral

RESUMO	99
ABSTRACT	101
1. INTRODUÇÃO	103
2. MATERIAL E MÉTODOS	105
2.1. Material	105
2.2. Métodos	105
2.2.1. Produção dos pães	105
2.2.1.1. Formulação	105
2.2.1.2. Processo	108
2.2.2. Avaliação do produto	109
2.2.2.1. Tempo de mistura	109
2.2.2.2. Tempo de fermentação	110
2.2.2.3. Volume específico	110
2.2.2.4. Textura: firmeza e elasticidade	110
2.2.2.5. Salto de forno	111
2.2.2.6. Formato	111
2.2.2.7. Abertura e pestana	111
2.2.2.8. Fotos	112
2.2.3. Análise estatística	112
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	113
3.1. Parâmetros do processo	113
3.2. Volume específico	116
3.3. Textura: firmeza e elasticidade	120

3.4. Salto de forno	126
3.5. Formato	129
3.6. Abertura e pestana	132
3.7. Fotos	137
4. CONCLUSÃO	146
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	148

CAPÍTULO 3

Efeito do tempo de estocagem congelada na qualidade de pão francês pré-assado elaborado com farinha do trigo integral

RESUMO	155
ABSTRACT	157
1. INTRODUÇÃO	159
2. MATERIAL E MÉTODOS	160
2.1. Material	160
2.2. Métodos	162
2.2.1. Produção dos pães	162
2.2.1.1. Formulação	162
2.2.1.2. Processo	163
2.2.2. Avaliação do produto	164
Parte I: Caracterização dos produtos	164
2.2.2.1. Tempo de mistura	164
2.2.2.2. Tempo de fermentação	165
2.2.2.3. Salto de forno	165
2.2.2.4. Formato	165
2.2.2.5. Abertura e pestana	165
2.2.2.6. Volume específico	166
2.2.2.7. Textura: firmeza e elasticidade	166
Parte II: Efeito do período de estocagem congelada	167
2.2.2.8. Umidade do miolo	167
2.2.2.9. Fração de água não congelável	167
2.2.2.10. Transições térmicas do amido	168

2.2.2.11. Avaliação sensorial: teste de aceitação e intenção de compra	169
2.2.2.12. Fotos	169
2.2.3. Análise estatística	169
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	170
Parte I: Caracterização dos produtos	170
Parte II: Efeito do período de estocagem congelada	172
3.1. Volume específico	172
3.2. Textura: firmeza e elasticidade	174
3.3. Umidade do miolo	177
3.4. Fração de água não congelável	178
3.5. Transições térmicas do amido	182
3.6. Avaliação sensorial: teste de aceitação e intenção de compra	186
3.7. Fotos	189
4. CONCLUSÃO	190
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	191

CAPÍTULO 4

Mudanças estruturais da massa nos processos de pré-assamento e reassamento de pão francês elaborado com farinha do trigo integral

RESUMO	197
ABSTRACT	199
1. INTRODUÇÃO	201
2. MATERIAL E MÉTODOS	203
2.1. Material	203
2.2. Métodos	202
2.2.1. Produção dos pães	205
2.2.2. Avaliação do processo e do produto	206
2.2.2.1. Perfil de temperatura	206
2.2.2.2. Umidade	206
2.2.2.3. Cor	207
2.2.2.4. Propriedades de pasta	207
2.2.2.5. Transições térmicas do amido	207

2.2.2.6. Difractometria dos raios x	208
2.2.2.7. Espectrometria no infravermelho	208
2.2.2.8. Microscopia óptica de luz polarizada	209
2.2.2.9. Microscopia eletrônica de varredura	209
2.2.2.10. Análise estatística	209
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	210
3.1. Perfil de temperatura	210
3.2. Umidade	211
3.3. Cor	214
3.4. Propriedades de pasta	214
3.5. Transições térmicas do amido	217
3.6. Difractometria de raios x	219
3.7. Espectrometria no infravermelho	222
3.8. Microscopia óptica de luz polarizada	224
3.9. Microscopia eletrônica de varredura	225
4. CONCLUSÃO	229
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	230
CONCLUSÕES GERAIS	235
ANEXOS	237
ANEXO I: Cálculo da quantidade de fibra alimentar no pão	239
ANEXO II: Coeficientes de regressão para as diferentes respostas do Capítulo 2	240
ANEXO III: Análise de Variância (ANOVA) dos modelos obtidos no Capítulo 2	249

RESUMO GERAL

Existe evidência da relação entre o consumo de cereais integrais e a prevenção do desenvolvimento de várias doenças como alguns tipos de câncer, doenças cardiovasculares, diabetes e obesidade. O mercado de pães pré-assados congelados está em ascensão, fazendo deste produto um excelente alimento para veiculação do cereal integral. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade de pão francês pré-assado congelado elaborado com farinha do trigo integral através do estudo do efeito do tempo de fermentação, do efeito da adição de enzimas, da influência do período de estocagem congelada e das transformações da massa nas etapas de pré-assamento e reassamento. Na primeira parte várias formulações foram avaliadas em dois tempos de fermentação diferentes. Na segunda parte um delineamento composto central rotacional (DCCR) foi realizado com as enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose-oxidase como as variáveis independentes. Na terceira parte, os pães pré-assados congelados foram estocados por 0, 1, 7, 15, 30 e 65 dias congelados para avaliação destes períodos. Características como volume específico, textura (firmeza e elasticidade), salto de forno, formato, abertura e pestana foram avaliados nestas três partes. Na terceira parte, a transição térmica do amido, fração de água congelada e avaliação sensorial também foram realizadas. Na quarta parte, características como perfil de temperatura do processo, umidade, cor, comportamento viscoamilográfico, transição térmica do amido, difratometria dos raios-x, microscopia óptica de luz polarizada e microscopia eletrônica de varredura foram avaliadas no final das etapas de pré-assamento e reassamento em três porções dos pães (miolo interno, miolo externo e crosta). Os resultados mostraram que é possível produzir pão francês pré-assado congelado elaborado com farinha do trigo integral, sendo fonte de fibras pela legislação brasileira (mínimo de 3 g de fibra alimentar / 100 g de produto pronto para consumo), que possua atributos de qualidade aceitáveis ao consumidor que relatou alta intenção de compra do produto. Para alcançar tal objetivo, o tempo de fermentação deve ser otimizado de acordo com a formulação para que não ocorra colapso da estrutura. As enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase devem ser utilizadas nas faixas de 30-75 ppm, 91-359 ppm e 30-120 ppm (base farinha), respectivamente, conjuntamente com uma formulação base. O pão pode ser mantido por 65 dias sob estocagem congelada sem que o consumidor perceba alterações nos atributos do pão (aparência, volume, formato, cor, avaliação global) e da fatia (cor, aroma, sabor, textura, avaliação global). A umidade e a cor apresentadas pelos pães após as etapas de pré-assamento e reassamento mostraram que eles apresentavam boas características para a sua comercialização.

Palavras-chave: pão pré-assado, pão francês, congelamento, farinha do trigo integral, enzimas.

GENERAL ABSTRACT

There is evidence of the relationship between the consumption of whole grains and the prevention of illnesses such as cancer, cardiovascular disease, diabetes and obesity. The market of frozen part-baked breads is in ascension, making of this product an excellent food for the propagation of whole grains. The aim of this work was to evaluate the quality of frozen part-baked French bread made with whole wheat flour through the study of (01) effect of proofing time; (02) effect of the addition of enzymes; (03) influence of time of frozen storage and (04) changes of dough during the steps of partbaking and rebaking. In the first part, several formulations were evaluated at two different proofing times. In the second part, a central composite rotational design (CCRD) was used, with the percentages of glycolipase, xylanase and hexose oxidase being the independent variables. In the third part, frozen part-baked breads were frozen stored for 0, 1, 7, 15, 30 and 65 days for the evaluation of these periods. Characteristics such as specific volume, crumb texture (firmness and springiness), oven spring, shape, measurement of the opening and cut of surface were evaluated in these three parts. In the third part, the thermal transition of starch, the unfreezable water fraction and sensory tests were also carried out. In the fourth part, characteristics such as temperature profile, moisture, color, pasting properties, thermal transitions of starch, x-ray crystallography, Fourier infra-red spectroscopy, polarized light microscopy and scanning electron microscopy were evaluated at the end of the part-baking and rebaking steps in three portions of the breads (inner crumb, outer crumb and crust). The results showed that it is possible to elaborate frozen part-baked French bread made with whole wheat flour, source of fiber by the Brazilian legislation (at least 3 g dietary fiber / 100 g final product), that has acceptable quality attributes to the consumer who related high purchase intention of the product. To reach such objective, the proofing time should be optimized in accordance with the formulation to avoid the collapse of the structure. The enzymes glycolipase, xylanase and hexose oxidase should be employed within the ranges of 30-75 ppm, 91-359 ppm and 30-120 ppm (flour basis), respectively, together with a basic formulation. The bread can be kept for 65 days under frozen storage without the consumer noting changes in bread attributes (appearance, volume, shape, color, global evaluation) and slice attributes (color, flavor, taste, texture, global evaluation). The moisture and the color presented by breads after the stages of part-baking and rebaking showed that they showed good characteristics for its commercialization.

Key-words: part-baked bread, French bread, freezing, whole wheat flour, enzymes.

INTRODUÇÃO GERAL

Existe pouca dúvida, atualmente, de que cereais integrais e produtos de cereais integrais são muito superiores à farinha branca ou aos produtos de cereais refinados por apresentarem propriedades funcionais e maior valor nutricional. Os mecanismos responsáveis de benefícios à saúde dos cereais integrais não são claros. Porém, cereais integrais contêm concentradas fontes de fibra alimentar, amido resistente, oligossacarídeos, vitaminas, traços de minerais, compostos fenólicos, fitato e fitoestrogênios tais como a lignana, juntamente com esteróis e estanois de plantas. Constituintes do cereal integral podem atuar sinergicamente para mediar respostas ao colesterol, à insulina e à glicose; diminuir a pressão sanguínea; funcionar como antioxidantes; ligar compostos e carcinogênicos e diminuir o tempo de trânsito intestinal através do colón (MARQUART; SLAVIN; FULCHER, 2002).

No entanto, apesar do grande sucesso da promoção da alegação saudável dos cereais integrais, é difícil processar alimentos que possuam o requerimento que os levam a possuí-la. De acordo com o FDA, o alimento deve conter 51% de ingredientes do cereal integral para ter a alegação dos cereais integrais descrita no rótulo. Pesquisadores relatam que acima de 25% de ingredientes do cereal integral podem ser adicionados em peso da farinha, mas quantidades mais altas causam problemas tecnológicos (SLAVIN; KRITCHEVSKY, 2002).

Vários aditivos são utilizados para melhorar as propriedades da massa e a qualidade do pão na indústria de panificação (BENEJAM; STEFFOLANI; LEÓN, 2009). Atualmente, as enzimas exercem papel importante na tecnologia de panificação (SHAH; SHAH; MADAMWAR, 2006). Foi demonstrado que a aplicação de enzimas ou emulsificantes ou a aplicação de suas misturas podem melhorar significativamente a qualidade do pão elaborado com farinha do trigo integral (GRAUSGRUBER *et al.*, 2008).

O consumo de pães congelados está crescendo no Brasil. Presente no país há poucos anos, ao contrário do que ocorre em países europeus, onde já se tornou hábito o consumo desse tipo de produto (chegam a representar 20% do mercado de pães nessa região), esta tendência vem satisfazendo, principalmente, aos supermercados, que necessitam de apenas um *freezer* e um forno para que o pão esteja pronto para comercialização. Contudo, as padarias estão aderindo, também, a essa nova tendência, e

algumas já estão terceirizando a produção, ou organizando centrais de produção, para reduzir custos, podendo, com isso, utilizar o espaço antes ocupado por fornos e máquinas, para atender melhor a clientela e expor mais adequadamente as suas mercadorias, agregando benefícios e buscando vantagem nas ocasiões de compra do consumidor (BNDES, 2004). Outro grande mercado de pães congelados é representado pelo próprio consumidor que quer fazer o assamento de pães em casa, mas é desencorajado gastar o tempo e o esforço requeridos para realizar o todo processo para produzi-los (PYLER, 1988).

A nutrição é o aspecto mais importante na mente de consumidores ocidentais quando fazem decisões de compras alimentícias e a indústria de alimentos congelados não pode escapar às pressões comerciais exercidas pelo desejo de dietas cada vez melhor balanceadas nutricionalmente. De fato, ela está provavelmente na melhor posição para entregar tais produtos “saudáveis” ao consumidor (KENNEDY, 2000). Além disso, como uma resposta às mudanças demográficas da sociedade atual, a falta de tempo de moradores solteiros ou casados em que ambos parceiros passam a maior parte do tempo trabalhando, também talvez pela falta de habilidade de cozinhar e a preferência para gastar tempo em outros lugares do que na cozinha, uma tendência que tem aumentado aparentemente nas últimas décadas tem sido a demanda de consumidores para produtos de alta qualidade com conveniência baseada no requerimento mínimo de tempo de preparação (GOFF, 2004).

Logo, com o objetivo de unir estas duas tendências do mercado de alimentos, nutrição e conveniência, este trabalho propõe avaliar a qualidade de pão francês pré-assado congelado elaborado com farinha do trigo integral através do estudo: (01) do efeito do tempo de fermentação; (02) do efeito da adição de enzimas; (03) da influência do período de estocagem congelada e (04) das transformações da massa nas etapas de pré-assamento e reassamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BENEJAM, W.; STEFFOLANI, M. E.; LEÓN, A. E. Use of enzyme to improve the technological quality of a panettone like baked product. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44, p. 2431–2437, 2009.

BNDES - Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social **Um panorama do segmento de padarias, no Brasil**. Disponível em: <www.bndes.gov.br/conhecimento/setorial/get4is26.pdf>. Acesso em: 18 out. 2004.

GRAUSGRUBER, H.; MIESENBERGER, S.; SCHOENLECHNER, R.; VOLLMANN, J. Influence of dough improvers on whole-grain bread quality of einkorn wheat. **ACTA ALIMENTARIA**, v. 37, p. 379-390, 2008.

GOFF, H. D. Modified starches and the stability of frozen foods. In: ELIASSON, A. (Ed.). **Starch in food: structure, function and applications**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited; Boca Raton: CRC Press LLC, 2004. Cap. 14, paginação irregular.

KENNEDY, C. J. (Ed.). **Managing frozen foods**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited; Boca Raton: CRC Press LLC, 2000. Paginação irregular.

MARQUART, L.; SLAVIN, J. L.; FULCHER, R. G. (Eds.). **Whole-grain foods in health and disease**. St Paul: American Association of Cereal Chemists, Inc., 2002. 382p.

PYLER, E. J. **Baking Science and Technology**. 3. ed. Kansas: Sosland Publishing Company, 1988. 1359p. v.2.

SHAH, A. R.; SHAH, R. K.; MADAMWAR, D. Improvement of the quality of whole wheat bread by supplementation of xylanase from *Aspergillus foetidus*. **Bioresource Technology**, v. 97, p. 2047–2053, 2006.

SLAVIN, J.; KRITCHEVSKY, D. Pass the whole-grain snack food, please. **Food Technology**, v. 56, n. 5, p. 5, 2002.

Revisão Bibliográfica

1. Cereal integral

A popularidade do conceito de alimentos funcionais tem aumentado rapidamente durante os últimos 10-15 anos. O conceito oferece à indústria de alimentos possibilidades e desafios de melhorar a qualidade nutricional dos alimentos existentes e desenvolver novos alimentos que podem promover saúde (SCHAAFSMA, 2004).

Os cereais fazem parte da alimentação humana desde a antiguidade. No entanto, eles são consumidos, habitualmente, depois de serem submetidos aos processos de moagem e peneiramento (RODRIGO; VADILLO, 2004). As frações farelo e germe que são removidas do grão durante o processo de refinamento provêm a maioria (quase todos) dos compostos biologicamente ativos encontrados no grão. Estes incluem concentrações extremamente altas de vitaminas B (tiamina, niacina, riboflavina e ácido pantotéico) e minerais (cálcio, magnésio, potássio, fósforo, sódio e ferro), elevados níveis de aminoácidos básicos (por exemplo, arginina e lisina) e elevados níveis de tocois em lipídeos. O farelo e o germe também contêm altas concentrações de compostos fenólicos de baixo peso molecular e antioxidantes que encontramos em alimentos comuns (MARQUART; SLAVIN; FULCHER, 2002). No processo de moagem com uma taxa de extração de 80%, a maioria dos compostos benéficos é descartada (NYSTROM et. al., 2007).

Portanto, verificou-se que os produtos altamente processados e formulados à base de cereais no mercado poderiam ter uma limitada relação aos produtos recomendados para promover a saúde (YOKOYAMA *et al.*, 1994). Em 1999, o FDA (*Food and Drug Administration's*) aprovou a alegação para cereais integrais: "Diets ricas em alimentos de cereais integrais e outros alimentos vegetais que possuem baixos níveis de gordura total, gordura saturada e colesterol podem ajudar a reduzir o risco de doenças do coração e certos tipos de câncer". Para o alimento ter a alegação no rótulo ele deve conter 51% ou mais de ingredientes do cereal integral por porção, possuir conteúdo mínimo de fibra alimentar por porção (para pães 2,8g/ 50g) e ter baixo conteúdo de gordura. Além disso, o alimento deve ter, sem fortificação, 10% ou mais do valor diário de um dos seis nutrientes (vitamina A, vitamina C, ferro, cálcio, proteína e fibra) e ter quantidade menor de níveis estabelecidos para quatro outros nutrientes (gordura, gordura saturada, colesterol e sódio) (FDA, 2010).

Cereais integrais (*whole grains*), por definição, devem consistir do grão intacto, moído, quebrado ou laminado cujos principais componentes anatômicos – endosperma

amiláceo, germe e farelo – estão presentes substancialmente na mesma proporção relativa que elas existem no grão intacto (DEVRIES; FAUBION; 1999).

Entre os grãos alimentícios, o trigo é o cereal mais extensivamente produzido e consumido. O trigo, principalmente como farinha, é utilizado para a produção de uma vasta variedade de produtos como pão, fermentados ou não, bolos, biscoitos doces e salgados, etc. (SHENOY, PRAKASH, 2002). A Tabela 1 compara o conteúdo de importantes nutrientes em farinhas do trigo refinado e do trigo integral. Todos os nutrientes que poderiam ter efeito de proteção contra doenças cardiovasculares são reduzidos pelo processo de refinamento dos grãos: ácido linolênico, fibra, folatos, selênio e vitamina E (TRUSWELL, 2002).

Tabela 1: Comparativo da composição dos nutrientes da farinha do trigo integral e da farinha do trigo refinado

Componentes por 100g		Farinha do trigo integral	Farinha do trigo refinado	% retida após o refinamento
Macronutrientes	Água (g)	14	14	100
	Proteína (g)	12,7	11,5	90,5
	Gordura (g)	2,2	1,4	63,6
	Carboidrato(g)	63,9	75,3	117,8
	Fibra (g)	8,6	3,7	43,0
Constituintes inorgânicos	Sódio (mg)	3	3	100
	Potássio(mg)	340	130	38,2
	Cálcio (mg)	38	15	39,5
	Magnésio (mg)	120	31	25,8
	Fósforo (mg)	320	120	37,5
	Ferro (mg)	3,9	1,5	38,5
	Cobre (mg)	0,45	0,18	40,0
	Zinco (mg)	2,9	0,9	31,0
	Manganês (mg)	3,1	0,7	22,6
Selênio (µg)	53	42	79,2	
Vitaminas	Tiamina (mg)	0,3	0,1	33,3
	Riboflavina (mg)	0,09	0,03	33,3
	Niacina (mg)	1,7	0,7	41,2
	Vitamina B-6 (mg)	0,50	0,15	30,0
	Folato (µg)	57	31	54,4
	Vitamina E (mg)	1,40	0,30	21,4

*Estes valores se referem a farinhas sem fortificação. Farinha do trigo refinado destinada à panificação.

Fonte: McCance e Widdowson's (1991)

Vários estudos epidemiológicos sugerem a existência de uma relação entre uma alta ingestão de produtos de cereais integrais e o reduzido risco de desenvolvimento de

certos tipos de câncer, doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2 e obesidade (JENSEN *et al.*, 2006; PEREIRA *et al.*, 2002; SLAVIN, 2003, 2004; SLAVIN; JACOBS; MARQUART, 1997).

Primeiramente, cereais integrais são fontes concentradas de fibra alimentar, amido resistente e oligossacarídeos, carboidratos que escapam à digestão no intestino delgado e são fermentados no intestino grosso, produzindo ácidos graxos de cadeia curta. Estes ácidos graxos reduzem o pH do cólon, servem como uma fonte de energia para a flora intestinal e podem alterar os lipídeos sanguíneos. Esta melhora no ambiente do intestino pode fornecer proteção imunológica além deste órgão. Em segundo lugar, cereais integrais são ricos em antioxidantes, incluindo traços de minerais e compostos fenólicos, os quais têm sido ligados à prevenção de doenças. Além disso, cereais integrais mediam respostas da insulina e da glicose. Apesar da baixa carga glicêmica e índice glicêmico estarem ligados a diabetes e obesidade, riscos de câncer tais como do cólon e da mama também têm sido ligados à alta ingestão de carboidratos prontamente disponíveis. Finalmente, os cereais integrais contêm muitos outros componentes que podem proteger contra doenças crônicas. Estes compostos incluem fitato, fitoestrôgenos tais como lignana, esteróis e estanois de plantas, e vitaminas e minerais (SLAVIN, 2003).

O Departamento de Saúde e Serviços Humanos (HHS) e o Departamento de Agricultura (USDA) dos Estados Unidos da América através do *Dietary Guidelines for Americans* relatam que o consumo de ao menos metade das porções recomendadas de cereal na forma integral é importante para todas as idades, em cada nível de calorias, conhecendo-se a recomendação de fibra alimentar. De acordo com estes órgãos, uma ingestão mínima de 85 g ou mais de cereal integral por dia pode reduzir o risco de doenças coronárias, podem ajudar na manutenção do peso e podem reduzir o risco de outras doenças crônicas. Então, em baixos níveis calóricos, adultos devem consumir diariamente mais da metade (especificamente, ao menos 85 g) de cereais integrais em substituição aos cereais refinados (HHS; USDA, 2005).

Apesar dos governos ao redor do mundo aumentarem a recomendação da ingestão de cereais integrais, os órgãos governamentais não oferecem nenhuma regulamentação oficial que ajude os consumidores a identificar facilmente os cereais integrais nos rótulos dos produtos. Em 2003, foi criado *The Whole Grains Council*, o qual desenvolveu o programa *Whole Grain Stamp* para a clara indicação do conteúdo de cereais integrais na rotulagem. O programa é um esforço da indústria privada. O conselho

possui dois selos (Figura 1): selo básico para produtos contendo no mínimo 8 g de ingredientes de cereais integrais por porção e o selo 100% para os produtos que todos os ingredientes são cereais integrais e contenham no mínimo 16 g de ingredientes de cereal integral por porção. Atualmente, o programa já tem se estendido, e já é possível encontrar os selos até nos cardápios dos restaurantes (WGC, 2010).



Figura 1: Selos que os produtos que possuem cereal integral podem ter de acordo com o registro no *The Whole Grain Council*. À esquerda o selo básico e à direita o selo 100%. Fonte: WGC (2010)

O pão do trigo integral pode ser produzido com 100% de farinha do trigo integral ou até com menores porcentagens desta farinha (SULTAN, 1969). Componentes do cereal integral além de afetarem a qualidade nutricional, afetam também a palatabilidade dos produtos de cereal integral quando comparados aos produtos feitos com farinha do trigo refinado (MARQUART; SLAVIN; FULCHER, 2002). Os componentes não endospermicos (germe, farelo e cabelo do epicarpo) do grão contribuem significativamente para aroma característico, textura densa do miolo e redução do volume específico de pães do cereal integral (GAN *et al.*, 1992; PYLER, 1988), resultando em um pão de qualidade inferior (HASEBORG; HIMMELSTEIN, 1988).

Pães elaborados completamente ou parcialmente com farinha do trigo integral são processados por métodos direto ou esponja e massa, de modo muito similar aos empregados na produção de pães elaborados com farinha do trigo refinado (PYLER, 1988). As maiores diferenças ocorrem como resultado dos requerimentos de água e das propriedades reológicas da massa de farinha do trigo integral versus farinha branca. Massas de farinha do trigo integral sempre requerem mais água na formulação do que

massas de farinha do trigo refinado para hidratar completamente os componentes da farinha e outros ingredientes e para se obter o ótimo desenvolvimento do glúten. Tempos de mistura são geralmente mais longos do que os de uma massa de farinha do trigo refinado. As operações de laminação e moldagem também são afetadas. Desde que as proteínas do glúten provêm características coesivas para o ótimo desenvolvimento da massa e elas são diluídas na farinha do trigo integral, massa de farinha do trigo integral é, por natureza, menos coesiva (MARQUART; SLAVIN; FULCHER, 2002). A massa resultante é pegajosa ou excessivamente densa (HASEBORG; HIMMELSTEIN, 1988), o que faz com que a mesma seja mais difícil para processar e mecanizar (ROGERS, HOSENEY, 1982). Como há uma diminuição da capacidade de formação de glúten pelo emprego da farinha do trigo integral, as formulações são geralmente suplementadas com pequenas quantidades de glúten vital (PYLER, 1988).

2. Pães pré-assados

O maior desafio da panificação sempre foi o mesmo: como preservar aquelas qualidades especiais de aroma, gosto e textura do produto que acabou de sair do forno (CAUVAIN, 2001). Mudanças físico-químicas (envelhecimento e enrijecimento) e deterioração microbiológica, tais como roque e crescimento de fungos, são os fatores mais limitantes da vida útil do pão. Considerando a importância do pão em termos de nutrição e consumo, esta limitada estabilidade provoca grandes perdas econômicas no mundo (KARAOGLU; KOTANCILAR; GURSES, 2005).

A extensão da vida útil dos pães tem sido alcançada através da aplicação de estratégias adequadas de anti-envelhecimento (CAUVAIN, 2001). A utilização de aditivos e coadjuvantes como enzimas, emulsificantes e conservantes na formulação tem sido uma destas estratégias. No entanto, novas tecnologias que utilizam como fundamento a interrupção do processo de fabricação também têm tido êxito quando se trata de suprir a demanda de pães frescos ao consumidor.

O processo de obtenção de pães pré-assados é uma destas tecnologias. O processo consiste em fabricar o pão de maneira parecida à convencional, porém, na etapa de forneamento, o produto é assado até um certo ponto, ao invés de ser assado completamente e, após esta etapa, ele é estocado e posteriormente reassado. Devido à possibilidade do retardamento desta última etapa de reassamento é que é dito que o

processo proporciona um produto fresco. Ela pode ser realizada em algum ponto de venda ou na própria casa do consumidor momentos antes do consumo.

A tecnologia de pães pré-assados impulsiona o crescimento dos pontos quentes, uma tendência na qual a padaria (central de produção) abre uma filial para onde envia pães embalados e pães congelados para assar. Recebendo o produto no ponto de ir ao forno, a loja já não precisa manter áreas específicas para fabricação e estoque de matérias-primas. Todo o processo reduz em até 70% o espaço necessário para o processamento do pão, sobrando, da antiga padaria, apenas o balcão, o forno e um espaço pequeno para armazenar o produto (congelador). Como nesses locais não há setor de produção nem grandes áreas de armazenamento, já que o estoque é de reposição, ocorrerá também expressiva economia em energia elétrica e aumento dos níveis de higiene. Outra vantagem é que a empresa não dependerá mais de profissionais especializados para a fabricação do pão e os produtos são de alta qualidade e padronizados - o pão é o mesmo todo dia (NUTRINEWS, 2010). Uma redução drástica do tempo de preparo do produto também ocorre (LUCAS; LE RAY; DAVENEL, 2005; ROSELL; GÓMEZ, 2007) - que cai de quatro horas, no processo convencional, para apenas 10 minutos com o novo conceito. A redução do tempo de preparo permite, entre outras vantagens, que o cliente tenha pão fresco o dia todo e que a loja tenha total controle sobre a produção, sem riscos de desperdícios ou de falta de produto (NUTRINEWS, 2010).

Nós últimos cinco anos, o faturamento de pães no Brasil cresceu 46%. O setor de panificação brasileiro registrou um crescimento de 12,61% nas vendas em 2009. O faturamento do setor chegou a R\$ 49,52 bilhões, contra R\$ 43,98 bilhões em 2008 (ABIP; SEBRAE, 2010). Em 2001 verificou-se que o número de padarias no país diminuiu devido ao fornecimento de pães congelados em lojas de conveniência e supermercados, uma tendência de expansão no Brasil. Na Europa, o consumo de pão pré-assado congelado era de 40%, porém no Brasil, o consumo ainda era 1,6% (ABIP, 2001). O mercado destes pães tem crescido rapidamente (ROSELL; GÓMEZ, 2007) e os pães pré-assados estão liderando em termos de inovação na indústria de panificação (CARR *et al.*, 2006).

2.1. Formulação

Formulações devem ser cuidadosamente verificadas de acordo com o processo de panificação que será adotado (ROSELL; SANTOS, 2010). Algumas adaptações na

formulação dos pães pré-assados devem ser realizadas para a obtenção de um bom resultado. De acordo com Sluimer (2005), uma farinha de força moderada deve ser utilizada para que o produto final não tenha um volume específico muito alto e tenda a colapsar-se. A adição de emulsificantes que atuam melhorando a textura do pão também é aconselhável. Devido o pão passar por dois estágios de assamento, a água deve ser adicionada em uma quantidade maior do que a usual. No entanto, para que a massa consiga incorporar esta quantidade a mais de água, substâncias que a retém, como os hidrocolóides, podem ser adicionadas.

De acordo com Mandala, Kapetanakou e Kostaropoulos (2008), hidrocolóides estabilizadores (xantana, hidropropilmetilcelulose, goma guar ou LBG) influenciaram as características finais de pães pré-assados. O conteúdo de umidade da crosta desses pães foram 11-19% mais altos do que o pão controle (pães frescos).

Melhoradores de pães podem atuar efetivamente em processos de pães pré-assados com estocagem congelada. A presença de melhoradores (α -amilase, *sourdough*, κ -carragena e hidroxipropilmetilcelulose) minimizou o efeito negativo da estocagem congelada, mostrando um aumento da temperatura de retrogradação. Com relação ao envelhecimento do pão pré-assado antes da estocagem congelada e reassamento, todos os melhoradores diminuíram a entalpia de retrogradação da amilopectina, retardando o envelhecimento (BÁRCENAS; HAROS; ROSELL, 2003).

A adição de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) à formulação de pães pré-assados em estudo realizado por Bárcenas e Rosell (2006a) resultou em produtos reassados com melhores qualidades e com menor taxa de envelhecimento do miolo, sem que os atributos sensoriais fossem afetados. O efeito benéfico da HPMC foi mais evidente nas amostras de pães pré-assados congelados, os quais mostraram uma microestrutura sem qualquer dano devido ao crescimento de cristais de gelo. Os autores explicaram que HPMC teve um efeito protetor contra o dano promovido pelo congelamento e estocagem congelada devido a uma forte interação entre as cadeias de HPMC e os constituintes do miolo do pão. Bárcenas, Benedito e Rosell (2004) verificaram que a adição de HPMC à formulação melhorou a textura do pão obtido por pré-assamento, estocagem congelada e reassamento. Além disso, a presença de HPMC também melhorou o volume específico e a qualidade geral do produto durante longos períodos de estocagem congelada, removendo os efeitos negativos das condições de processo. Contrariamente, a κ -carragena não foi um melhorador apropriado para o processo de forneamento interrompido

com estocagem congelada porque não interrompeu o mecanismo de envelhecimento. Para pães pré-assados estocados a baixas temperaturas (2°C), Bárcenas e Rosell (2007) observaram que a adição de HPMC retardou o envelhecimento destes pães e o mesmo efeito foi observado nos pães reassados. A HPMC diminuiu a dureza do miolo em ambos pães pré-assados e reassados, e também promoveu uma redução da retrogradação da amilopectina.

Em estudo de Rosell e Santos (2010), a adição de fibras (amido resistente, pectina de alto teor de metoxilação e mistura de inulina/fibra de aveia) não foi capaz de manter a estrutura do miolo durante as condições de estocagem. A pectina teve sua funcionalidade negativamente afetada no processo de assamento interrompido. A inclusão de amido resistente e mistura de inulina /fibra de aveia induziu a uma redução do volume específico dos pães e a um aumento da dureza.

Carr e Tadini (2003) verificaram que adições maiores de levedura e de gordura vegetal promoveram, respectivamente, maior volume específico e menor firmeza e mastigabilidade do pão francês pré-assado reassado. A coesividade e a elasticidade não foram significativamente influenciadas pela adição de diferentes quantidades de levedura e gordura vegetal.

Ferreira e Watanabe (1998) avaliaram o volume específico de pão francês pré-assado congelado produzidos com ácido ascórbico (0 e 100 ppm base farinha), gordura vegetal (0, 1% e 2% base farinha) e açúcar (0 e 0,5% base farinha). Os autores recomendaram a adição de 100 ppm base farinha de ácido ascórbico e 2% base farinha de gordura vegetal para encontrar os melhores resultados.

Ribota e Le Bail (2007) ao estudarem a adição de enzimas (alfa-amilase fúngica, hemicelulase e protease) verificaram que as mesmas não produziram diferença notável nas propriedades da água no miolo do pão pré-assado fresco (não congelado), mas pareceram reduzir a intensidade das mudanças nas propriedades da água medida por DSC durante o congelamento do pão pré-assado.

Jianga, Le Bail e Wua (2008) encontraram que a xilanase B de *Thermotoga maritima* MSB8 (XynB) pode ser usada para melhorar a qualidade de pães pré-assados congelados (PPAC). A presença de XynB minimizou o efeito negativo da estocagem congelada em relação à amostra controle (sem XynB). A XynB reduziu a dependência do volume do pão na estocagem congelada e promoveu um significativo aumento no volume do pão. PPAC com XynB tiveram maior volume e foram mais macios quando comparados

com amostra controle (sem XynB). Na presença de XynB, a firmeza do miolo e a recristalização da amilopectina foram diminuídas no período de estocagem, sugerindo um efeito antienvhecimento da XynB em PPAC. Adição de XynB significativamente diminuiu o encolhimento total e encolhimento do miolo do pão durante o processo de congelamento.

O uso de um agente antimicrobiano em pães pré-assados é muito importante, se não, os pães pré-assados devem ser estocados à temperatura de resfriamento 4 ± 2 °C (KARAOGLU; KOTANCILAR; GURSES, 2005). A adição de propionato de cálcio, como agente antimicrobiano, significativamente diminuiu o conteúdo da umidade da crosta, perda de assamento, volume específico, capacidade de hidratação e valores de maciez de pão de forma branco pré-assado estocado a 4 ± 2 °C, enquanto que o conteúdo de umidade do miolo, acidez e cor aumentaram significativamente (KARAOGLU; KOTANCILAR; 2006). A adição de propionato de cálcio proporcionou um efeito significativo nas leituras de amilogramas (temperatura de pasta, pico e viscosidade do final do aquecimento e final do resfriamento), atividade de água, rendimento de volume e valores de maciez do miolo de pães reassados que foram elaborados com farelo de trigo e estocados a 4 ± 2 °C (KARAOGLU, 2006).

2.2. Processo

A tecnologia de pães pré-assados, em princípio, não difere muito da tecnologia tradicional, uma vez o produto passa, antes da estocagem, por todas as etapas necessárias para transformar a massa em pão (FIK; SURÓWKA, 2002). Um fluxograma do processo de pão pré-assado é mostrado na Figura 2. A técnica utiliza as mesmas etapas de mistura, fermentação intermediária e *make-up* (BAKING BUSINESS, 2005). Porém, o tempo entre o final da mistura e o começo da moldagem é freqüentemente mais curto do que o do empregado no método direto. Além disso, a intensidade e o grau de mistura devem ser adaptados. Misturadores de baixa velocidade são freqüentemente utilizados (SLUIMER, 2005).

Há divergências na literatura com relação ao tempo de fermentação final. De acordo com Sluimer (2005), usualmente o tempo de fermentação final é o mesmo do que o de um processo convencional, porém, Ferreira, Watanabe e Benassi (1999) verificaram que, na produção de pão francês, esta etapa deveria ser mais curta.

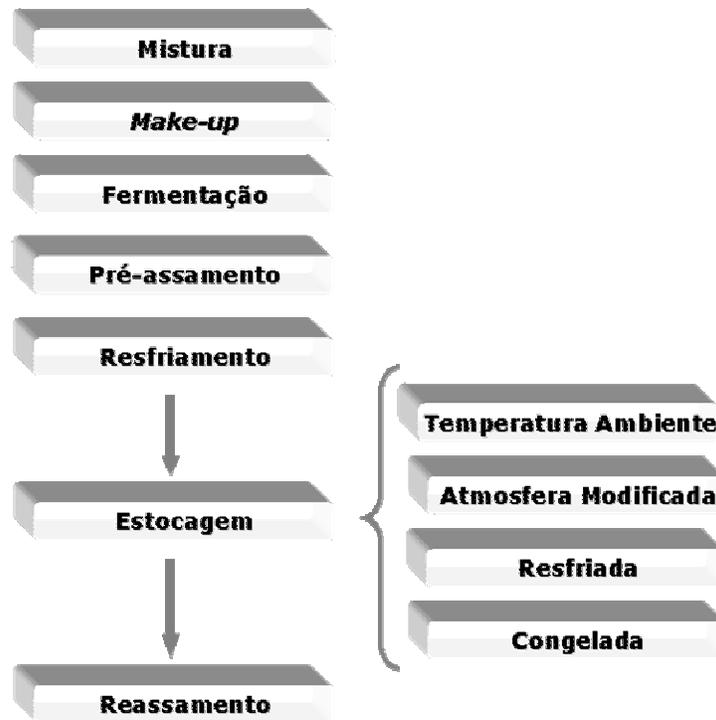


Figura 2: Fluxograma do processo de pão pré-assado

2.2.1. Pré-assamento

Como havia sido citado anteriormente, a principal diferença entre os pães completamente assados e os parcialmente assados é como eles são forneados (HILLEBRAND, 2005). As características típicas de um pão pré-assado, que o diferenciam de um pão convencional é a cor pálida da crosta, o alto conteúdo de umidade no miolo, uma crosta fina e um volume específico mais baixo (LEUSCHNER; O'CALLAGHAN; ARENDT, 1997; SLUIMER, 2005).

Na etapa de pré-assamento, o forneamento do pão ocorre até que o miolo esteja formado e a cor da crosta não esteja desenvolvida, ou seja, o processo é finalizado antes que a reação de *Maillard* ocorra na crosta (BÁRCENAS; ROSELL, 2006a, 2006b; FIK; SURÓWKA, 2002). Após o assamento parcial, ou o pré-assamento, o pão já deve apresentar seu tamanho e forma definitivos (FERREIRA; WATANABE; BENASSI, 1999).

Durante o assamento, as características reológicas da massa do pão sofrem profunda mudança entre 55 e 75°C. É por volta desta faixa de temperatura que ocorre a gelatinização do amido e a coagulação de proteínas. A viscosidade da massa neste

estágio aumenta em muitas ordens de magnitude, porém o produto não está “assado” neste ponto. Se ele é removido neste ponto do forno ele não suporta seu próprio peso e colapsa sob a influência da gravidade. Observações práticas têm mostrado que é necessário continuar o forneamento em muitos tipos de pão para que a temperatura do centro alcance entre 92 e 96 °C antes que uma estrutura rígida o suficiente seja formada (CAUVAIN, 2003). Ainda, de acordo com Pylar (1988), a temperatura do interior dos pães pré-assados quando eles saem do forno deve exceder 76,7 °C e preferencialmente alcançar 82,2 °C, ao contrário, seu volume encolherá excessivamente durante o resfriamento.

Devido ao baixo conteúdo de água da massa, durante o processo de pré-assamento o amido é parcialmente gelatinizado. Desta forma, permanecem alguns grânulos de amido que se fundirão durante o assamento final (BÁRCENAS; HAROS; ROSELL, 2003).

De acordo com Paid e Walker (2001), as condições de pré-assamento (temperatura e tempo) tem um grande efeito nas características de qualidade do pão pré-assado. O tempo de pré-assamento antes do congelamento dos produtos influencia consideravelmente sua qualidade depois do descongelamento e reassamento. Este parâmetro tem efeito significativo como os pães serão comercializados no futuro (KARAOGLU; KOTANCILAR, 2006). O tempo de pré-assamento ou do assamento total depende muito do tipo, massa e forma do produto, bem como, das condições térmicas no forno (FIK; SURÓWKA, 2002). No primeiro estágio de assamento, as temperaturas de assamento são mais baixas e os tempos maiores do que em uma produção convencional, e vapor pode ser utilizado para ajudar no controle do salto de forno (CAUVAIN; YOUNG, 2000).

Karaoglu e Kotancilar (2006) verificaram que o tempo de pré-assamento de pão de forma branco teve um efeito significativo na umidade, volume específico, capacidade de hidratação, maciez, acidez total titulável e cor do pão. Os autores concluíram que com relação à maciez do miolo, um curto tempo de pré-assamento é recomendado para pão de forma branco assado em duas etapas (reassamento após pré-assamento e estocagem). Dez minutos de pré-assamento proporcionou ao pão um miolo mais macio do que em relação aos demais tempos testados (15 e 20 minutos a 230 °C). Porém, com relação ao volume, um longo tempo de pré-assamento é recomendado.

Fik e Surówka (2002) verificaram que o tempo ótimo de pré-assamento está entre 74 e 86% do tempo necessário ao seu completo forneamento. Neste estudo, empregando a fração de 71% do tempo de assamento para pré-assar o pão antes do congelamento e reassamento final depois da estocagem congelada, foi possível obter, em condições industriais, um produto com qualidades sensoriais e de textura próximo às de um pão fresco. Mostrou-se que uma fração de assamento igual a 43% foi muito pequena para inserir aspectos sensoriais e de textura desejáveis nos pães após sua estocagem congelada e reassamento.

Ferreira, Watanabe e Benassi (1999) verificaram que quanto mais alta a temperatura, menor foi o tempo necessário para o pré-assamento do pão francês. Os autores encontraram que, entre as temperaturas estudadas (150, 175 e 200°C), a temperatura de 200°C foi definida como sendo a melhor, uma vez que o pré-assamento ocorreu mais rapidamente e os pães assados nesta temperatura apresentaram volume específico igual aos assados a 175°C e superior aos assados a 150°C.

Pérez-Nieto *et al.* (2010) considerando os valores da temperatura da massa, perda de massa, aumento da altura e estrutura do miolo observaram que ao final do segundo estágio de assamento, a massa alcança uma condição que permanece quase que invariável quando o assamento continua. Este estágio do assamento (quando a temperatura e altura do pão permanecem praticamente constantes) poderia ser considerado como um tempo final apropriado para o pré-assamento da massa. Porém, aspectos da estrutura do miolo devem ser analisados para assegurar que nenhuma mudança posterior na estrutura do miolo torna-se presente quando o assamento continua.

Para cumprir os requerimentos do processo de pré-assamento, o uso de vapor superaquecido é bastante comum. O vapor superaquecido substitui o ar quente utilizado no processo tradicional. Por causa do vapor, o miolo é formado tão rapidamente ou mais rapidamente do que em um forneamento normal. No início do pré-assamento, a superfície da massa absorve o vapor. O aumento acentuado na temperatura induz o transporte de calor na massa, formando então a estrutura do miolo. Por outro lado, a absorção da umidade atrasa a formação da crosta e previne a perda de umidade. Como a temperatura do forno é muito menor do que em forneamento comum, o desenvolvimento da cor da crosta é retardado, que resulta em uma cor pálida da crosta. Porém, uma crosta com uma certa espessura após o pré-assamento é um pré-requisito para obter um volume estável. Se a massa é assada em vapor saturado a 100°C, um volume sem crosta é obtido. Sob

esta condição, o miolo começa a colapsar-se na segunda metade do processo de forneamento e continua a encolher-se durante o resfriamento (SLUIMER, 2005).

De acordo com Cauvain e Young (2000), somente poucos segundos de vapor foram necessários na preparação de pão francês pré-assado em forno turbo. Longos tempos de vapor levaram ao colapso e a um severo enrugamento do produto.

2.2.2. Estocagem

Atenção especial deve ser dada às condições de estocagem de pães pré-assados, desde que ela tem papel fundamental na qualidade tecnológica dos pães e seu comportamento durante o envelhecimento (ROSELL; SANTOS, 2010). Os pães após passarem pelo pré-assamento podem ser estocados de quatro maneiras diferentes antes do reassamento: à temperatura ambiente, sob atmosfera modificada, sob refrigeração ou sob congelamento (BÁRCENAS; ROSELL, 2006a; LEUSCHNER; O'CALLAGHAN; ARENDT, 1997; SLUIMER, 2005). A principal diferença que as diferentes condições de estocagem proporcionam aos pães pré-assados é o tempo de vida de prateleira, o qual pode variar desde alguns dias até meses.

2.2.2.1. Estocagem à temperatura ambiente

A vida de prateleira de pães estocados à temperatura ambiente e bem embalados é limitada (SLUIMER, 2005). A contagem de microorganismos aumenta significativamente durante a estocagem de pães sem adição de agentes antimicrobianos à temperatura ambiente (KARAOGLU; KOTANCILAR; GURSES, 2005). Em torno de cinco dias, mofos na crosta tornam-se visíveis, sinalizando o fim da vida de prateleira. Durante estes cinco dias, a diferença de umidade entre a crosta e o miolo tende a nivelar, fazendo a crosta mais macia e o miolo mais quebradiço. O aroma de pão fresco desaparece na sua maior parte (SLUIMER, 2005). Porém, o segundo estágio de assamento após a estocagem à temperatura ambiente provoca uma diminuição na contagem microbiológica e provém novamente o frescor dos pães (KARAOGLU; KOTANCILAR; GURSES, 2005).

2.2.2.2. Estocagem sob atmosfera modificada

O acondicionamento de pão pré-assado sob atmosfera modificada estende a vida de prateleira microbiológica deste produto por alguns meses. Aspectos como contaminação do produto pós pré-assamento, composição do gás, características do material da embalagem e a tecnologia de empacotamento devem ser verificadas (SLUIMER, 2005).

Leuschner, O'Callaghan e Arendt (1999) observaram inchamento de todas as amostras de pães pré-assados estocados sob atmosfera modificada depois de 2 semanas quando estocadas a 28°C. A estocagem dos pães a 37°C resultou no inchamento das embalagens após 3 dias.

Refrigeração (4°C) em combinação com embalagem à atmosfera modificada poderia ser útil para estender a vida de prateleira de pães pré-assados (*Part-baked brown soda bread and part-baked yeast rolls*). A estocagem de pães pré-assados a 4°C sob atmosfera modificada não estava associada ao inchamento das embalagens (LEUSCHNER; O'CALLAGHAN; ARENDT, 1999). Estes autores encontraram que pães irlandeses (*Irish Brown Soda*) pré-assados estocados sob atmosfera modificada a 4°C foram microbiologicamente estáveis durante 13 semanas.

2.2.2.3. Estocagem refrigerada

A estocagem refrigerada é uma alternativa adequada para a preservação de pães pré-assados (LAINEZ; VERGARA; BÁRCENAS, 2008), pois estende a vida de prateleira e um menor gasto de energia faz-se necessário quando comparada com a estocagem congelada (BÁRCENAS; ROSELL, 2006a; ROSELL; SANTOS, 2010). Ela é crucial para prevenir o crescimento de *Bacillus* (LEUSCHNER; O'CALLAGHAN; ARENDT, 1999).

Karaoglu, Kotancilar e Gurses (2005) mostraram que a contagem microbiológica de pães pré-assados estocados à temperatura de refrigeração (4°C) foi mais baixa que de pães estocados à temperatura ambiente. Pães pré-assados estocados a 7°C mostraram crescimento de fungos no nono dia, enquanto o produto estocado a 1°C não mostrou crescimento de fungos por 28 dias (LAINEZ; VERGARA; BÁRCENAS, 2008).

A estocagem de pães a baixas temperaturas não é geralmente recomendada porque ela aumenta a taxa de envelhecimento e desta forma diminui o grau de frescor e qualidade. No caso de pães pré-assados, a estocagem a baixas temperaturas poderia ser

considerada porque o envelhecimento é revertido através do reassamento (LEUSCHNER; O'CALLAGHAN; ARENDT, 1999).

A dureza do miolo e o envelhecimento dos pães reassados foram progressivamente acelerados ao longo da estocagem (ROSELL; SANTOS, 2010). Bárcenas e Rosell (2007) também verificaram que durante a estocagem dos pães pré-assados a baixa temperatura (2°C), um progressivo aumento da dureza do miolo e uma rápida cristalização da amilopectina foram produzidos. Porém, o calor aplicado durante o processo de reassamento reverteu estas propriedades e a extensão deste melhoramento foi dependente do tempo de estocagem do pão pré-assado. Com relação ao envelhecimento dos pães reassados, o tempo de estocagem dos pães pré-assados não afetou significativamente o processo de envelhecimento dos pães reassados resultantes (BÁRCENAS; ROSELL, 2007). Os pães completamente assados obtidos dos pães pré-assados estocados a 1°C mostraram valores maiores de dureza e mudança na dureza do miolo do que os pães pré-assados estocados a 7°C (LAINEZ; VERGARA; BÁRCENAS, 2008).

O pão de forma branco reassado, o qual foi pré-assado por 10 minutos e estocado por 7 e 14 dias sob temperatura de refrigeração, proporcionou miolos mais macios do que os pães controle (pães não pré-assados) (KARAOGLU; KOTANCILAR, 2006). Com relação à maciez do miolo, Karaoglu (2006) mostrou que o período de estocagem refrigerada de pães pré-assados elaborados com farelo de trigo determinou a taxa de dureza durante o envelhecimento.

A estocagem refrigerada teve pouco impacto no volume específico (ROSELL; SANTOS, 2010), mas o aumento do tempo de estocagem refrigerada (4°C) de pães pré-assados levou a um decréscimo na qualidade dos pães reassados resultantes com relação à perda de conteúdo de umidade, maciez e um aumento da perda de assamento e volume específico (KARAOGLU; KOTANCILAR, 2006). No entanto, Lainez; Vergara; Bárcenas (2008) verificaram que o conteúdo de umidade, volume específico e taxa da largura/altura no pão completamente assado não foi afetado pelo tempo de estocagem e temperatura. Os pães completamente assados obtidos dos pães pré-assados estocados a 1°C mostraram qualidade sensorial inferior aos pães pré-assados estocados a 7°C (LAINEZ; VERGARA; BÁRCENAS, 2008).

Comparando a estocagem refrigerada com a estocagem à temperatura ambiente verifica-se que a difusão de umidade do miolo para a crosta acontece a uma taxa muito mais lenta a 0°C do que a 25°C. Durante a estocagem de um volume embalado à temperatura ambiente, a crosta torna-se macia após um dia de estocagem. Na estocagem refrigerada, a crosta permanece com alguma crocância por mais de dois dias. Tais crostas recuperam-se no reassamento mais rapidamente do que uma crosta macia. A crosta reassada da estocagem refrigerada dá uma melhor impressão de frescor do que a crosta da estocagem à temperatura ambiente. Além disso, o desenvolvimento de aromas estranhos é muito menor em temperaturas de refrigeração do que em condições ambientes (SLUIMER, 2005).

Em relação à estocagem congelada, a estocagem refrigerada parece ser uma boa alternativa. A microestrutura do miolo de pães estocados à temperaturas de refrigeração (2°C) mostrou-se quase intacta comparada a de pães estocados a temperaturas de congelamento. As temperaturas positivas de estocagem levaram os pães a terem um maior volume específico, menor dureza do miolo e menor taxa de endurecimento durante o envelhecimento do que pães estocados a temperaturas de congelamento. Com relação à qualidade sensorial, pães pré-assados de estocagem a temperaturas de refrigeração não diferiram em aroma, mas tiveram escores mais baixos em gosto e textura em relação aos pães de estocagem congelada. Estudos adicionais do desempenho da qualidade sensorial e segurança microbiológica em longos períodos de estocagem à temperatura de estocagem refrigerada fazem-se necessários (BÁRCENAS; ROSELL; 2006a).

2.2.2.4. Estocagem congelada

A estocagem congelada é o processo mais utilizado para a preservação de pães pré-assados. Esta técnica permite estocagem por longos períodos, mas é um processo caro devido ao alto custo de manutenção da cadeia de frio (LAINEZ; VERGARA; BÁRCENAS, 2008). Uma comparação entre o processo dos pães pré-assados congelados e o dos pães convencionais mostrou que, para condições industriais, o processo de pães pré-assados congelados demandou em torno de 2,2 vezes mais energia elétrica que no processo convencional (sem considerar energias para resfriamento após o pré-assamento, para estocagem congelada e para o descongelamento do pão pré-assado antes do assamento final) (LE BAIL *et al.*, 2010).

2.2.2.4.1. Congelamento

O congelamento converte a água presente em alimentos em um composto não ativo, e desta forma, junto com a baixa temperatura impede o crescimento de microorganismos e o desenvolvimento de reações químicas e enzimáticas responsáveis pela deterioração do alimento (BÁRCENAS; ROSELL, 2006b).

Há uma grande quantidade de informação disponível na literatura sobre o congelamento de alimentos, no entanto, existem poucos dados relatados sobre alimentos de alta porosidade, como os pães (HAMDAMI; MONTEAU; LE BAIL, 2004c, 2004d). O congelamento de uma matriz porosa úmida é um problema muito específico. De fato, uma acoplada transferência de calor e difusão de umidade existe e é complicada ainda pela transição da água a gelo (HAMDAMI; MONTEAU; LE BAIL, 2004b). Recentemente, vários pesquisadores têm focado seus estudos nas propriedades e nas mudanças termofísicas que ocorrem durante o congelamento de pães pré-assados (GRENIER *et al.*, 2002; HAMDAMI; MONTEAU; LE BAIL, 2003, 2004a, 2004b, 2004c, 2004d, 2004e, 2006; LUCAS *et al.*, 2005; LUCAS; LE RAY; DAVENEL, 2005).

O pão pode ser congelado, estocado no estado congelado e descongelado mais facilmente que uma massa. Pães, após o congelamento, não requerem atividade de levedura ou propriedades de retenção de gás, os quais são fatores de qualidade importantes em massas não assadas. Porém, o sucesso do congelamento do pão também requer cuidado e atenção em todos os aspectos de operação. Congelamento, estocagem congelada e descongelamento impróprios do pão podem aumentar o envelhecimento (INOUE; BUSHUK, 1996). Isto é, de fato, confirmado por Cauvain (2004), Kennedy (2000) e Vulicevic *et al.* (2004). De acordo com estes autores, como a maior parte do envelhecimento do pão vem da passagem entre 0°C e 5°C, com a máxima taxa de envelhecimento ocorrendo por volta de 4°C, um ciclo de congelamento-descongelamento mal executado pode aumentar enormemente o grau de envelhecimento experimentado pelo pão porque o produto passa duas vezes através da temperatura ótima de envelhecimento. O efeito do ciclo de congelamento\descongelamento no envelhecimento do pão será mais significativo quanto mais longo for o período que ele passar através da temperatura crítica (CAUVAIN, 1998). Desta forma, é necessário que o resfriamento dos pães pré-assados passe por esta faixa de temperatura o mais rápido possível para que sua qualidade durante a estocagem congelada seja preservada (VULICEVIC *et al.*, 2004).

O processo de congelamento adotado pelas empresas que comercializam este tipo de produto no Brasil utiliza equipamentos mecânicos de refrigeração, utilizando a convecção do ar à baixa temperatura (-40°C) com alta velocidade como princípio de troca térmica. A criogenia, que utiliza nitrogênio líquido ou dióxido de carbono, também é adequada ao processo de pães congelados (PINHEIRO, 2005).

HANDAMI *et al.* (2007) estudaram as condições de congelamento de pães pré-assados. Eles verificaram que temperatura, velocidade e umidade relativa do ar frio são, por ordem de importância, os parâmetros de ar frio mais influentes na perda de peso, concentração de gelo na interface crosta-miolo e tempo de congelamento. Para o congelamento dos pães em uma única etapa, os autores concluíram que o tempo de congelamento e a perda de peso diminuíram com a redução da temperatura e o aumento da velocidade do ar. A concentração de gelo abaixo da crosta diminuiu com a redução da temperatura e velocidade do ar. Conseqüentemente, para minimizar a perda de peso, o tempo de congelamento e a concentração de gelo na interface crosta-miolo durante o processo de congelamento do pão pré-assado, as combinações ótimas da temperatura-velocidade do ar são 233,15 K - 5 m/s, 233,15 K - 5 m/s e 0,5 m/s - 233,15 K, respectivamente. O congelamento rápido (233 K e 5 m/s) deve ser utilizado se o objetivo é minimizar a perda de peso e o tempo de congelamento.

Apesar do congelamento de pães geralmente ser executado em um processo de um único estágio, HANDAMI *et al.* (2007) propuseram um processo de congelamento de dois estágios onde a temperatura e a velocidade do ar sofreram mudança entre os dois estágios. Congelamento lento (0,5 m/s e 253 K) aplicado no início do processo de congelamento tende a minimizar o conteúdo de gelo na interface crosta-miolo durante o período inicial e pode ser combinado com um congelamento rápido aplicado durante o segundo estágio (5 m/s e 233 K). Por meio de congelamento lento no primeiro estágio e congelamento rápido no segundo estágio, houve uma redução considerável (13,5%) na concentração de gelo na interface em comparação com um processo de estágio único, em detrimento de um aumento no tempo de congelamento e perda de peso.

Ota (2006) verificou que a temperatura do ar do túnel de congelamento foi o fator que mais influenciou na qualidade final do produto, sendo as temperaturas mais baixas as mais prejudiciais. Para os pães pré-assados sem aditivos manterem as características físicas e estruturais semelhantes ao pão sem aditivos processado tradicionalmente eles deveriam ser congelados em temperaturas do ar intermediárias (de $-14,5$ a -21°C),

apresentando uma maior flexibilidade quanto a velocidade do ar (3,5 a 6,0 m/s). Para os pães pré-assados com aditivos apresentarem características similares aos pães de referência com aditivos estes deveriam ser congelados em temperaturas do ar intermediárias (-14,5 a -21 °C) e baixas velocidade do ar (de 2,1 a 4,7 m/s).

Um pão não embalado congela consideravelmente mais rápido do que um pão embalado. Já foi demonstrado que a taxa de congelamento de um pão não embalado responde a diferenças na velocidade e orientação do ar, bem como às temperaturas de congelamento. A perda de umidade durante o congelamento de pão não embalado é desprezível. Conseqüentemente, é recomendado que os pães sejam congelados desembalados para minimizar a perda de qualidade durante o congelamento (JEREMIAH, 1996).

Processos de congelamento e descongelamento influenciaram negativamente a dureza da crosta. O teste de penetração da crosta revelou que pães convencionais tiveram maior dureza da crosta, seguidos pelos pães de massa não fermentada congelada, pães completamente assados congelados e pães pré-assados congelados. Pães pré-assados congelados apresentaram firmeza do miolo significativamente maior do que a dos pães convencionais (CURIC *et. al.*, 2008).

Análises de imagem do miolo revelaram que a taxa da área total dos alvéolos e a área total medida dos pães completamente assados congelados foi similar à dos pães convencionais, mas nas massas não fermentadas congeladas e nos pães pré-assados congelados ela foi menor. Porém, o número de alvéolos por cm² do miolo foi maior nos pães pré-assados congelados e nas massas não fermentadas congeladas que nos pães convencionais, onde os alvéolos foram menores. Isto indica que o congelamento influenciou a distribuição dos alvéolos de modo que os alvéolos foram maiores em número, mas menores no tamanho (CURIC *et al.*, 2008). O congelamento do pão pré-assado influenciou as propriedades da água medida por DSC (RIBOTTA; LE BAIL, 2007).

2.2.2.4.2. Tempo de estocagem congelada

Vários problemas podem aumentar com a estocagem congelada de pães pré-assados sob condições controladas de congelamento por um prolongado período de tempo (RIBOTTA; LE BAIL, 2007). Com o aumento do tempo de estocagem do pão pré-assado, a qualidade do pão pode sofrer mudanças como a redução do volume específico, a perda do conteúdo de umidade, o aumento da dureza do miolo e a perda de aroma resultando na deterioração do produto (BÁRCENAS; BENEDITO; ROSELL, 2004; BÁRCENAS; ROSELL, 2006b; VULICEVIC *et al.*, 2004).

CARR *et al.* (2006) verificaram que pão francês pré-assado congelado revelou menor volume específico e peso do que pães frescos; porém, a estocagem congelada não influenciou o conteúdo de água, porosidade, elasticidade e coesividade do miolo

Os efeitos profundos da temperatura de estocagem na taxa de envelhecimento são conhecidos há tempos. Quando a temperatura de estocagem cai, a taxa de firmeza do miolo advinda da retrogradação do amido aumenta (CAUVAIN, 1998). Longos períodos de estocagem congelada parecem estar associados a maior taxa de envelhecimento (BÁRCENAS; ROSELL, 2006b).

Pylar (1988) relata que o produto que é mantido de $-9,4$ a $-6,7^{\circ}\text{C}$, isto é, logo abaixo de seu ponto de congelamento, experimentará uma perceptível perda de maciez e aroma dentro de uma semana. De acordo com o pesquisador, temperaturas de estocagem a -18°C seriam necessárias para que a maciez do miolo permaneça relativamente estável por um mês.

Bárcenas *et al.* (2003) estudaram a modificação da amilopectina durante o processo de panificação por calorimetria diferencial de varredura (DSC). Durante a estocagem nenhuma retrogradação da amilopectina foi detectada no pão pré-assado. Analisando o envelhecimento destas amostras assadas, foi observado que o tempo de estocagem congelada produziu um aumento progressivo da faixa da temperatura de retrogradação da amilopectina, e grande energia foi requerida para a fusão da amilopectina em longos períodos de estocagem, indicando que mudanças estruturais da amilopectina foram produzidas durante a estocagem congelada. Bárcenas, Haros, Rosell (2003) também verificaram que a estocagem congelada de pães pré-assados produziu um aumento na faixa de temperatura de retrogradação da amilopectina. Com relação à qualidade do pão fresco após o reassamento, Bárcenas *et al.* (2003) verificaram que a dureza do miolo aumentou com o tempo de estocagem congelada e que também a taxa

de endurecimento durante envelhecimento foi dependente do tempo. Estudos de DSC e de dureza do miolo mostraram que algumas mudanças são produzidas durante a estocagem congelada. O aumento da dureza do miolo foi mais evidente com 14 dias de estocagem. Bárcenas e Rosell (2006b) observaram que a dureza do miolo de pães pré-assados depois de diferentes períodos de estocagem congelada foi mantida constante, enquanto que a dureza dos pães reassados destes pães aumentou com o tempo de estocagem congelada. Em ambos os tipos de pães, a entalpia de retrogradação da amilopectina não variou com o período de estocagem congelada. Fik e Surówka (2002) não verificaram efeito do período de estocagem congelada (77 dias) na dureza do miolo de pães pré-assados reassados.

As mudanças mais pronunciadas na qualidade dos pães foram observadas no início do período de estocagem. Uma diferença marcante pode ser notada nos valores dos parâmetros dos pães antes do seu congelamento e após uma semana de estocagem congelada. Nas semanas seguintes, mudanças sensoriais e de textura foram somente leves. Foi confirmado que o congelamento por ele próprio tem o maior efeito na qualidade do pão congelado, enquanto que o tempo de estocagem em condições ótimas afeta levemente a qualidade (FIK; SURÓWKA, 2002). Umidade (crosta e miolo), elasticidade e textura na boca foram os atributos de qualidade mais sensíveis que foram significativamente deteriorados depois de 4 semanas de estocagem (VULICEVIC *et al.*, 2004). Resultados obtidos do Teste de Diferença de Controle mostraram que os provadores perceberam uma leve diferença após o terceiro dia entre o pão pré-assado congelado e um fresco (CARR *et al.*, 2006).

Durante a estocagem congelada, um aumento do tamanho do cristal é importante e pode reduzir a qualidade do produto (REID, 1983). Resultados da microestrutura observada por Cryo-SEM (*Low Temperature Scanning Electron Microscopy*) indicaram que o dano físico sofrido pelos constituintes do miolo de pães pré-assados durante a estocagem congelada foi causado pelo crescimento progressivo dos cristais de gelo. Este dano parece ser o principal responsável pela perda de qualidade e maior velocidade da taxa de envelhecimento (BÁRCENAS; ROSELL, 2006b).

O fenômeno de recristalização durante a estocagem congelada que envolve mudanças no número, tamanho e forma dos cristais de gelo danificam a estrutura do produto (BÁRCENAS; ROSELL, 2006a). Reid (1983) menciona que até sob temperaturas constantes, ocorre o processo no qual cristais pequenos diminuem em tamanho,

enquanto cristais grandes crescem em tamanho. Com o tempo, o número de cristais diminui e o tamanho médio dos mesmos aumenta – em parte, ocorre a reversão do efeito inicial do congelamento rápido.

Baseado em propriedades físicas e escores sensoriais, o período de estocagem congelada dos pães pré-assados está entre 12 e 20 semanas (VULICEVIC *et al.*, 2004)

2.2.2.4.3. Defeitos dos pães pré-assados em estocagem congelada

A estocagem congelada é um dos métodos mais eficientes para retardar os processos de envelhecimento do pão (MANDALA; SOTIRAKOGLU, 2005) e de equilíbrio de umidade entre a crosta e o miolo. Além disso, ela preserva o aroma de pão fresco (SLUIMER, 2005). No entanto, ela provoca algumas mudanças na estrutura do pão que geram prejuízos ao produto. Os defeitos de pães congelados citados na literatura são a redução/contração do volume específico, o colapso (encolhimento) da estrutura, o surgimento de uma descoloração logo abaixo da crosta, comumente chamada de “snow-white”, a separação da crosta do miolo e o esfarelamento da crosta.

2.2.2.4.3.1. Redução/contração do volume específico

Pães pré-assados congelados revelaram um volume específico estatisticamente menor do que os pães convencionais (CURIC *et al.*, 2008). A estocagem congelada resultou em uma progressiva redução do volume específico dos pães, com evidência mais marcante durante o primeiro mês de estocagem (ROSELL; SANTOS, 2010).

Ferreira, Watanabe e Benassi (1999) observaram que uma diminuição do volume específico do pão francês ocorreu durante as primeiras 24 h de estocagem congelada (-18°C), e, após este período, este parâmetro permaneceu praticamente inalterado durante todo o tempo de armazenamento (10 dias). Os autores verificaram que este parâmetro foi reduzido devido a uma contração do volume (16%).

Bárcenas *et al.* (2003) e Carr e Tadini (2003) observaram que o período de estocagem congelada (entre 7 e 42 dias e entre 7 e 28 dias, respectivamente) não teve efeito no volume específico do pão pré-assado reassado. Bárcenas, Benedito e Rosell (2004) também verificaram que o volume específico dos pães pré-assados reassados não foi afetado pela duração do tempo de estocagem congelada (entre 7 e 42 dias).

Almeida (2006) observou que houve uma queda estatisticamente significativa no volume específico dos pães reassados de pães pré-assados com 32 e 62 dias de estocagem congelada em relação ao dos pães convencionais, provocada por uma redução do volume dos pães. Entretanto, não houve diferença significativa entre o volume e o volume específico dos pães com 32 dias e 62 dias de estocagem congelada mostrando que o período de estocagem congelada avaliado não influenciou estas características dos pães pré-assados reassados.

Carr e Tadini (2003) verificaram que durante a estocagem congelada, o volume específico dos pães diminuiu provavelmente porque a cristalização do gelo causou dano na estrutura do pão.

2.2.2.4.3.2. Encolhimento da estrutura

No estudo de Ribotta e Le Bail (2007) o processo de congelamento provocou uma significativa contração do pão pré-assado, mostrando que o produto foi submetido a um grande choque mecânico durante seu processamento. O estudo confirmou o encolhimento durante o resfriamento e congelamento.

Análise de DMA (*Dynamic Mechanical Analysis*) em um modo de força controlada foi capaz de acompanhar o comportamento de encolhimento do miolo do pão pré-assado durante o congelamento. O miolo encolheu através do resfriamento e de todo o processo de congelamento, as curvas apresentaram uma fase de contração térmica, seguida por uma queda rápida na altura do miolo, que pode estar relacionado à matriz do congelamento. Em geral, o congelamento do pão pré-assado altera o perfil termo-mecânico. As amostras congeladas apresentaram um taxa menor de contração durante o resfriamento, mas uma maior deformação durante o seu processo de congelamento. Desde que a retração total não tem alterações significativas em consequência do resfriamento e congelamento do pão pré-assado, a tensão desenvolvida na matriz durante todo o processo foi maior nas amostras congeladas devido ao fato delas possuírem uma deformação mais rápida durante a cristalização de gelo (RIBOTTA; LE BAIL, 2007).

A cristalização da amilose durante o resfriamento e a recristalização parcial da amilopectina durante o congelamento e estocagem congelada poderiam explicar a contração do miolo e o incremento da fração da água não congelável (RIBOTTA; LE BAIL, 2007). A utilização de enzimas específicas combinadas com condições apropriadas de

processamento (taxa específicas de resfriamento e congelamento) deve provavelmente permitir a redução da contração do miolo (RIBOTTA; LE BAIL, 2007).

2.2.2.4.3.3. Descoloração *snow-white*

Um dos prejuízos da estocagem congelada é o aparecimento de uma descoloração branco neve no miolo. A ocorrência deste anel branco ou anel de congelamento é uma consequência do ressecamento do miolo logo abaixo da crosta durante a estocagem congelada (SLUIMER, 2005). Pesquisadores têm mostrado que os anéis brancos que começam aparecer sob a crosta são causados pela transferência de umidade por sublimação e difusão do centro altamente úmido do miolo para a região da crosta de baixa umidade (PYLER, 1988). O aparecimento da descoloração ocorre depois de um tempo relativamente longo no congelador. O anel torna-se mais fraco, mas não desaparece depois do descongelamento (SLUIMER, 2005).

2.2.2.4.3.4. Separação da crosta do miolo

Nem todos os produtos de panificação congelam com êxito. Isto é especialmente verdade para os pães crocantes (por exemplo, baguetes) com a mais óbvia manifestação de problema de qualidade, o descolamento da crosta do restante do produto. Em pães crocantes existe uma considerável diferença no conteúdo de umidade entre a porção da crosta e miolo, o que significa que eles congelam e descongelam, e expandem e contraem a taxas diferentes. Isto coloca uma pressão considerável na arquitetura estrutural do produto e o resultado final de várias tensões e deformações é a separação da crosta e do miolo. O problema poderia ser resolvido através da migração de umidade do miolo para a crosta, o que mais tarde a deixaria macia e flexível, mas então a natureza do produto seria mudada a um grau que poderia ser inaceitável para um produto crocante (CAUVAIN, 1998).

2.2.2.4.3.5. Esfarelamento

Um dos maiores problemas de qualidade de pães pré-assados congelados é o esfarelamento da crosta (RIBOTA; LE BAIL, 2007). A ocorrência não sistemática do esfarelamento em escala de produção sugere que este fenômeno deve estar condicionado por fatores no ambiente da produção (LUCAS *et al.* 2005). O esfarelamento da crosta algumas vezes aparece no último estágio, comprometendo seriamente a qualidade sensorial do pão. Práticas industriais sugerem que a etapa de congelamento é responsável pelo esfarelamento. Nenhum esfarelamento ocorre depois da etapa final de assamento se o pão não foi congelado (LUCAS; LE RAY; DAVENEL; 2005).

Foi encontrado que o esfarelamento da crosta aumentou com o congelamento do pão desde que estes estivessem completamente assados e congelados e pães pré-assados congelados apresentaram esfarelamento significativamente mais alto que pães assados convencionalmente (CURIC *et. al.*, 2008).

Le Bail *et al.* (2005) verificaram que a umidade relativa durante a fermentação e o pré-resfriamento mostrou ser o fator chave para controlar a quantidade de esfarelamento. Para obter melhores características da crosta de baguetes pré-assadas, congeladas e reassadas (minimização do esfarelamento), a fermentação final realizada em condição úmida (umidade relativa entre 90-95%) foi melhor do que em condição seca (umidade relativa 50-55%) e da mesma forma o resfriamento após o pré-assamento realizado em condição úmida (umidade relativa entre 90-95%) foi melhor do que em condição seca (umidade relativa 50-55%). Outros fatores que ajudaram a minimizar o esfarelamento da crosta das baguetes foram a aplicação de vapor no início do pré-assamento e a temperatura do produto no início do congelamento não ser muito alta. Os resultados obtidos com a temperatura do centro a 35°C, a qual foi a menor temperatura investigada, foram melhores do que os obtidos a 55°C.

O esfarelamento da crosta pode ser explicada por um efeito sinérgico de um conjunto múltiplo de parâmetros (RIBOTTA; LE BAIL, 2007). Três fatores são citados como causa do esfarelamento: choque termo-mecânico (HANDAMI *et al.*, 2007; Lucas *et al.*, 2005; RIBOTTA; LE BAIL, 2007), ressecamento da crosta (CURIC *et. al.*, 2008; HANDAMI *et al.*, 2007) e acúmulo de gelo sob a crosta (HANDAMI *et al.*, 2007).

O esfarelamento da crosta pode estar relacionado a mudanças mecânicas devido ao choque termo-mecânico durante o resfriamento-congelamento e assamento final. Crosta e miolo são dois materiais diferentes, dependendo da hidratação da crosta no final

do pré-assamento, a crosta será mais ou menos susceptível ao estresse termo-mecânico imposto durante o processo de congelamento (HANDAMI *et al.*, 2007). De acordo com LUCAS *et al.* (2005), se o volume não pode deformar-se em resposta à força de compressão da fase gás durante o resfriamento ou à retração da rede protéica, forças de tensão se desenvolverão dentro da estrutura. Essas forças associadas de tensão e estresse atuam em um domínio muito estreito (interface crosta-miolo) em que gradientes extremos em termos de temperatura, umidade e água congelada ocorrem (RIBOTTA; LE BAIL, 2007). Isto irá enfraquecê-la e fazer que partes da estrutura se destaquem mais facilmente dela mesmo, isto é, a crosta esfarelar-se (LUCAS *et al.* 2005).

As condições de processo podem influenciar a qualidade do pão pré-assado congelado, a qual pode estar relacionada ao excesso de ressecamento da superfície no resfriamento após o pré-assamento e o processo de congelamento. Esse excessivo ressecamento pode ser responsável pelo esfarelamento e/ou pela cor sem brilho da crosta (HANDAMI *et al.*, 2007; CURIC *et al.*, 2008).

Acúmulo de gelo abaixo da crosta durante o congelamento pode contribuir para o esfarelamento da crosta e então isso pode ser considerado um indicador de qualidade (HANDAMI *et al.*, 2007).

2.2.3. Reassamento

Os principais objetivos da segunda fase de forneamento são reverter o envelhecimento do pão, formar a crosta, proporcionar coloração amarronzada à crosta e desenvolver aroma (LEUSCHNER; O'CALLAGHAN; ARENDT, 1997, 1998, 1999; SLUIMER, 2005). Um rápido processo de congelamento acompanhado por um rápido descongelamento no forno é o que impulsiona o mercado de pães pré-assados (KENNEDY, 2000).

Em qualquer caso, para se obter uma coloração aceitável durante o reassamento, a temperatura do forno deve ser alta, por exemplo, mais alta do que 250°C. Desta forma, para manter a perda de umidade baixa, o tempo de reassamento deve ser curto, em torno de 10 min para bisnagas e 25 min para pães de forma (SLUIMER, 2005).

No entanto, Leuschner, O'Callaghan e Arendt (1997) encontraram que foi possível estabelecer o reassamento do pão a temperaturas mais baixas. Estes autores verificaram que o escurecimento da crosta ocorreu mais rápido a 200°C do que a 180°C. O tempo de

reassamento de 20 min com o forno a 180 °C foi suficiente para reverter a firmeza do envelhecimento do pão e recuperar a maciez do miolo de um pão fresco.

Ferreira, Watanabe e Benassi (1999) verificaram que depois do assamento final, o pão francês pré-assado apresentou uma contração de volume de aproximadamente 8% em relação ao pão submetido apenas ao pré-assamento. Entretanto, seu volume específico não foi reduzido na mesma proporção durante o assamento final. O volume do pão pré-assado, submetido ao assamento final, comparado ao volume do pão convencional apresentou uma redução de 16%. Leuschner, O'Callaghan e Arendt (1997) também constataram uma perda de volume do pão (10%) durante a estocagem e o reassamento, mas ela não foi dependente do tempo de reassamento. Porém, a perda de peso aumentou de forma linear com o tempo de reassamento e foi levemente mais alto para a temperatura de 200 °C do que para 180 °C.

Uma perda de umidade ocorre durante o reassamento. Leuschner, O'Callaghan e Arendt (1997), ao trabalharem com pães de forma feitos com massas de 850 g, observaram que ela ocorreu somente dentro da área da crosta (até 10 mm abaixo da mesma), enquanto o resto do pão não foi afetado. O conteúdo de umidade na crosta diminuiu de 40 para 20% enquanto a umidade no miolo permaneceu a um valor constante (45%). Estes autores também verificaram que a cor do miolo não foi afetada pela segunda fase de reassamento.

Karaoglu e Kotancilar (2006) concluíram que com relação à maciez do miolo, um longo tempo de reassamento é recomendado para pão de forma branco assado em duas etapas (reassamento após pré-assamento e estocagem). Porém, com relação ao volume específico, um curto tempo de reassamento é recomendado.

3. Enzimas em Panificação

Vários aditivos são utilizados para melhorar as propriedades da massa e a qualidade do pão na indústria de panificação (BENEJAM; STEFFOLANI; LEÓN, 2009). Nos últimos anos, os consumidores vêm preferindo produtos com rótulos “limpos” que contenham pequenas quantidades de aditivos químicos (GÜL; ÖZER, DIZLEK, 2009). A indústria de panificação em todo o mundo se defronta com o desafio de encontrar substituição destes aditivos “químicos” por aditivos mais “naturais”. As enzimas parecem ser candidatas promissoras para a solução desse problema (WIESER, 2003). Comparadas aos emulsificantes e agentes químicos, os quais são detectáveis no pão, enzimas são desnaturadas durante o forneamento e tornam-se indetectáveis no produto final (MOAYEDALLAIE; MIRZAEI; PATERSON, 2010). Elas são percebidas como componentes naturais e não tóxicos dos alimentos (GÜL; ÖZER, DIZLEK, 2009).

Enzimas são proteínas altamente especializadas com extraordinário poder e atividade catalítica, e como outras substâncias catalíticas, elas facilitam ou aceleram a reação química, mas não são alteradas ou quimicamente envolvidas nessa reação. Também conhecidas como catalisadores biológicos, as enzimas são altamente específicas quanto ao substrato, acelerando reações químicas sem a formação de subprodutos (HOCHFELD, 2006). Elas podem ser preparadas a partir de fontes naturais existentes, tais como plantas e microorganismos, ou elas são o produto da fermentação de organismos geneticamente modificados (WIESER, 2003).

Todas as enzimas são proteínas. Elas, portanto, consistem em uma ou mais cadeias polipeptídicas e exibem propriedades que são típicas de proteínas. A influência de substâncias químicas e muitos parâmetros físicos (tais como a concentração de sal, temperatura e pH) sobre a taxa de catálise enzimática pode ser explicada pela sua influência na estrutura da proteína (JENKINS, 2003). Embora as enzimas sejam proteínas que contêm várias centenas de aminoácidos, apenas alguns resíduos estão envolvidos diretamente na ligação com o substrato e a catálise da reação. A natureza da reação que é catalizada por uma dada enzima é dependente da identidade dos aminoácidos que constituem o sítio ativo (KILARA; DESAI, 2002).

As enzimas têm sido utilizadas para processamento de alimentos desde quando o homem processa alimentos. Entretanto, o uso deliberado de enzimas é relativamente novo (HJORT, 2007). Por muito tempo o uso de enzimas exógenas limitou-se a adição de amilase de produtos de malte para a adaptação das propriedades da farinha. Hoje, uma

grande variedade de enzimas produzidas especialmente para a panificação é oferecida (WIESER, 2003). Durante as últimas décadas, a aplicação de enzimas tem revolucionado a tecnologia de panificação (MOONEN, 1999).

Em adição às tradicionais enzimas que hidrolizam o amido – enzimas amilolíticas/dextrizantes, sacarificantes e desramificadoras – a incorporação às massas de pão de enzimas que degradam os polissacarídeos não amiláceos e enzimas que modificam o glúten e lipídeos têm mostrado ser efetivas (COLLAR *et al.*, 2000). Elas são normalmente adicionadas à farinha durante a etapa de mistura do processo de panificação (PENELLA; COLLAR; HAROS, 2008). É provável que o efeito de melhoramento de muitos materiais enzima-ativos contribui para a qualidade do pão, a qual está relacionada à sua capacidade de mudança de reologia da massa e, portanto, influencia a modelagem e as operações de processamento (CAUVAIN, 2001).

Porém, embora as enzimas sejam definidas como coadjuvantes de processo, elas não melhoram somente o processamento. Em particular, xilanases, lipases e amilases podem aumentar o rendimento do volume, a estrutura do miolo e a aparência dos produtos assados. Quando combinadas com amilases específicas, elas podem prolongar a vida de prateleira dos pães, reduzindo os custos de retorno de pães. O rendimento da farinha pode ser melhorado porque as enzimas são capazes de compensar alguma perda de volume causada pelo aumento da quantidade da camada de aleurona na farinha. Outras enzimas clareiam a cor do miolo, aumentam a aceitabilidade de pães feitos de farinha escura. Certas oxidases e pentosanases melhoram a absorção de água e então o rendimento de pães. A qualidade do trigo pode ser elevada por enzimas, reduzindo custo de matérias primas e flutuações da qualidade da farinha (POPPER; KUTSCHINSKI, 2007).

No futuro, o projeto de novas enzimas eficientemente produzidas por fermentação microbológica pode permitir operações ideais durante o processo de panificação. No entanto, devido o mecanismo da ação de enzimas, sozinha ou em suas combinações, ser muito pouco compreendido, uma abordagem integrada que combine a análise química, os experimentos reológicos e ensaios de panificação fazem-se necessários para dar respostas às perguntas mais complicadas (WIESER, 2003).

3.1. Glicolipase

3.1.1. Lipídeos do trigo

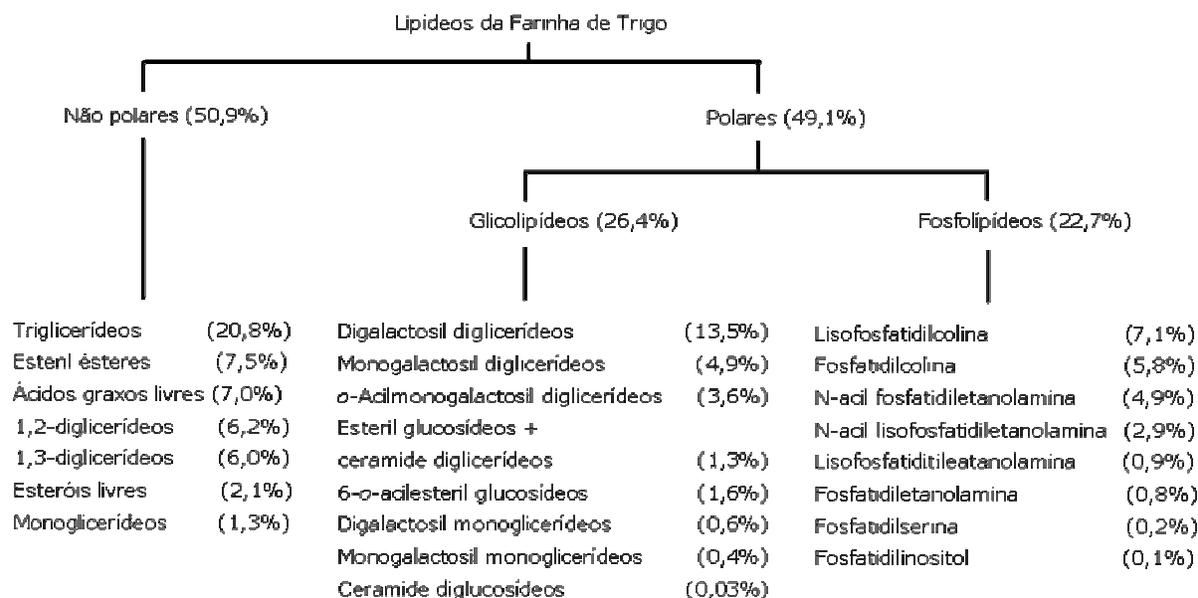
Os lipídeos no trigo são qualitativamente os mesmos em outros cereais, mas eles são únicos na maneira como eles afetam as propriedades tecnológicas, mais notavelmente a qualidade da farinha de trigo para panificação e também para outros fins. A funcionalidade dos lipídeos vem sendo demonstrada por adicioná-los às massas de pão ou por extrair e fracioná-los da farinha e então fazer pães utilizando farinha reconstituída com várias quantidades de uma fração lipídica particular. Estes experimentos demonstraram que lipídeos provavelmente classificam-se depois das prolaminas formadoras do glúten (gliadinas e gluteninas) como fator importante que afetam a qualidade de panificação, e de fato, lipídeos parecem exercer a maioria dos seus efeitos através de interações com as proteínas da massa (MORRISON, 1989). No trigo, os lipídeos compõem 1-2% do endosperma, 8-15% do germe e em torno de 6% do farelo, o que dá uma média de 2-4% no grão (POMERANZ, 1988). Veja Tabela 2.

A composição lipídica da farinha de trigo é mostrada esquematicamente na Figura 3. Os componentes não polares e polares dos lipídeos apresentam-se em quantidades praticamente iguais (POMERANZ, 1987). Os lipídeos não polares ou neutros consistem de triglicerídeos, com menor quantidade de esteril ésteres, diglicerídeos, monoglicerídeos e menores glicolipídeos acetilados. Ácidos graxos livres também fazem parte dos lipídeos não polares. Os lipídeos polares são compostos por glicolipídeos (GL) e fosfolipídeos (PL). Os principais glicolipídeos são o mono e digalactosil diglicerídeos (MGDG, DGDG) com menores quantidades do correspondente lipídeo monoacil (DGMG, MGMG). Os principais fosfolipídeos incluem fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina e fosfatidilglicerol (PC, PE, PG) e dois não usuais N-acil derivados da fosfatidiletanolamina (NAPE, NALPE). Existe também quantidade substancial de monoacil ou lisofosfolipídeos (LPC + LPE + LPG) (MORRISON, 1989).

Tabela 2: Distribuição dos lipídeos nas frações do grão de trigo

Fração	Peso (mg)	Lipídeos na fração (%)	Lipídeo total na fração (%)		
			Não polares	Glicolipídeos	Fosfolipídeos
Germe	0,9-1,1	7,0-30,5	79-85	0-3,5	14-17
Aleurona	1,5-3,6	7,0-10,6	72-83	2-10	14-18
Pericarpo	2,5-3,2	1,3	86	7	7
Amido	17,9-28,6	8,0-1,2	4-6	1-7	89-94
Endosperma não amiláceo	24,3-35,3	9,0-1,1	33-47	20-38	22-35
Grão Inteiro	30,3-42,4	8,0-3,2	44-57	8-14	35-42

Fonte: Morrison (1989)

**Figura 3:** Descrição esquemática dos principais lipídeos da farinha de trigo

Fonte: Pomeranz (1988)

Diferenças em solubilidade provêm uma maneira útil e conveniente de separar os lipídeos da farinha de trigo em duas categorias: livres e ligados (POMERANZ, 1987). Geralmente, lipídeos livres (FL) são removidos com solventes hidrocarbonetos (por exemplo, n-hexano ou éter de petróleo) e lipídeos ligados (BL) são extraídos com solventes polares orgânicos mais água (por exemplo, n-butanol água saturado) depois da remoção dos lipídeos livres (LU, GUO, ZHANG, 2009). Entre os lipídeos livres polares, em torno de dois terços são glicolipídeos, contendo DGDG como maior componente, e um terço são fosfolipídeos, com fosfatidilcolina como maior componente (POMERANZ, 1987). Finnie *et al.* (2009) mostrou que a farinha do trigo integral, a farinha do trigo refinado e a superfície do amido de trigo continham maiores concentrações de galactolipídeos totais, enquanto que maiores concentrações de monoacilfosfolipídeos foram encontradas nos lipídeos internos do amido do trigo.

Na literatura o efeito de lipídeos específicos no pão é explicado por diferentes teorias; todas elas concordam que a funcionalidade dos lipídeos polares é favorável comparada a da porção não polar (POVLSSEN; SOE; KAPPELMAN, 2005).

Os lipídeos produzem um significativo efeito anti-envelhecimento (SCHIRALDI; FESSAS, 2001). Vários estudos indicam que há formação de complexo entre amido e lipídeos monoacil, como por exemplo, emulsificantes (ELIASSON, 2003). Ácidos graxos, monoglicerídeos e diglicerídeos podem ser incluídos dentro da cavidade central da amilose, e em menor extensão, nas hélices simples de amilopectina. Emulsificantes são presos pelo glúten durante a mistura da massa, e então liberados para o gel de amido durante o forneamento. Os emulsificantes permaneceriam principalmente nas regiões entre os grânulos onde eles poderiam formar complexos com a amilose e/ou amilopectina lixiviadas. Isto pode inibir a amilose e a amilopectina de formar pontes entre os grânulos de amido inchados e em última análise impedir a retrogradação (SCHIRALDI; FESSAS, 2001).

Os lipídeos exercem um papel significativo com relação à estabilidade da massa bem como no volume específico do pão obtido pela farinha (POVLSSEN, 2008). Interações proteína-lipídeo na massa têm um importante impacto na qualidade dos produtos panificáveis. A distribuição da classe de lipídeos na massa demonstra que lipídeos não polares estão associados com a rede polimérica da glutenina através de interações hidrofóbicas ou presos dentro da matriz do glúten. No glúten, os glicolipídeos estão provavelmente associados a gluteninas através de interações hidrofóbicas e pontes de

hidrogênio, enquanto que os fosfolípidos preferencialmente interagem com as gliadinas e lípidos ligados às proteínas (MCCANN *et al.*, 2009).

Os glicolípidos são compostos que contêm uma ou mais moléculas de monossacarídeos ligados por uma ligação glicosídica a porção hidrofóbica. Esta definição da IUPAC implica em uma vasta variedade de estruturas que podem ser denominados glicolípidos. Há diferentes classes de glicolípidos existem com várias estruturas moleculares possíveis, tais como acilgliceróis, esfingóides, ceramidas (N-acilesfingóides), ou esteróis. Estas principais classes de glicolípidos estão em um modo homogêneo e mostram distintas variações na sua estrutura, por exemplo, tipo e número de moléculas de carboidratos ou diferentes resíduos de ácidos graxos. Devido ao comportamento anfifílico, este grupo de lípidos é um tensoativo e tem importância biológica e tecnológica. Na planta intacta, glicolípidos e fosfolípidos formam bicamadas de todas as membranas lipídicas; em alimentos, eles podem atuar como surfactantes (SELMAIR; KOEHLER, 2009).

3.1.2. Lipases

Lipases são enzimas bem conhecidas, as quais, por muitos anos, têm sido estudadas para acessar seus potenciais benefícios em panificação. Somente, recentemente, elas estão encontrando lugar na produção comercial de pães. A razão para não usá-las anteriormente foi parcialmente devido ao fato de assumirem que lipases endógenas possuíam um efeito detrimental na qualidade da farinha de trigo e serem responsáveis pelo desenvolvimento de “off-flavor” durante a estocagem do trigo. Outra explicação é que as lipases produzidas pela fermentação clássica também possuem outras atividades lipolíticas o que poderia ter um efeito adverso em panificação (SOE; JENSEN, 1997). Dependendo da natureza do substrato graxo e da especificidade da enzima lipolítica (por exemplo, posição, comprimento da cadeia, especificidade polar/não polar), variações nos produtos da atividade lipolítica podem resultar em diferentes efeitos em panificação (SPENDLER *et al.*, 2000).

Lipases (EC 3.1.1.3) podem ser definidas como carboxilesterases as quais catalizam a hidrólise de acilgliceróis de cadeia longa resultando em glicerol e ácidos graxos livres (SOE; BARFOD; POULSEN, 2000). A maioria das enzimas lipolíticas remove os dois ácidos graxos externos, deixando o ácido graxo central anexado à molécula de glicerol. Então, o resultado da hidrólise enzimática de um triacilglicerol por uma lipase são

dois ácidos graxos livres e um monoglicerídeo (MATHEWSON, 1998). As lipases 1,3 - específicas são as chamadas lipases de primeira geração. Foram utilizadas em aplicações em panificação por modificar os triglicerídeos da farinha (POVLSEN, 2008).

Em estudos de Soe e Jensen (1997) a lipase 1,3 - específica (GRINDAMYL™ EXEL 16) contribuiu para melhorar a estabilidade da massa devido ao fortalecimento do glúten causado pela interação entre a proteína do glúten e os lipídeos polares produzidos pela lipase. O aumento da estabilidade foi confirmado em testes de panificação. A adição de lipase também melhorou a estrutura de miolo, a qual ficou mais fina e homogênea. Na avaliação organoléptica foi encontrado que os pães feitos com lipase melhoraram o frescor significativamente.

Recentemente o desenvolvimento de lipases que modificam galactolipídeos e fosfolipídeos foi colocado em foco (POVLSEN; SOE; KAPPELMAN, 2005). A modificação dos principais lipídeos polares pelo uso de enzimas torna possível criar *in-situ* lipídeos mais polares tensoativos na massa do pão (POVLSEN, 2008). Desta forma, lipases com atividade em lipídeos polares são capazes de substituir emulsificantes como DATEM e SSL em uma ampla faixa de processos de panificação (CHRISTIANSEN *et al.*, 2002). Uma melhor estabilidade da massa e volume específico são obtidos devido ao aumento da polaridade e da atividade da superfície dos lipídeos (POVLSEN, 2008). Estas são as lipases de segunda geração. Estudos mostraram que o uso de lipase com atividade galactolipase é capaz de modificar a interação entre lipídeo e glúten resultando em uma rede de glúten mais forte e mais elástica melhorando a estrutura do miolo e volume. Combinações de emulsificantes e galactolipases têm mostrado efeitos sinérgicos em panificação (POVLSEN; SOE; KAPPELMAN, 2005).

De acordo com Erlandsen *et al.* (2003), existe uma grande diferença entre o efeito de lipases 1,3 –específicas e lipases com atividade em lipídeos polares sobre seu impacto na qualidade de produtos assados. As últimas provêm melhor estabilidade da massa, volume e estrutura do miolo. Esta diferença é também claramente refletida no perfil de lipídeos obtidos por análise de HPLC da massa. Lipídeos polares monoacil gerados através da ação da lipase nos lipídeos polares diacil tem um alto impacto na estabilidade da massa. Em contraste, a adição de lipases com excessiva atividade hidrolítica em lipídeos polares monoacil tem um impacto negativo na qualidade final de produtos assados (ERLANDSEN *et al.*, 2003).

O desenvolvimento dessas novas lipases para a indústria de panificação, durante a última década, tem colocado mais atenção no entendimento dos mecanismos por trás dos efeitos das lipases na massa (SOE; THORSEN; FISCHER, 2005). Devido à introdução das enzimas lipolíticas, como melhorador de pão, ser relativamente recente, existem poucas investigações desta categoria de enzimas em panificação. A nova geração de lipases que entrou no mercado recentemente requer mais investigação da sua aplicação em panificação e seus efeitos em várias características do pão (MOAYEDALLAIE; MIRZAEI; PATERSON, 2010).

3.2. Hemicelulase (xilanase)

3.2.1. Arabinoxilanas

A farinha de trigo contém outros polissarídeos além do amido (ATWELL, 2001). A farinha branca tem normalmente celulose (menos que 1%) e outros polissarídeos não amiláceos (até cerca de 3%). O farelo contém muito mais materiais não amiláceos, tipicamente 9% de celulose e 30% de outros polissacarídeos não amiláceos. Portanto, a farinha do trigo integral contém mais estes polissacarídeos que a farinha branca (CORNELL, 2003).

Arabinoxilanas (AX) são os principais polissacarídeos não amiláceos da parede celular no grão do trigo. Elas compõem 2-3% da farinha branca e acima de 5% da farinha do trigo integral (COLLINS *et al.*, 2006). Elas consistem de uma cadeia linear de unidades de D-xilopiranosil ligadas por ligações β -(1 \rightarrow 4), a qual pode ser monosubstituída no O-3 ou disubstituída no O-3 e O-2 com unidades de α -L-arabinofuranosil (ANDERSSON; WESTERLUND; AMAN, 1994). Em algumas unidades de arabinofuranosil ácido ferúlico pode estar esterificado via O-5 (SMITH; HARTLEY, 1983).

As AX podem ser divididas em extraíveis em água (WE-AX) e não extraíveis em água (WU-AX) (COURTIN; DELCOUR, 2001). A solubilidade das pentosanas é atribuída ao peso molecular e ao número de ramificações de arabinose. A cadeia de xilose é muito insolúvel, mas torna-se mais solúvel quando a arabinose está ligada. A molécula torna-se mais insolúvel quando a cadeia aumenta (ATWELL, 2001). Na farinha de trigo branca, do total da AX, 20-30% são WE-AX e 70-80% são WU-AX (ROUAU; EI-HAYEK; MOREAU, 1994). O farelo de trigo possui conteúdo maior de AX totais do que a farinha, mas o

conteúdo de WE-AX não difere tão drasticamente. Isto indica que as camadas externas do grão do trigo possuem maior conteúdo de WU-AX (DORNEZ *et al.*, 2006).

As AX retêm muitas vezes o seu peso em água. As WU-AX são capazes de segurar 10 vezes o seu peso e as WE-AX podem segurar 4 a 5 vezes seu peso. Pondo isso sob perspectiva, o amido compõe 80-85% da farinha seca e segura 40-45% da água na massa, enquanto que as AX compõem somente 2-3% da farinha seca e rendem 25% da absorção de água da massa (DANISCO, 2002; FORMAN, 2004).

É reconhecido que as AX exercem um papel importante na formação da rede do glúten e da massa. WU-AX têm sido reportadas por apresentarem efeito negativo em panificação enquanto que as WE-AX de médio a alto peso molecular são mostradas ter efeitos benéficos (COURTIN; GELDERS; DELCOUR, 2001; ROUAU; EI-HAYEK; MOREAU, 1994).

WU-AX podem causar a interrupção física do glúten, ou seja, podem atrapalhar a formação da rede. Durante a fermentação, elas podem formar intrusões nas paredes que envolvem as células de gás (AUTIO, 2006). De acordo com Wang *et al.* (2003a), WU-AX interferem na formação do glúten de forma direta e indireta. WU-AX interferem indiretamente por competirem por água e, desta forma, alterarem as condições de desenvolvimento do glúten. Este efeito nas condições do desenvolvimento da massa pode ser correlacionado pela combinação da adição de mais água e maiores tempos de mistura. Além disso, WU-AX tem um efeito direto no processo de formação e propriedades do glúten. O efeito ocorre através de uma interação entre as partículas de WU-AX e do glúten. Adição de WU-AX causa uma baixa taxa de agregação das gluteninas à massa do glúten. Como resultado, as propriedades do glúten são afetadas. O glúten resultante tem uma menor extensibilidade, um conteúdo menor de glutenina. A agregação da partícula de glutenina é refletida tanto pelo baixo rendimento do glúten e da glutenina como pela mudança na estrutura (WANG *et al.*, 2003a).

WE-AX possuem uma forte influência na viscosidade do meio aquoso (COLLINS *et al.*, 2006). Sob oxidação, as WE-AX formam um gel que tende a estabilizar a “espuma” do glúten e, sob aquecimento, estabiliza as células de gás (FORMAN, 2004).

Autio (2006) sugere que a massa é composta por duas redes interpenetrantes, glúten e AX, ou por duas redes separadas na qual as partículas do gel de AX estão dispersas na rede de glúten.

3.2.2. Hemicelulase (xilanase)

Para alterar a funcionalidade das AX em panificação, enzimas de origem microbiológica são freqüentemente usadas para alterar a extratibilidade em água e/ou o peso molecular das arabinoxilanas (DORNEZ *et al.*, 2007). Devido à complexidade da estrutura (Figura 4), a completa degradação das AX requer certo número de atividades enzimáticas incluindo endo- β -(1,4)-xilanase (E.C. 3.2.1.8, referida como xilanase), β -xilosidase (E.C. 3.2.1.37), α -arabinofuranosidase (E.C. 3.2.1.55), ácido ferúlico esterase (E.C. 3.1.1.73), acetilxilana esterase (EC 3.1.1.72) e α -glicoronidase (EC 3.2.1.139), as quais removem os resíduos das ramificações em heteroxilanas (BONNIN *et al.*, 2006; ROMANOWSKA; POLAK; BIELECKI, 2006).

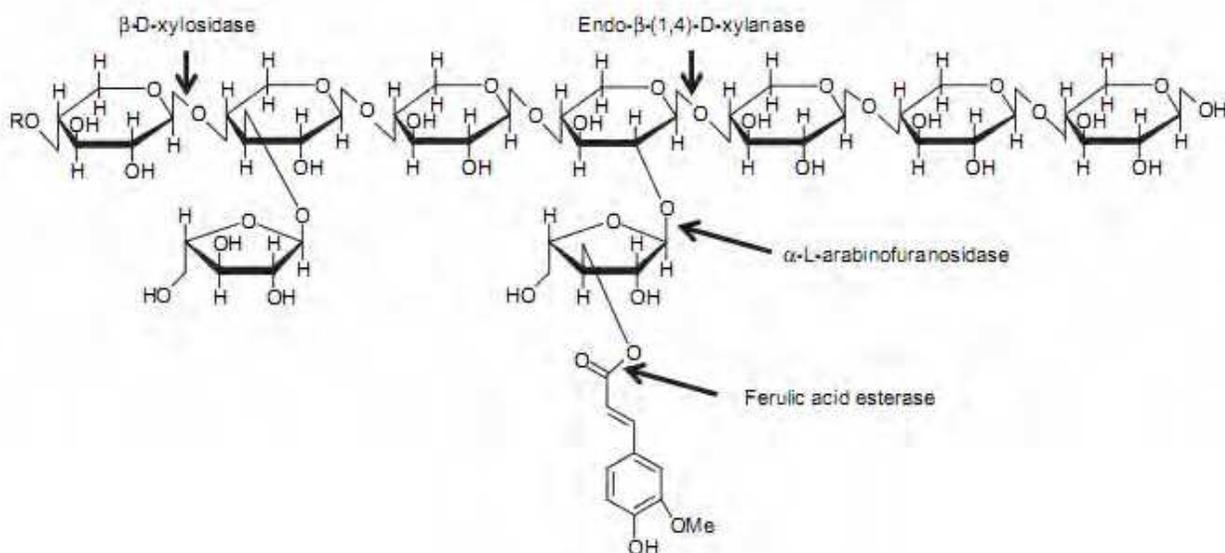


Figura 4: Estrutura da AX e dos sítios de ataque pelas enzimas xilanolíticas
Fonte: Dornez *et al.* (2009)

Xilanase atua clivando a cadeia das AX, modificando desta forma a funcionalidade dessas (PRIMO-MARTIN *et al.*, 2005). Endo- β -(1,4)-xilanase hidrolisa ligações 1,4 entre os resíduos β -D-xilopiranosil, realizando uma redução do grau de polimerização do substrato. Inicialmente, os principais produtos da hidrólise são β -D-xilopiranosil oligômeros, mas em estágio mais avançado, pequenas moléculas tais como mono, di e trissacarídeos de β -D-xilopiranosil podem ser produzidos (BUTT *et al.*, 2008; POLIZELI *et al.*, 2005).

O efeito das xilanases exógenas usadas como coadjuvantes de processo em produtos a base de cereais depende da origem da xilanase (modo de ação) e é influenciada pelas variações da estrutura primária das AX, isto é, o grau de substituição e a disponibilidade de AX como WE-AX e WU-AX (BONNIN *et al.*, 2006). Endo- β -(1,4)-xilanase degradam as WE-AX a baixo peso molecular reduzindo, desta forma, a propriedade de indução de viscosidade e comprometendo parcialmente a capacidade de geleificação. Elas, além disso, hidrolisam WU-AX, resultando em perda da capacidade de retenção de água e em aumento da viscosidade do meio aquoso devido à arabinoxilana solubilizada (COURTIN; DELCOUR, 2001).

De acordo com a classificação glicosídeo hidrolase (GH), as xilanases podem pertencer às famílias 10 ou 11 (BONNIN *et al.*, 2006). Endoxilanases de *Bacillus subtilis* (GH 11) preferencialmente clivam a cadeia nas regiões sem ramificações da arabinoxilana, enquanto que as endoxilanases de *Aspergillus niger* (GH 10) podem também atuar nas regiões ramificadas, produzindo unidades menores do que as produzidas pela xilanase do *Bacillus subtilis* (COURTIN; DELCOUR, 2001). De acordo com Courtin, Gelders e Delcour (2001), as WU-AX solubilizadas pela xilanase de *Bacillus subtilis* são liberadas principalmente durante a etapa de mistura e possuem maior peso molecular, enquanto que as WE-AX solubilizadas pela xilanase de *Aspergillus aculeatus* são liberadas principalmente durante a fermentação e têm menor peso molecular.

A adição de uma endoxilanase (de *Aspergillus niger*, por exemplo) provoca uma modificação dosagem-dependente das propriedades de manipulação da massa do pão devido sua ação nas WE-AX e WU-AX da farinha de trigo. Em baixas dosagens, as endoxilanases melhoram grandemente as propriedades de manipulação da massa (menos pegajosidade, melhoria de consistência) e melhora levemente o volume do pão. Isto corresponde à moderada solubilização das AX de alto peso molecular e pouca degradação das WE-AX, resultando no aumento da WE-AX de alto peso molecular e no aumento da viscosidade do extrato aquoso da massa. Para altas doses de endoxilanases, o volume do pão ainda aumenta, mas a qualidade da massa começa a piorar. Isto ocorre para uma alta taxa de solubilização das AX rendendo mais alta viscosidade do extrato aquoso da massa, mas menores pesos moleculares das WE-AX. Quando a dose de endoxilanase é novamente aumentada, a massa torna-se não manipulável e o pão colapsa; isto corresponde a uma redução da viscosidade do extrato aquoso da massa devido à pronunciada despolimerização das arabinoxilanas. A viscosidade reduz porque

pequenos oligômeros, xilobiose e xilose, são liberados. A partir destas observações parece que o peso molecular das WE-AX é um fator chave no impacto das endoxilanasas em panificação (ROUAU *et al.*, 2006).

A adição de xilanase pode remover ou prevenir o efeito negativo da WU-AX no rendimento do glúten (WANG *et al.*, 2003b). A xilanase reduz a quantidade ótima de água necessária para o máximo rendimento do glúten. O rendimento do glúten é significativamente maior na presença de xilanase. O conteúdo de amido incluso no glúten aumenta quando a xilanase está presente. Isto é uma forte indicação do aumento da taxa de formação do glúten. Isto também é suportado pelo rendimento de glutenina que é aumentado. O gel de glutenina resultante também mostra uma estrutura diferente (WANG *et al.*, 2003a).

Exemplos de algumas preparações de xilanasas mais comumente usadas na indústria de panificação é mostrada na Tabela 3.

Tabela 3: Preparações de xilanase mais comumente usadas na indústria de panificação

Produtor da Enzima	Preparação de Xilanase	Organismo hospedeiro selvagem	Família Glicoside-hydrolase
AB Enzymes	Veron [®] 191	<i>Aspergillus niger</i>	11
Beldem-Puratos	Veron [®] Special	<i>Bacillus subtilis</i>	11
	Bel'ase B210	<i>Bacillus subtilis</i>	11
	Bel'ase F25	<i>Aspergillus niger</i>	11
Danisco	Grindamyl [™] H	<i>Aspergillus niger</i>	11
	Grindamyl [™] Powerbake	<i>Bacillus subtilis</i>	11
DSM	Bakenzyme [®] HS	<i>Aspergillus niger</i>	11
	Bakenzyme [®] BXP	<i>Bacillus subtilis</i>	11
Genecor Intl.	Multifect [®] xylanase	<i>Trichoderma reesei</i>	11
	Multifect [®] XL	<i>Trichoderma reesei</i>	11
Novozymes	Pentopan Mono	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	11

Fonte: Collins *et al.* (2006)

3.2.3. Interação xilanase e enzimas açúcar-oxidativas

A combinação de xilanase e glicose oxidase é vastamente utilizada em panificação para melhorar as propriedades de manipulação da massa, volume do pão e, estrutura e textura do miolo. Embora existam muitas teorias do mecanismo de ação de cada enzima, o efeito positivo da combinação das duas ainda não é completamente entendido (PRIMO-MARTIN *et al.*, 2005).

Soupe (1997) propôs que a ação sinérgica entre glicose oxidase e xilanase foi devido a um curto mecanismo seqüencial: durante os primeiros minutos de mistura, a glicose oxidase favorece as ligações proteína-AX. Então, a xilanase lentamente transforma as AX profundamente hidratadas carregadas pelo glúten em pequenos oligômeros, os quais melhoram a capacidade de retenção de gás da rede de glúten.

Tem sido demonstrado que algumas enzimas oxidativas, naturalmente presentes na farinha ou adicionadas à massa, irão oxidar as WE-AX via pontes de ácido felúrico, e o resultante gel de AX irá impedir a formação do glúten (AUTIO, 2006).

Forman (2004) propõe que a gelatinização da WE-AX pelo peróxido de hidrogênio gerado pelas enzimas açúcar oxidativas cria um gel elástico e que aumenta enormemente a capacidade de ligação de água da AX e, desta forma, permite o aumento da absorção e redução da pegajosidade da massa.

A Figura 5 mostra o modelo de interação entre glicose oxidase e xilanase proposto por Primo-Martin *et al.* (2005). A glicose oxidase afeta a formação de pontes dissulfídicas do glúten bem como a oxidação das AX. Na ausência de xilanase (rota 1) AX de alto peso molecular são inter cruzadas. Na presença de xilanase (rota 2) ocorre o inter cruzamento de pequenos fragmentos de AX ou o inter cruzamento entre pequenos fragmentos de AX e fragmentos de alto peso molecular, o que leva a polímeros maiores.

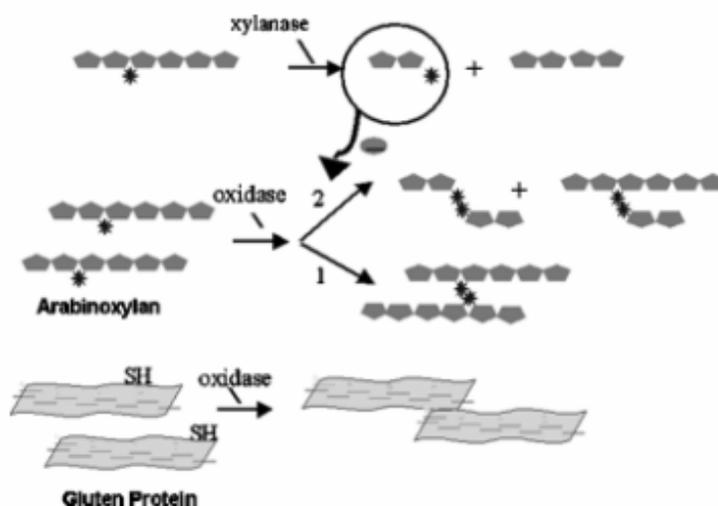


Figura 5: Hipótese do modelo do efeito combinado da glicose oxidase e xilanase proposto por Primo-Martin *et al.* (2005)

3.2.4. Inibidores de xilanase

A ocorrência de três tipos de inibidores de xilanase em cereais tem sido demonstrada, os quais são o inibidor de xilanase *Triticum aestivum* (TAXI), inibidor de xilanase protéico (XIP) e inibidor de xilanase tipo taumatina (TLXI) (DEBYSER *et al.*, 1999; MCLAUCHLAN *et al.*, 1999; FIERENS *et al.*, 2007). Os três tipos têm estruturas distintas e diferem em suas especificidades com relação às endo- β -1,4-xilanases (FIERENS *et al.*, 2008). TAXI e XIP apresentam inibição competitiva e TLXI inibição não competitiva (FIERENS *et al.*, 2007). TAXI e TLXI inibem xilanase GH 11 enquanto XIP inibe xilanases GH 10 e GH 11 (FIERENS *et al.*, 2007; GEBRUERS *et al.*, 2002).

Os três tipos de inibidores estão similarmente distribuídos através da cariopse do trigo. Além disso, TAXI, XIP e TLXI estão altamente concentradas na camada de aleurona, mostrando valores 4 vezes maior aos encontrados na farinha branca (CROES *et al.*, 2009). Com relação à função destes inibidores na planta, o papel de defesa tem sido sugerido para os inibidores de xilanase, embora o exato mecanismo ainda não seja entendido. Acredita-se que os inibidores têm função dupla, isto é, a inibição das xilanases produzidas por intrusos e o rompimento da parede celular dos invasores (fungos patogênicos, por exemplo) (FIERENS *et al.*, 2008).

3.2.5. Efeito da xilanase na qualidade da massa e dos pães

Xilanase tem sido utilizada na indústria de panificação para aumentar a estabilidade e flexibilidade da massa e por melhorar o volume e a estrutura do miolo (COLLINS *et al.*, 2006).

Em estudos de Selinheimo *et al.* (2006) a adição de xilanase diminuiu a elasticidade (R_{max}) e aumentou a extensibilidade da massa (E). Os autores sugeriram que o amaciamento foi uma consequência da distribuição da água das AX ao glúten e também pela remoção da barreira física à formação da rede de glúten criada pelas AX. Jianga, Le Bail e Wu (2008) também verificaram que a xilanase aumentou a significativamente a extensibilidade (L) e o inchamento (G) e diminuiu a resistência da massa à deformação (P). A xilanase deixa a massa mais macia e mais fácil de ser amassada (POLIZELI *et al.*, 2005).

Shah, Shah e Madamwar (2006) observaram um efeito positivo da adição de xilanase nos atributos da massa bem como dos pães elaborados com farinha do trigo integral. Notável redução da absorção de água (11%) e aumento no crescimento da massa (28,5%) foi notada. O conteúdo de umidade final do pão foi maior (40,5%) do que a do pão controle (32,3%). Benefícios no volume (53%) e no volume específico (56%) foram também significantes. A avaliação sensorial indicou melhor aroma, gosto, maciez e aceitabilidade geral. Através da análise de textura, observou-se que a firmeza foi reduzida por mais que quatro vezes. Melhora da coesividade e declínio da elasticidade e gomosidade foram observadas.

Em estudos de Romanowska, Polak e Bielecki (2006), a xilanase de baixo peso molecular de *Aspergillus niger* aumentou a porosidade do miolo, a umidade e o volume dos pães elaborados com farinha do trigo integral. A efetividade das xilanases em aumentar o volume do pão é atribuída ao resultado da redistribuição da água da fase das pentosanas para a fase do glúten. O aumento no volume da fração do glúten dá a ele maior extensibilidade, o que eventualmente resulta em melhor *ovenspring* (KATINA, 2003).

Jianga, Le Bail e Wu (2008) observaram que a xilanase de *Thermotoga maritima* MSB8 pode ser utilizada para melhorar a qualidade de pães pré-assados congelados. Eles verificaram que as amostras com xilanase renderam pães com maior volume e mais macios quando comparadas às amostras controle. Na presença de xilanase, a firmeza do miolo e a recristalização da amilopectina diminuiram ao longo do período de estocagem,

sugerindo um efeito anti-envelhecimento da xilanase em pães pré-assados congelados. Adição de xilanase reduziu os valores de ΔH indicando uma redução da água congelável. A presença da xilanase minimizou o efeito negativo da estocagem congelada.

A influência das pentosanas na taxa de envelhecimento não é clara. Também não é esclarecido se as enzimas que degradam os polissacarídeos não amiláceos tem qualquer efeito no envelhecimento do pão (GRAY; BEMILLER, 2003). A adição de xilanase resultou no aumento da taxa de envelhecimento do pão nos estudos de Fiszman *et al.* (2009) e Gámbaro *et al.* (2006). Giménez *et al.* (2007) verificaram através de testes sensoriais que o uso de xilanase não estendeu a vida útil de pães elaborados com farelo de trigo ou com farinha do trigo integral. No entanto, Butt *et al.* (2008) cita que quando as xilanases são utilizadas em níveis ótimos, elas exercem papel significativo no aumento da vida útil dos pães e reduzem o envelhecimento do pão.

3.3. Hexose oxidase

O uso de agentes oxidantes em panificação confere vantagens tecnológicas que são necessárias principalmente pela demanda da moderna indústria de panificação. As principais contribuições dos oxidantes são triplas: (i) aceleração da maturação da farinha, ou seja, altera as propriedades da farinha recém-moída para que esta tenha as características normalmente encontradas em farinha com 1 a 2 meses de estocagem; (ii) branqueamento da farinha, ou seja, remoção da cor amarelada transmitida ao miolo do pão pelos pigmentos carotenóides da farinha e (iii) reforço da matriz glúten-massa, ou seja, melhora das propriedades reológicas e da habilidade de retenção de gás da massa. Uma quarta contribuição dos oxidantes é no tratamento da farinha para bolos, onde a cloração da farinha muda as propriedades da mesma dando melhor resultados na produção de bolos com formulação de alta taxa de açúcar para farinha (STAUFFER, 1990; WIESER, 2003).

Os oxidantes, durante a mistura, aumentam a tolerância da massa, reduzem o tempo de batimento e diminuem a energia empregada para a mistura da massa. No processo, torna a massa menos pegajosa e mais seca. Durante o forneamento, um maior *ovenspring* é obtido. Com relação à qualidade do pão, ela é significativamente aumentada através de volumes maiores e melhor estrutura de miolo. Em alguns ambientes de processamento, estrutura fina dos alvéolos do miolo é obtida, o que leva os pães

apresentarem-se mais macios e com miolo de coloração mais clara (CAUVAIN, 2001; SLUIMER, 2005; WIESER, 2003).

Nos Estados Unidos vários oxidantes estão disponíveis para utilização do moleiro ou padeiro. Já no Reino Unido e na União Européia, desde 1990, após uma série de mudanças na legislação, o ácido ascórbico é o único oxidante permitido (CAUVAIN, 2001). Como nos Estados Unidos, uma lista de oxidantes disponíveis ainda existe no Brasil, mas que durante os últimos anos, têm tido suas dosagens permitidas reduzidas. Devido a esta tendência de redução de ambas, a quantidade adicionada e a listagem dos oxidantes permitidos pela legislação, novas alternativas fazem-se necessárias.

A hexose oxidase (HOX) é uma enzima recém produzida em escala comercial. O nome sistemático da hexose oxidase é d-hexose:oxigênio 1-oxido-redutase (CAS 9028-75-5; EC 1.1.3.5) (COOK; THYGESEN, 2003). A hexose oxidase catalisa a oxidação de mono e dissacarídeos de 6 carbonos às suas correspondentes lactonas, com concomitante redução do oxigênio a peróxido de hidrogênio. A hexose oxidase é capaz de oxidar uma variedade de substratos incluindo glicose, galactose, maltose, celobiose e lactose (HANSEN; STOUGAARD, 1997). Devido a ampla especificidade de substratos, hexose oxidase tem um grande potencial para aplicações: (i) remoção de açúcares, por exemplo; de alimentos; (ii) remoção de oxigênio molecular; (iii) produção de lactonas ou de ácidos aldobiônicos e (iv) produção de peróxido de hidrogênio (WOLFF *et al.*, 2001).

A vasta especificidade de substrato claramente distingue esta enzima da glicose oxidase (HANSEN; STOUGAARD, 1997). Glicose oxidase (EC 1.1.3.4) somente oxida glicose, o que limita sua aplicação naqueles produtos alimentícios onde a glicose está ausente ou presente em pouca quantidade (COOK; HYGESSEN, 2003). A farinha de trigo contém um grande número de carboidratos, sendo 1-2% mono, di- e trissacarídeos. Glicose e maltose estão naturalmente presentes na farinha e quantidades adicionais são liberadas pela ação da enzima amilase nos grânulos de amido danificado. Sacarose e frutose também podem ser adicionadas na formulação pelo padeiro. No entanto, os monossarídeos glicose e frutose, por consistirem de uma única molécula de açúcar, são prontamente utilizados pelas leveduras durante a fermentação. A sacarose é prontamente hidrolisada em glicose e frutose pelas enzimas da levedura, enquanto que a maltose não é consumida até que toda a glicose seja exaurida (MALONEY; FOY, 2003). Logo, a glicose oxidase ao ser adicionada à formulação, a partir de certo ponto do processamento

pode deixar de ter atuação devido a pouca quantidade de substrato disponível para sua atuação.

Outra questão sobre a atividade destas enzimas açúcar-oxidativas é a disponibilidade de oxigênio, uma vez que elas necessitam desta molécula para terem sua atividade oxidativa. A adição de glicose oxidase aumenta o consumo de oxigênio da massa (AMEILLE *et al.*, 2000). A composição do gás nos núcleos de gás da massa recém misturada no ar é comparável à composição do ar, a qual está em torno de 20% (v/v) de oxigênio e 80% de nitrogênio. O oxigênio, o qual está preso, é consumido pela respiração das leveduras. Em poucos minutos, todo o oxigênio é consumido, deixando o nitrogênio como único componente nos núcleos de gás. Logo, no início da fermentação, a massa torna-se anaeróbica (SLUIMER, 2005), o que poderia limitar a ação da glicose ou hexose-oxidase.

Cinco mecanismos dos efeitos das enzimas açúcar-oxidase são relatados na literatura. O mecanismo proposto de melhoramento da massa e do pão pela hexose oxidase é similar ao mecanismo proposto dos efeitos de melhoramento pela glicose oxidase, conforme mostrado na Figura 6.

O primeiro mecanismo proposto é que a hexose oxidase, devido à formação do peróxido de hidrogênio, provavelmente poderia gerar pontes dissulfídricas entre proteínas (JOYE; LAGRAIN; DELCOUR, 2009). Porém, Poulsen e Hostrup (1998) não observaram aumento do nível de pontes dissulfídricas pela glicose ou hexose-oxidase, mas observaram uma redução do conteúdo dos grupos tiol livres.

O segundo mecanismo está relacionado à formação de ditirosina. Hanft e Koehler (2005) verificaram que a adição de hexose-oxidase resultou em um aumento do conteúdo de ditirosina na massa. A ditirosina foi descoberta na farinha de trigo, massa e pão, onde foi sugerido ter um tipo de ligação intercruzada estabilizante à estrutura do glúten em adição às pontes dissulfídricas (TILLEY *et al.*, 2001).

O terceiro mecanismo proposto é o bloqueio do efeito da glutatona pelo peróxido de hidrogênio gerado. A glutatona é um agente redutor naturalmente encontrado nas leveduras. A glutatona pode reduzir ligações dissulfídricas no glúten, significando um enfraquecimento da massa. O peróxido de hidrogênio oxida a glutatona rendendo menos dano à rede de glúten (FORMAN, 2004).

Um quarto mecanismo de atuação da hexose oxidase, o qual não está relacionado ao glúten, é a geleificação das arabinoxilanas solúveis na farinha. O peróxido de hidrogênio gerado intercruciza moléculas de uma arabinoxilana a outra através de ligações entre os ácidos ferúlicos esterificados nestas moléculas. Isto cria um gel elástico e aumenta grandemente a habilidade de ligação de água da arabinoxilana, permitindo, desta forma, aumento de absorção e redução da pegajosidade da massa (FORMAN, 2004; JOYE; LAGRAN; DELCOUR, 2009).

O quinto mecanismo, o qual está relacionado com o quarto, é a alteração do balanço entre diferentes sistemas enzimáticos presentes na massa. A produção de peróxido de hidrogênio pela glicose ou hexose oxidase poderia ativar os sistemas de catalase e peroxidase. Peroxidase catalisa a geleificação oxidativa das pentosanas solúveis e causa uma limitação da mobilidade da água. O consumo de oxigênio pelas enzimas oxidativas poderia também reduzir a atividade de lipoxigenase (AMEILLE *et al.*, 2000; GARCIA; RAKOTOZAFY; NICOLAS, 2004).

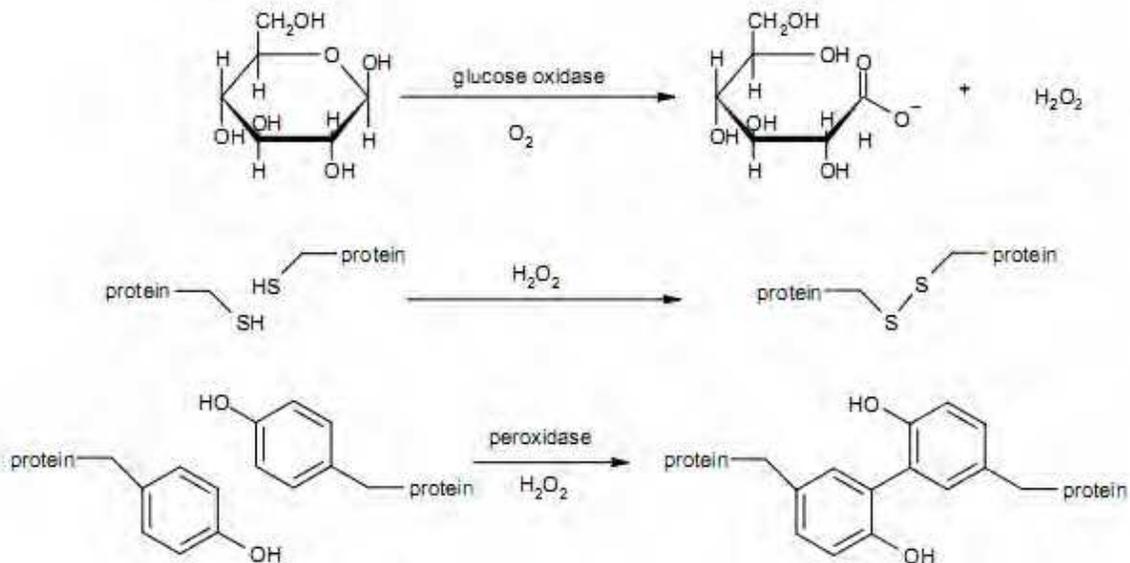


Figura 6: Dois mecanismos propostos da atividade das enzimas açúcar-oxidase: melhoramento em produtos de panificação via pontes dissulfídicas e ligação de grupos fenólicos

Fonte: Joye; Lagrain e Delcour (2009)

Poulsen e Hostrup (1998) comparam o efeito da hexose oxidase com o da glucose oxidase. Ambas as enzimas provocaram uma redução nos grupos tiol livres. Medidas extensográficas e testes de panificação confirmaram que a hexose oxidase aumentou a força da massa e o volume do pão mais eficientemente que a glicose oxidase na mesma dosagem. De acordo com a Danisco (2003), os benefícios da hexose oxidase em panificação são (i) o aumento da tolerância da massa às variações de processo; (ii) aumento da absorção de água; (iii) redução da pegajosidade da massa; (iv) substituição ou redução dos oxidantes químicos; (v) aumento das dimensões e melhoria do formato do pão e (vi) aumento do volume.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIP - Associação Brasileira da Indústria de Panificação **Perfil de mercado**. Disponível em: < <http://www.abip.org.br>>. Acesso em: 15 Dez 2001.
- ABIP; SEBRAE **Estudo de tendências: perspectivas para a panificação e confeitaria**. Disponível em: < <http://www.abip.org.br/img/encartesTecnicos/9.pdf>>. Acesso em: 09 mai. 2010.
- ALMEIDA, E. L. **Efeito da adição de fibra alimentar sobre a qualidade de pão pré-assado congelado**. 2006. 328p. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.
- AMEILLE, V.; CASTELLO, P.; GARCIA, R.; RAKOTOZAFY, L.; POTUS, J.; NICOLAS, J. Effects of glucose oxidase or lipase addition on dough consistency and oxygen consumption during mixing of unyeasted flour dough. **Sciences Des Aliments**, v. 20 , p. 441-455, 2000.
- ANDERSSON, R.; WESTERLUND, E.; AMAN, P. Natural variations in the contents of structural elements of water-extractable non-starch polysaccharides in white flour. **Journal of Cereal Science**, v. 19, p. 77-82, 1994.
- ATWELL, W. A. **Wheat flour: practical guide for the food industry**. St. Paul: American Association of Cereal Chemists, 2001. 134p.
- AUTIO, K. Effects of cell wall components on the functionality of wheat gluten. **Biotechnology Advances**, v. 24, p. 633–635, 2006.
- BAKING BUSINESS **Successful par-baking**. Disponível em: <http://www.bakingbusiness.com/refbook_results.asp?ArticleID=44449>. Acesso em: 14 jul. 2005.
- BÁRCENAS, M. E.; BENEDITO, C.; ROSELL, C. M. Use of hydrocolloids as bread improvers in interrupted baking process with frozen storage. **Food Hydrocolloids**, v. 18, p. 769-774, 2004.
- BÁRCENAS, M. E.; HAROS, M.; BENEDITO, C.; ROSELL, C. M. Effect of freezing and frozen storage on the staling of part-baked bread. **Food Research International**, v. 36, p. 863-869, 2003.
- BÁRCENAS, M. E.; HAROS, M.; ROSELL, C. M. An approach to studying the effect of different bread improvers on the staling of pre-baked frozen bread. **European Food Research Technology**, v. 218, p. 56–61, 2003.
- BÁRCENAS, M. E.; ROSELL, C. M. Different approaches for improving the quality and extending the shelf life of the partially baked bread: low temperatures and HPMC addition. **Journal of Food Engineering**, v. 72, p. 92–99, 2006a.

BÁRCENAS, M. E.; ROSELL, C. M. Effect of frozen storage time on the bread crumb and aging of par-baked bread. **Food Chemistry**, v. 95, p. 438–445, 2006b.

BÁRCENAS, M. E.; ROSELL, C. M. Different approaches for increasing the shelf life of partially baked bread: Low temperatures and hydrocolloid addition. **Food Chemistry**, v. 100, p. 1594–1601, 2007.

BENEJAM, W.; STEFFOLANI, M. E.; LEÓN, A. E. Use of enzyme to improve the technological quality of a panettone like baked product. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44, p. 2431–2437, 2009.

BONNIN, E.; DAVIET, S.; SORENSEN, J. F.; SIBBESEN, O.; GOLDSON, A.; JUGE, N.; SAULNIER, L. Behaviour of family 10 and 11 xylanases towards arabinoxylans with varying structure. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, p. 1618–1622, 2006.

BUTT, M. S.; TAHIR-NADEEM, M.; AHMAD, Z.; SULTAN, M. T. Xylanases and their applications in baking industry. **Food Technology and Biotechnology**, v. 46, p. 22-31, 2008.

CARR, L. G.; RODAS, M. A. B.; TORRE, J. C. M. D.; TADINI, C. C. Physical, textural and sensory characteristics of 7-day frozen part-baked French bread. **LWT – Food Science and Technology**, v. 39, p. 540–547, 2006.

CARR, L. G.; TADINI, C. C. Influence of yeast and vegetable shortening on physical and textural parameters of frozen part baked French bread. **LWT – Food Science and Technology**, v. 36, p. 609-614, 2003.

CAUVAIN, S. P. Improving the control of staling in frozen bakery products. **Trends in Food Science and Technology**, v. 9, p. 56-61, 1998.

CAUVAIN, S. P. Breadmaking. In: OWENS, G. (Ed.). **Cereals processing technology**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited; Boca Raton: CRC Press LLC, 2001. Cap. 10, paginação irregular.

CAUVAIN, S. P. (Ed.). **Bread making: improving quality**. Boca Raton: CRC Press LLC; Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2003. Paginação irregular.

CAUVAIN, S. P. Improving quality. In: KILCAST, D. (Ed.). **Texture in food: solid foods**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited; Boca Raton: CRC Press LLC, 2004. v. 2, cap. 18, paginação irregular.

CAUVAIN, S. P.; YOUNG, L. S. The contribution of water during processing, baking, cooling and freezing. In: **Bakery food manufacture and quality: water control and effects**. Gloucester: Blackwell Science Ltd., 2000. p. 86-87.

CHRISTIANSEN, L.; HANSEN, H. P. H.; SPENDLER, T.; VIND, J. **Correlating lipase specificity to functionality in baking**. Trabalho apresentado ao AACC Annual Meeting, Montreal, 2002.

- COLLAR, C.; MARTÍNEZ, J. C.; ANDREU, P.; ARMERO, E. Effects of enzyme associations on bread dough performance. A response surface analysis. **Food Science and Technology International**, v. 6, p. 217-226, 2000.
- COLLINS, T.; HOYOUX, A.; DUTRON, A.; GEORIS, J.; GENOT, B.; DAUVRIN, T.; ARNAUT, F.; GERDAY, C.; FELLER, G. Use of glycoside hydrolase family 8 xylanases in baking. **Journal of Cereal Science**, v. 43, p. 79–84, 2006.
- COOK, M. W.; THYGESEN, H. V. Safety evaluation of a hexose oxidase expressed in *Hansenula polymorpha*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, p. 523–529, 2003.
- CORNELL, H. The chemistry and biochemistry of wheat. In: CAUVAIN, S. P. (Ed.). **Bread making: Improving quality**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited; Boca Raton: CRC Press LLC, 2003. Paginação irregular.
- COURTIN, C. M.; DELCOUR, J. A. Relative activity of endoxylanases towards water-extractable and water-unextractable arabinoxylan. **Journal of Cereal Science**, v. 33, p. 301-312, 2001.
- COURTIN, C. M., GELDERS, G. G., DELCOUR, J. A. Use of two endoxylanases with different substrate selectivity for understanding arabinoxylan functionality in wheat flour breadmaking. **Cereal Chemistry**, v. 78, p. 564–571, 2001.
- CROES, E.; GEBRUERS, K.; LUYTEN, N.; DELCOUR, J. A.; COURTIN, C. M. Immunoblot quantification of three classes of proteinaceous xylanase inhibitors in different wheat (*Triticum aestivum*) cultivars and milling fractions systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 1029–1035, 2009.
- CURIC, D.; NOVOTNI, D.; SKEVIN, D.; ROSELL, C. M.; COLLAR, C.; LE BAIL, A.; COLIC-BARIC, I.; GABRIC, D. Design of a quality index for the objective evaluation of bread quality: Application to wheat breads using selected bake off technology for bread making. **Food Research International**, v. 41, p. 714–719, 2008.
- DANISCO Grindamyl™ Surebake bakery enzymes – baking with confidence. **Technical Memorandum**, TM 1035-2e, p. 1-5, 2003.
- DANISCO Strengthening dough and improve the volume of yeast-raised bread **Technical Memorandum**, TM 1020-3e, p. 1-12, 2002.
- DEBYSER, W.; PEUMANS, W. J.; VANDAMME, E. J. M.; DELCOUR, J. A. *Triticum aestivum* xylanase inhibitor (TAXI), a new class of enzyme inhibitor affecting breadmaking performance. **Journal of Cereal Science**, v. 30, p. 39–43, 1999.
- DEVRIES, J. W.; FAUBION, J. M. Defining dietary fiber: a report on the AACCI/ILSI NA consensus workshop. **Cereal Foods World**, v. 44, p. 506-507, 1999.
- DORNEZ, E.; GEBRUERS, K.; CUYVERS, S.; DELCOUR, J. A.; COURTIN, C. M. Impact of wheat flour-associated endoxylanases on arabinoxylan in dough after mixing and resting. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 7149–7155, 2007.

DORNEZ, E.; GEBRUERS, K.; DELCOURAND, J. A.; COURTIN, C. M. Grain-associated xylanases occurrence variability, and implications for cereal processing. **Trends in Food Science and Technology**, v. 20, p. 495-510, 2009.

DORNEZ, E.; GEBRUERS, K.; STEFAN WIAME, S.; DELCOUR, J. A.; M. COURTIN, C. M. Insight into the distribution of arabinoxylans, endoxylanases, and endoxylanase inhibitors in industrial wheat roller mill streams. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 8521–8529, 2006.

ELIASSON, A.-C. Starch structure and bread quality. In: CAUVAIN, S. P. (Ed.). **Breadmaking: improving quality**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited; Boca Raton: CRC Press LLC, 2003. Paginação irregular.

ERLANDSEN, L.; NILSSON, L. D.; JORGENSEN, C. T.; BORCH, K.; JENSEN, M. T.; SPENDLER, T. **Pursuing the function of lipids and lipases in baking**. Trabalho apresentado ao AACC Annual Meeting, Portland, 2003.

FDA - Food and Drug Administration's **CFR - Code of Federal Regulations Title 21**. Disponível em: <<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcr/cfrsearch.cfm>>. Acesso em: 12 set. 2010.

FERREIRA, P. B. M.; WATANABE, E. **Estudo da formulação na produção de pão francês pré-assado**. Trabalho apresentado ao XIV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Rio de Janeiro, 1998. Paper 72.

FERREIRA, P. B. M.; WATANABE, E.; BENASSI, V. T. Estudo do processo de produção de pão francês pré-assado. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 2, p. 91-95, 1999.

FIERENS, E.; GEBRUERS, K.; COURTIN, C. M.; DELCOUR, J. A. Xylanase inhibitors bind to nonstarch polysaccharides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 564–570, 2008.

FIERENS, E.; ROMBOUTS, S.; GEBRUERS, K.; GOESAERT, H.; BRIJS, K.; BEAUGRAND, J.; VOLCKAERT, G.; VANCAMPENHOUT, S.; PROOST, P.; COURTIN, C. M.; DELCOUR, J. A. TLXI, a novel type of xylanase inhibitor from wheat (*Triticum aestivum*) belonging to the thaumatococcus family. **Biochemical Journal**, v. 403, p. 583–591, 2007.

FIK, M.; SURÓWKA, K. Effect of prebaking and frozen storage on the sensory quality and instrumental texture of bread. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 82, p. 1268-1275, 2002.

FINNIE, S. M.; JEANNOTTE, R.; FAUBION, J. M. Quantitative Characterization of Polar Lipids from Wheat Whole Meal, Flour, and Starch. **Cereal Chemistry**, v. 86, p. 637-645, 2009.

FISZMAN, S. M.; VARELA, P.; SALVADOR, A.; A. GÁMBARO, A.; GIMÉNEZ, G.; ARES, G.; PENNA, E. W.; LÓPEZ, L.; LÓPEZ, M. E. Use of enzymes in brown bread production and their influence on the shelf life of the sliced and wrapped products: a collaborative transcultural sensory evaluation. **Acta Alimentaria**, v. 38, p. 205–217, 2009.

FORMAN, T. Enzymes used in bread baking: an application update. **American Institute of Baking, Technical Bulletin**, v. XXVI, n. 10, p.1-12, 2004.

GÁMBARO, A.; GIMÉNEZ, A.; ARES, G.; GILARDI, V. Influence of enzymes on the texture of brown pan bread. **Journal of Texture Studies**, v. 37, p. 300–314, 2006.

GAN, Z.; GALLIARD, T.; ELLIS, P.R.; ANGOLD, R. E.; VAUGHAN, J. G. Effect of the outer bran layers on the loaf volume of wheat bread. **Journal of Cereal Science**, v. 15, p. 151-163, 1992.

GARCIA, R.; RAKOTOZAFY, L.; NICOLAS, J. Analysis and modeling of the ferulic acid oxidation by a glucose oxidase–peroxidase association. comparison with a hexose oxidase–peroxidase association. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 3946–3953, 2004.

GEBRUERS, K.; BRIJS, K.; COURTIN, C. M.; GOESAERT, H.; PROOST, P.; VAN DAMME, J.; DELCOUR, J. A. Affinity chromatography with immobilized endoxylanases separates TAXI- and XIP-type endoxylanase inhibitors from wheat (*Triticum aestivum* L.). **Journal of Cereal Science**, v. 36, p. 367–375, 2002.

GIMÉNEZ, A.; VARELA, P.; SALVADOR, A.; ARES, G.; FISZMAN, S.; GARITTA, L. Shelf life estimation of brown pan bread: a consumer approach. **Food Quality and Preference**, v. 18, p. 196–204, 2007.

GRAY, J. A.; BEMILLER, J. N. Bread staling: molecular basis and control. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 2, p. 1-21, 2003.

GRENIER, A.; MONTEAU, J-Y.; LE BAIL, A.; HAYERT, M. Effect of external conditions on the rate of post-baking chilling of bread. **Journal of Food Engineering**, v. 55, p. 19-24, 2002.

GÜL, H.; ÖZER, M. S.; DIZLEK, H. Improvement of the wheat and corn bran bread quality by using glucose oxidase and hexose oxidase. **Journal of Food Quality**, v. 32, p. 209–223, 2009.

HAMDAMI, N.; MONTEAU, J-Y.; LE BAIL, A. Effective thermal conductivity of a high porosity model food at above and sub-freezing temperatures. **International Journal of Refrigeration**, v. 26, p. 809-816, 2003.

HAMDAMI, N.; MONTEAU, J-Y.; LE BAIL, A. Heat and mass transfer in par-baked bread during freezing. **Food Research International**, v. 37, p. 477-488, 2004a.

HAMDAMI, N.; MONTEAU, J-Y.; LE BAIL, A. Simulation of coupled heat and mass transfer during freezing of porous humid matrix. **International Journal of Refrigeration**, v. 27, p. 595-603, 2004b.

HAMDAMI, N.; MONTEAU, J-Y.; LE BAIL, A. Thermophysical properties evolution of French partly baked bread during freezing. **Food Research International**, v. 37, p. 703-713, 2004c.

- HAMDAMI, N.; MONTEAU, J-Y.; LE BAIL, A. Transport properties of high porosity model food at above and sub-freezing temperatures. Part 1: Thermophysical properties and water activity. **Journal of Food Engineering**, v. 62, p. 373-383, 2004d.
- HAMDAMI, N.; MONTEAU, J-Y.; LE BAIL, A. Transport properties of high porosity model food at above and sub-freezing temperatures. Part 2: Evaluation of the effective moisture diffusivity from drying data. **Journal of Food Engineering**, v. 62, p. 385-392, 2004e.
- HAMDAMI, N.; MONTEAU, J-Y.; LE BAIL, A. Moisture diffusivity and water activity of par-baked bread at above and sub-freezing temperatures. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, p. 33-44, 2006.
- HAMDAMI, N.; PHAMC, Q. T.; LE BAIL, A.; MONTEAU, J-Y. Two-stage freezing of par-baked breads: Application and optimization. **Journal of Food Engineering**, v. 82, p. 418-426, 2007.
- HANFT, F.; KOEHLER, P. Quantitation of dihydroxyacetone in wheat flour and dough by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 2418-2423, 2005.
- HANSEN, O. C.; STOUGAARD, P. Hexose oxidase from the red alga *Chondrus crispus*: purification, molecular cloning, and expression in *Pichia pastoris*. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 272, p. 11581-11587, 1997.
- HASEBORG, E. T.; HIMMELSTEIN, A. Quality problems with high-fiber breads solved by use of hemicellulase enzymes. **Cereal Foods World**, v.33, n. 5, p. 419-422, 1988.
- HHS; USDA **Dietary Guidelines for Americans 2005**. Disponível em: <<http://www.healthierus.gov/dietaryguidelines/>>. Acesso em: 04 mar. 2006.
- HILLEBRAND, M. **Altering equipment to produce par-baked breads**: with some modifications to existing lines, any baker that has the means to bake and freeze can produce par-baked breads. Disponível em: <<http://bakingmanagement.bakery-net.com/article/7877>>. Acesso em: 14 jul. 2005.
- HJORT, C. Industrial enzyme production for food applications. In: RASTALL, R. (Ed.). **Novel enzyme technology for food applications**. New York: CRC Press, 2007. Paginação irregular.
- HOCHFELD, W. L. **Producing biomolecular substances with fermenters, bioreactors, and biomolecular synthesizers**. New York: CRC Press, 2006. Paginação irregular.
- INOUE; Y.; BUSHUK, W. Effects of freezing, frozen storage and thawing on dough and baked goods. In: JEREMIAH, L. E. (Ed.). **Freezing effects on quality on food quality**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996. 520p.
- JENKINS, R. O. Enzymes. In: CAVACO-PAULO, A.; GÜBITZ, G. M. (Eds). **Textile processing with enzymes**. Cambridge: Woodhead Publishing Ltd; Boca Raton: CRC Press LLC, 2003. Paginação irregular.

JENSEN, M. K.; KOH-BANERJEE, P.; FRANZ, M.; SAMPTON, L.; *et al.* Whole grains, bran, and germ in relation to homocysteine and markers of glycemic control, lipids, and inflammation. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, n. 2; p. 275- 283, 2006.

JEREMIAH, L. E. (Ed.) **Freezing effects on quality on food quality**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996. 520p.

JIANGA, Z.; LE BAIL, A.; WUA, A. Effect of the thermostable xylanase B (XynB) from *Thermotoga maritima* on the quality of frozen partially baked bread. **Journal of Cereal Science**, v. 47, p. 172–179, 2008.

JOYE, I. J.; LAGRAIN, B.; DELCOUR, J. A. Use of chemical redox agents and exogenous enzymes to modify the protein network during breadmaking – A review. **Journal of Cereal Science**, v. 50, p. 11–21, 2009.

KATINA, K. High-fibre baking. In: CAUVAIN, S. P. (Ed.). **Breadmaking: improving quality**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited; Boca Raton: CRC Press LLC, 2003. Paginação irregular.

KARAOGLU; M. M. Effect of baking procedure and storage on the pasting properties and staling of part-baked and rebaked wheat bran bread. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, p. 77–82, 2006.

KARAOGLU, M. M.; KOTANCILAR, H. G. Effect of partial baking, storage and rebaking process on the quality of white pan bread. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, p. 108–114, 2006.

KARAOGLU, M. M.; KOTANCILAR, H. G.; GURSES, M. Microbiological characteristics of part-baked white pan bread during storage. **International Journal of Food Properties**, v. 8, p. 355–365, 2005.

KENNEDY, J. C. (Ed.). **Managing frozen foods**. Cambridge Woodhead Publishing Limited; Boca Raton: CRC Press LLC, 2000. Paginação irregular.

KILARA, A.; DESAI, M. Enzymes. In: A. LARRY BRANEN, A. L.; DAVIDSON, P. M.; SALMINEN, S.; THORNGATE, J. H. (Eds). **Food Additives**. New York: Rlarcel Ilekker, Inc, 2002. Paginação irregular.

LAINIZ, E.; VERGARA, F.; BÁRCENAS, M. E. Quality and microbial stability of partially baked bread during refrigerated storage. **Journal of Food Engineering**, v. 89, p. 414–418, 2008.

LE BAIL, A.; DESSEV, T.; JURY, V.; ZUNIGA, R.; PARK, T.; PITROFF, M. Energy demand for selected bread making processes: Conventional versus part baked frozen technologies. **Journal of Food Engineering**, v.96, p. 510–519, 2010.

LE BAIL, A.; MONTEAU, J. Y.; MARGERIE, F.; LUCAS, T.; CHARGELEGUE, A.; REVERDY, Y. Impact of selected process parameters on crust flaking of frozen partly baked bread. **Journal of Food Engineering**, v. 69, p. 503-509, 2005.

LEUSCHNER, R. G. K.; O'CALLAGHAN, M. J. A.; ARENDT, E. K. Optimization of baking parameters of part-baked and rebaked Irish brown soda bread by evaluation of some quality characteristics. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 32, p. 487-493, 1997.

LEUSCHNER, R. G. K.; O'CALLAGHAN, M. J. A.; ARENDT, E. K. Bacilli spoilage in part-baked and rebaked brown soda bread. **Journal of Food Science**, v. 63, p. 915-918, 1998.

LEUSCHNER, R. G. K.; O'CALLAGHAN, M. J. A.; ARENDT, E. K. Moisture distribution and microbial quality of part baked breads as related to storage and rebaking conditions. **Journal of Food Science**, v. 64, p. 543-546, 1999.

LU, Q.; GUO, S.; ZHANG, S. Effects of flour free lipids on textural and cooking qualities of Chinese noodles. **Food Research International**, v 42, p. 226–230, 2009.

LUCAS, T.; LE RAY, D.; DAVENEL, A. Chilling and freezing of part-baked bread. Part I: An MRI signal analysis. **Journal of Food Engineering**, v. 70, p. 139–149, 2005

LUCAS, T.; QUELLEC, S.; LE BAIL, A. DAVENEL, A. Chilling and freezing of part-baked bread. Part II: Experimental assessment of water phase changes and structure collapse. **Journal of Food Engineering**, v. 70, p. 151–164, 2005.

MANDALA, I.; KAPETANAKOU, A.; KOSTAROPOULOS, A. Physical properties of breads containing hydrocolloids stored at low temperature: II—Effect of freezing. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 1443–1451, 2008.

MANDALA, I. G.; SOTIRAKOGLU, K. Effect of frozen storage and microwave reheating on some physical attributes of fresh bread containing hydrocolloids. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p. 709-719, 2005.

MALONEY, D. H.; FOY, J. J. Yeast fermentations. In: KULP, K.; LORENZ, K. (Eds.). **Handbook of dough fermentations**. New York: Marcel Dekker, Inc., 2003. Paginação irregular.

MATHEWSON, P. R. **Enzymes**. St. Paul: Eagan Press Handbook Series, 1998. 109p.

MCCANCE, R.A.; WIDDOWSON'S, E. M. **The composition of foods** 5^ªed. Cambridge : Royal Society of Chemistry, 1991. 462p.

MCCANN, T.H.; SMALL, D; M.; IAN L. BATEY, I. L.; WRIGLEY, C. W.; DAY, L. Protein–lipid interactions in gluten elucidated using acetic-acid fractionation. **Food Chemistry**, v. 115, p. 105–112, 2009.

MARQUART, L.; SLAVIN, J. L.; FULCHER; R. G. (Eds.). **Whole-grain foods in health and disease**. St Paul: American Association of Cereal Chemists, Inc., 2002. 382p.

MCLAUCHLAN, W. R.; GARCIA-CONESA, M. T.; WILLIAMSON, G.; ROZA, M.; RAVESTEIN, P.; MAAT, J. A novel class of protein from wheat which inhibits xylanases. **Biochemical Journal**, v. 338, p. 441–446, 1999.

MOAYEDALLAIE, S.; MIRZAEI, M.; PATERSON, J. Bread improvers: Comparison of a range of lipases with a traditional emulsifier. **Food Chemistry**, v. 122, p. 495–499, 2010.

MOONEN, H. **Enzymes as dough conditioners**. Trabalho apresentado ao AACC Annual Meeting, Seattle, 1999.

MORRISON, W. R. Wheat lipids are unique. In: POMERANZ, Y. (Ed.). **Wheat is unique**: structure, composition, processing, end-use properties and products. St. Paul: American Association of Cereal Chemists, Inc. 1989. p.319-339.

NUTRINEWS **Semi-assado e supergelado: o pãozinho francês se modernizou**. Disponível em: < <http://www.nutrinews.com.br/edicoes/9905/mat01.html>>. Acesso em: 09 mai 2010.

NYSTROM, L.; PAASONEN, A.; LAMPI, A.; PIIRONEN, V. Total plant sterols, steryl ferulates and steryl glycosides in milling fractions of wheat and rye. **Journal of Cereal Science**, v. 45, p. 106–115, 2007.

OTA, E. M. **Influências das variáveis de processo de congelamento na qualidade final de pão tipo francês pré-assado**. 2006. 160p. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

PAID, Y. Y.; WALKER, C.E. **Influence of baking conditions on part-baked bread properties**. Trabalho apresentado ao AACC Annual Meeting, Charlotte, 2001.

PEREIRA, M. A.; JR, D. R. J.; PINS, J. J.; RAATZ, S. K.; GROSS, M. D.; SLAVIN, J. L.; SEAQUIST, E. R. Effect of whole grains on insulin sensitivity in overweight hyperinsulinemic adults. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 75, n. 5, p. 848–55, 2002.

PÉREZ-NIETO, A.; CHANONA-PÉREZ, J. J.; FARRERA-REBOLLO, R. R.; GUTIÉRREZ-LÓPEZ, G. F.; ALAMILLA-BELTRA, L.; CALDERÓN-DOMÍNGUEZ, G. Image analysis of structural changes in dough during baking. **LWT – Food Science and Technology**, v. 43, n. 535–543, 2010.

PENELLA, J. M. S.; COLLAR, C.; HAROS, M. Effect of wheat bran and enzyme addition on dough functional performance and phytic acid levels in bread. **Journal of Cereal Science**, v. 48, p. 715–721, 2008.

PINHEIRO, A. P. B. **Congelamento rápido garante qualidade para a indústria de panificação**. Disponível em: <http://www.senai-ce.org.br/cm/cm_it_1/dsi/congelamento.html>. Acesso em: 08 jul 2005.

POPPER, L.; KUTSCHINSKI, H. **Enzymes in breadmaking**: economic relevance, markets, future perspectives. Trabalho apresentado ao AACC Annual Meeting, San Antonio, 2007.

POLIZELI, M. L. T. M.; RIZZATTI, A. C. S.; MONTI, R.; TERENCEI, H. F.; JORGE, J. A.; AMORIM, D. S. Xylanases from fungi: properties and industrial applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 67, p. 577–591, 2005.

POMERANZ, Y. **Modern cereal science and technology**. Weinheim: VCH Publishers, Inc., 1987. 486p.

POMERANZ, Y. Composition and functionality of wheat flour components. In: POMERANZ, Y. (Ed.). **Wheat: chemistry and technology** 3.ed. St. Paul: American Association of Cereal Chemists, Inc., 1988. v. II, p. 219- 370.

POVLSEN, I. L. **Enzymatic modification, isolation and analysis of flour lipids**. Trabalho apresentado ao AACC Annual Meeting, Honolulu, 2008.

POVLSEN, I. L.; SOE, J.; KAPPELMAN, D. **Effect and functionality of lipase with galactolipase activity in dough and bread**. Trabalho apresentado ao AACC Annual Meeting, Orlando, 2005.

POULSEN, C.; HOSTRUP, P. B. Purification and characterization of a hexose oxidase with excellent strengthening effects in bread. **Cereal Chemistry**, v. 75, p. 51-57, 1998.

PRIMO-MARTIN, C.; WANG, M.; LICHTENDONK, W. J.; PLIJTER, J. J.; HAMER, R. J. An explanation for the combined effect of xylanase–glucose oxidase in dough systems. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, p. 1186–1196, 2005.

PYLER, E. J. **Baking Science and Technology**. 3. ed. Kansas: Sosland Publishing Company, 1988. v. 2, 1359p.

REID, D. S. Fundamental physicochemical aspects of freezing. **Food Technology**, v. 37, n. 4, p. 110-115, 1983.

RIBOTTA, P. D.; LE BAIL, A. Thermo-physical and thermo-mechanical assessment of partially baked bread during chilling and freezing process. Impact of selected enzymes on crumb contraction to prevent crust flaking. **Journal of Food Engineering**, v. 78, p. 913–921, 2007.

RODRIGO, C. P.; VADILLO, V. R. El trigo, el pan y la pasta en la dieta mediterránea. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 54, n. 1, p. 52-58, 2004.

ROGERS, D. E.; HOSENEY, R. C. Problems associated with producing whole wheat bread. **Cereal Foods World**, v. 27, n. 9, p. 451-452, 1982.

ROMANOWSKA, I.; POLAK, J.; BIELECKI, S. Isolation and properties of *Aspergillus niger* IBT-90 xylanase for bakery. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 69, p. 665–671, 2006.

ROSELL, C. M.; GÓMEZ, M. Frozen dough and partially baked bread: an update. **Food Reviews International**, v. 23, n. 3, p. 1–38, 2007.

ROSELL, C. M.; SANTOS, E. Impact of fibers on physical characteristics of fresh and staled bake off bread. **Journal of Food Engineering**, v. 98, p. 273–281, 2010.

ROUAU, X.; DAVIET, S.; TAHIR, T.; CHEREL, B.; SAULNIER, L. Effect of the proteinaceous wheat xylanase inhibitor XIP-I on the performances of an *Aspergillus niger* xylanase in breadmaking. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, p.1604–1609, 2006.

ROUAU, X.; EI-HAYEK, M. L.; MOREAU, D. Effect of an enzyme preparation containing pentosanases on the bread-making quality of flours in relation to changes in pentosan properties. **Journal of Cereal Science**, v. 19, p. 259–272, 1994.

SCHAAFSMA, G. Health claims, options for dietary fiber. In: VAN DER KAMP, J. W.; ASP, N-G.; JONES, J. M.; SCHAAFSMA, G. (Eds.). **Dietary fiber: bio-active carbohydrates for food and feed**. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2004. 357p.

SCHIRALDI, A.; FESSAS, D. Mechanism of staling: an overview. In: CHINACHOTI, P.; VODOVOTZ, P. Y. (Eds.). **Bread staling**. Boca Raton: CRC Press LLC, 2001. Paginação irregular.

SELINHEIMO, E.; KRUUS, K.; BUCHERT, J.; HOPIA, A.; AUTIO, K. Effects of laccase, xylanase and their combination on the rheological properties of wheat doughs. **Journal of Cereal Science**, v. 43, p. 152–159, 2006.

SELMAIR, P. L.; KOEHLER, P. Molecular Structure and Baking Performance of Individual Glycolipid Classes from Lecithins **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 5597–5609, 2009.

SHAH, A. R.; SHAH, R. K.; MADAMWAR, D. Improvement of the quality of whole wheat bread by supplementation of xylanase from *Aspergillus foetidus*. **Bioresource Technology**, v. 97, p. 2047–2053, 2006.

SHENOY, A. H.; PRAKASH, J. Wheat bran (*Triticum aestivum*): composition, functionality and incorporation in unleavened bread. **Journal of Food Quality**, v. 25, n. 3, p. 197-211, 2002.

SLAVIN, J. Why whole grains are protective: biological mechanisms. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.62, n.1, p. 129-134, 2003.

SLAVIN J.; JACOBS D.; MARQUART L. Whole-grain consumption and chronic disease: protective mechanisms. **Nutrition and Cancer**, v. 27, n.1, p. 14-21, 1997.

SLUIMER, P. **Principles of breadmaking: functionality of raw materials and process steps**. St. Paul: The American Association of Cereal Chemists, Inc., 2005. 212p.

SMITH, M. M. A; HARTLEY, R. D. Occurrence and nature of ferulic acid substitution of cell wall polysaccharides in graminaceous plants. **Carbohydrate Research**, v. 11, p. 65-80, 1983.

SOE, J. B.; BARFOD, N. M.; POULSEN, C. H. **Chemical and physical modification of dough by lipase addition**. Trabalho apresentado ao AACC Annual Meeting, Kansas, 2000.

- SOE, J. B.; JENSEN, B. **Effect and Functionality of Lipases in Dough and Bread.** Trabalho apresentado ao VII Meeting on industrial applications of enzymes, Barcelona, 1997.
- SOE, J.; THORSEN, M.; FISCHER, T. **Analysis of wheat flour lipids from lipase-treated dough.** Trabalho apresentado ao AACC Annual Meeting. Orlando, 2005.
- SOUPPE, J. **Gluten and enzymes: new developments for the baking industry.** Trabalho apresentado ao VII Encuentro para la aplicación industrial de enzimas, Barcelona, 1997. p. 9–32.
- SPENDLER, T.; BUDOLFSEN, G.; CHRISTIANSEN, L.; NIELSEN, J. B. **Application of lipolytic enzymes in the baking industry.** Trabalho apresentado ao AACC Annual Meeting, Kansas, 2000.
- STAUFFER, C. E. **Functional additives for bakery foods.** New York: Van Nostrand Reinhold., 1990. 279p.
- SULTAN, W. J. **Practical baking** 2 ed. Pennsylvania: The Avi Publishing Company, 1969. 492p.
- TILLEY, K. A.; BENJAMIN, R. E.; BAGOROGOZA, K. E.; OKOT-KOTBER, B. M.; PRAKASH, O.; KWEN, H. Tyrosine cross-links: molecular basis of gluten structure and function. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 2627-2632, 2001.
- TRUSWELL, A. S. Cereal grains and coronary heart disease. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 56, n. 1, p. 1–14, 2002.
- VULICEVIC, I. R.; ABDEL-AAL, E-S. M.; MITTAL, G. S.; LU, X. Quality and storage life of par-baked frozen breads. **LWT – Food Science and Technology**, v. 37, n. 2, p. 205-213, 2004.
- WANG, M-W.; HAMER, R. J.; VANVLIET, T.; GRUPPEN, H.; MARSEILLE, J. P.; WEEGELS, P. L. Effect of water unextractable solids on gluten formation and properties: mechanistic considerations. **Journal of Cereal Science**, v. 37, p. 55–64, 2003a.
- WANG, M.; OUDGENOEG, G.; VLIET, T.; HAMER, J. R. Interaction of water unextractable solids with gluten protein: effect on dough properties and gluten quality. **Journal of Cereal Science**, v. 38, p. 95-104, 2003b.
- WIESER, H. The use of redox agents. In: CAUVIN, S. P. (Ed.). **Bread making: improving quality.** Cambridge: Woodhead Publishing Ltd; Boca Raton: CRC Press LLC, 2003. Paginação irregular.
- WGC - Whole Grain Council **Whole grains at every meal.** Disponível em: <http://www.wholegrainscouncil.org/>>. Acesso em: 12 set. 2010.
- WOLFF, A. M.; HANSEN, O. C.; POULSEN, U.; MADRID, S.; STOUGAARD, P. Optimization of the production of *Chondrus crispus* Hexose Oxidase in *Pichia pastoris*. **Protein Expression and Purification**, v. 22, p. 189-199, 2001.

YOKOYAMA, W. H.; HUDSON, C. A.; CHIU, M. M.; BETSCHART, A. A. Effect of formulation and processing on the enzymatic digestion of common cereal products. **Cereal Foods World**, v. 39, n. 6, p. 439-443, 1994.

Capítulo 1

**Efeito do tempo de fermentação na qualidade de pão francês
pré-assado congelado elaborado com a farinha do trigo integral**

RESUMO

A fermentação é uma etapa do processo de panificação que pode ser crucial na determinação das características finais do produto que será apresentado ao consumidor. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do tempo de fermentação na qualidade de pão francês pré-assado congelado elaborado com farinha do trigo integral. Para tal objetivo, as massas foram deixadas fermentar até que dois estágios diferentes de fermentação fossem alcançados. O primeiro estágio correspondia ao estágio que a massa apresentava ponto máximo de desenvolvimento de volume sem que a resistência ao toque fosse perdida. O segundo estágio era logo após o primeiro estágio e era caracterizado pela perda de resistência da massa ao toque, mas sem perda considerável de volume pela mesma. Os pães foram avaliados quanto ao volume específico, textura do miolo (firmeza e elasticidade), salto de forno, formato, abertura e pestana. Os resultados mostraram que o tempo de fermentação influenciou várias características do pão francês pré-assado. Um maior tempo de fermentação tendeu a proporcionar aos pães maior volume específico e elasticidade do miolo, menor firmeza do miolo e menor abertura e pestana. Salto de forno e formato não foram alterados pelo tempo de fermentação. O aumento de volume foi resultado do aumento das medidas de largura e comprimento dos pães. Através deste estudo notou-se que o tempo de fermentação é um dos fatores responsáveis pelo colapso da estrutura de pães pré-assados e que a formulação adequada pode contornar a perda de abertura e pestana proporcionada pelo maior tempo de fermentação.

Palavras-chave: fermentação, pão pré-assado, pão francês, congelamento, farinha do trigo integral.

ABSTRACT

Proofing is a step of the bread making process that may be crucial to determine the final characteristics that will be presented to the consumer. The goal of this work was to evaluate the effect of proofing time on the quality of frozen part-baked French bread made with whole wheat flour. For this objective, the dough was left to rise until two different stages of proofing. The first stage corresponded to the stage that the dough showed maximum volume without that resistance to touch was lost. The second stage was soon after the first stage and was characterized by loss of dough resistance to touch, but without considerable lose of volume. Breads were evaluated as to specific volume, crumb texture (firmness and springiness), oven spring, shape and surface opening and cut measurements. The results showed that proofing time influenced several characteristics of part-baked French bread. Higher proofing times tended to provide breads with higher specific volume and crumb springiness, lower crumb firmness and lower surface opening and cut measurements. Oven spring and shape were not modified by proofing time. The increase of volume was a result of the increase of width and length measurements. Through this study, it was noted that proofing time is one of the factors responsible for structure collapse of part-baked breads and that adequate formulation may control the loss of surface opening and cut measurements caused by higher proofing time.

Key words: proofing, part-baked bread, French bread, freezing, whole wheat flour.

1. INTRODUÇÃO

O pão pré-assado é um setor do mercado em crescimento não somente por disponibilizar produtos que possuem a finalização em casa, mas também por disponibilizar produtos que podem ser distribuídos para o assamento final em pontos de venda. Os produtos intermediários são freqüentemente congelados para distribuição (WIGGINS, 1999). Vários problemas relacionados a pães pré-assados, como redução/contração do volume específico, o colapso (encolhimento) da estrutura, o surgimento de uma descoloração logo abaixo da crosta, comumente chamada de *snow-white*, a separação da crosta do miolo e o esfarelamento da crosta são comumente relacionados ao congelamento dos pães pré-assados. Mas, Le Bail *et al.* (2005) verificaram que condições da etapa de fermentação influenciavam a qualidade destes pães. Eles constataram que a umidade relativa durante a fermentação mostrou ser um dos fatores chave para controlar a quantidade de esfarelamento. Para obter melhores características da crosta de baguetes pré-assadas, congeladas e reassadas (minimização do esfarelamento), a fermentação final realizada em condição úmida (umidade relativa entre 90-95%) foi melhor do que em condição seca (umidade relativa 50-55%). Com relação ao tempo de fermentação de pães pré-assados há divergências na literatura. De acordo com Sluimer (2005), usualmente o tempo de fermentação final é o mesmo do que o de um processo convencional, porém, Ferreira, Watanabe e Benassi (1999) verificaram que, na produção de pão francês pré-assado, esta etapa deveria ser mais curta.

A etapa de fermentação tem como objetivo a continuação do desenvolvimento da massa que começou durante a mistura. O intuito é aumentar o volume específico da massa, que é alcançado com a produção de dióxido de carbono pelas leveduras e com as propriedades de retenção de gás da farinha de trigo, para que as propriedades requeridas no produto final sejam obtidas durante o assamento. O tempo de fermentação deve permitir, sob condições favoráveis, a atuação das leveduras e enzimas na massa (SLUIMER, 2005). A fermentação é uma das fases críticas da produção de pão francês (BAARDSETH *et al.*, 2000).

A fermentação da massa deve ser otimizada para a produção de produtos assados de boa qualidade. Tempo de fermentação insuficiente resulta em produtos com volume reduzido e estrutura pobre de miolo, enquanto que tempo de fermentação excessivo produzirá massa de baixa viscosidade e pegajosa, que é difícil de manipular.

Tempos de fermentação excessivos também representam um custo indevido aos panificadores (SINELLI; CASIRAGHI; DOWNEY, 2008).

Poucos estudos existem sobre a influência que a etapa de fermentação pode trazer aos pães pré-assados. Logo, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do tempo de fermentação em pães pré-assados congelados, elaborados com farinha do trigo integral, para verificar as mudanças que este parâmetro pode trazer as características de qualidade dos pães.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

Todo o material utilizado foi gentilmente doado pelos fornecedores. As farinhas de trigo utilizadas foram a do trigo refinado: Farinha de Trigo Anaconda Tipo 1 (Anaconda, São Paulo, SP, Brasil) e a do trigo integral: Farinha de Trigo Anaconda Integral (Anaconda, São Paulo, SP, Brasil). As características destas farinhas e da mistura utilizada estão apresentadas na Tabela 1.1.

Os demais ingredientes e aditivos utilizados foram: ácido ascórbico (DSM, São Paulo, SP, Brasil), azodicarbonamida (Granotec, Curitiba, PR, Brasil), fermento biológico seco instantâneo massa sal Fleischmann (AB Brasil, Pederneiras, SP, Brasil), glúten vital (Roquette Frères, Lestrem, França), éster de ácido tartárico diacetilado com mono e diglicerídeos Panodan[®] 20 (Danisco, Cotia, SP, Brasil), alfa-amilase fúngica Grindamyl[™] A 500 (Danisco, Cotia, SP, Brasil), glicolipase Grindamyl[®] Powerbake 4100 (Danisco, Cotia, SP, Brasil) e hexose oxidase Grindamyl[™] Sure Bake 900 (Danisco, Cotia, SP, Brasil). A hemicelulase utilizada foi uma mistura de 70% de uma hemicelulase bacteriana livre de inibições Grindamyl[™] Powerbake 7500 (Danisco, Cotia, SP, Brasil) e 30% de uma hemicelulase fúngica Grindamyl[™] H 460 (Danisco, Cotia, SP, Brasil).

Tabela 1.1: Características das farinhas de trigo utilizadas

Parâmetros	Farinha do trigo refinado (FR)	Farinha do trigo integral (FI)	Mistura 60% FI: 40% FR
Granulometria (% retida) - n° 965.22 AOAC (1997)			
14 mesh (1,190 µm)	0,10 ± 0,08	0,04 ± 0,03	0,09 ± 0,01
20 mesh (840 µm)	0,54 ± 0,02	0,74 ± 0,05	0,51 ± 0,01
35 mesh (420 µm)	0,38 ± 0,16	9,74 ± 0,16	7,83 ± 0,07
60 mesh (250 µm)	10,10 ± 4,82	14,83 ± 3,56	14,40 ± 2,43
80 mesh (177 µm)	33,48 ± 5,49	19,16 ± 2,39	23,33 ± 2,72
100 mesh (149 µm)	0,15 ± 0,06	0,52 ± 0,02	0,26 ± 0,04
Fundo (<149 µm)	5,25 ± 0,99	4,97 ± 0,97	3,59 ± 0,18
Composição Centesimal (%)			
Umidade (%) - n° 44-10.01 AACC (2010)	8,21 ± 0,20	7,47 ± 0,22	7,77 ± 0,29
Carboidratos (%)	78,39 ± 0,21	76,72 ± 0,27	77,38 ± 0,34
Proteína (%) - n° 46-13.01 AACC (2010)	11,72 ± 0,04	12,69 ± 0,15	12,31 ± 0,16
Lipídeos (%) - n° 920.39C AOAC (1997)	1,12 ± 0,05	1,57 ± 0,01	1,39 ± 0,05
Cinzas (%) - n° 08-01.01 AACC (2010)	0,56 ± 0,01	1,55 ± 0,04	1,15 ± 0,05
Farinografia - n° 54-21.01 AACC (2010)			
Absorção de água (%)	61,90	67,70	65,00
Tempo de chegada (s)	1,75	5,75	5,25
Tempo de desenvolvimento (s)	9,25	7,75	7,50
Tempo de saída (s)	14,25	12,00	10,25
Estabilidade (s)	12,50	6,25	5,00
Índice de Tolerância (UF)	20	30	60
Extensografia - n° 54-10.01 AACC (2010)			
45 min	R (UE)	360	380
	Rm (UE)	500	400
	E (mm)	170	125
	R/E	2,12	3,04
30 min	R (UE)	480	520
	Rm (UE)	730	550
	E (mm)	170	120
	R/E	2,82	4,33
135 min	R (UE)	460	510
	Rm (UE)	620	540
	E (mm)	155	120
	R/E	2,97	4,25
Atividade diastática (s) - n° 56-81.03 AACC (2010)			
	412 ± 5	355 ± 3	378 ± 6
Teores e Índice de Glúten - n° 38-12.02 AACC (2010)			
Glúten úmido (%)	31,85 ± 0,51	30,70 ± 1,13	31,16 ± 1,24
Glúten seco (%)	10,80 ± 0,26	11,40 ± 0,99	11,16 ± 1,02
Índice de glúten	85,96 ± 3,17	100,00 ± 0	97,38 ± 3,17

2.2. Métodos

2.2.1. Produção dos pães

2.2.1.1. Formulação

As formulações utilizadas neste trabalho estão apresentadas na Tabela 1.2. A proporção de farinha do trigo refinado e de farinha do trigo integral foi fixada para que o produto final contivesse no mínimo 3 g de fibra alimentar para cada 100 g de pão, ou seja, que fosse fonte de fibras pela legislação brasileira (BRASIL, 1998), conforme cálculo no Anexo I.

Tabela 1.2: Formulações utilizadas na produção de pão francês

Ingredientes e Aditivos (% base farinha)	Formulações					
	F01	F02	F03	F04	F05	F06
Farinha do trigo refinado	40	40	40	40	40	40
Farinha do trigo integral	60	60	60	60	60	60
Água	62	62	62	62	62	62
Fermento biológico seco instantâneo massa sal	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Sal	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Glúten vital	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000
Datem	0,5000	0,5000	0,5000	0,5000	0,5000	0,5000
Ácido ascórbico	0,0170	0,0170	0,0170	0,0170	0,0170	0,0170
Azodicarbonamida	0,0045	0,0045	0,0045	0,0045	0,0045	0,0045
α -amilase fúngica 5000 SKB	0,0200	0,0200	0,0200	0,0200	0,0200	0,0200
Glicolipase	0,0120	0,0120	0,0030	0,0120	---	0,0075
Hemicelulase	0,0091	0,0359	0,0091	0,0091	0,0225	---
Hexose Oxidase	0,0030	0,0030	0,0120	0,0120	0,0075	0,0075

2.2.1.2. Processo

A produção dos pães seguiu o processo de massa direta modificado. Bateladas de 1,8 kg de farinha de trigo foram feitas. Os ingredientes foram misturados em masseira modelo HAE 10 (Hypo, Ferraz de Vasconcelos, SP, Brasil) até que a massa alcançasse o completo desenvolvimento do glúten. A água foi adicionada resfriada ou parte em estado de gelo para que a temperatura final da massa ficasse em $29 \pm 2^\circ\text{C}$. O tempo de mistura lenta foi 5 minutos e o tempo de mistura rápida foi $5,40 \pm 0,41$ minutos. Imediatamente após a mistura, as massas foram divididas em porções de 90 ± 1 g e boleadas. Posteriormente, elas foram colocadas em descanso por 20 minutos. Decorrido este

tempo, elas foram moldadas em modeladora modelo HM2 Hp 0,5 (Hypo, Ferraz de Vasconcelos, SP, Brasil) e deixadas fermentar em câmara de fermentação modelo CCKU 586820-1 (Super Freezer, Poços de Caldas, MG, Brasil) a $30 \pm 3^\circ\text{C}$ e $80 \pm 5\%$ UR até que dois estágios diferentes de fermentação fossem alcançados: estágio 1 = estágio em que a massa apresentava ponto máximo de desenvolvimento de volume sem que a resistência ao toque fosse perdida e estágio 2 = estágio logo após o estágio 1, o qual é caracterizado pela perda de resistência da massa ao toque, mas sem perda considerável de volume pela mesma. Estas avaliações de resistência ao toque foram realizadas subjetivamente. Os tempos necessários para que as massas alcançassem esses estágios estão descritos na Tabela 1.3, como t_1 e t_2 , respectivamente. Como cada formulação continha diferentes quantidades de enzimas, que proporcionaram tolerância diferenciada às massas, os tempos t_1 e t_2 foram diferentes dependendo das formulações. As massas fermentadas foram pré-assadas em forno de lastro modelo Ipanema IP 4/80 (Haas, Curitiba, PR, Brasil) com injeção de vapor nos primeiros 3 segundos de forneamento e apresentando temperatura de teto $190 \pm 5^\circ\text{C}$ e temperatura de lastro $210 \pm 5^\circ\text{C}$. Quando o centro do pão alcançou 93°C a porta do forno foi aberta e o pré-assamento continuou até que o centro do pão alcançasse 96°C . O tempo de forneamento total foi de 11 ± 1 minutos. O monitoramento da temperatura foi realizado através de termopares tipo “T” e com o sistema de aquisição de dados Data Logger modelo 177-T4 (Testo, Lenkirch, Alemanha). Os pães pré-assados, resfriados, com o centro a 35°C , foram congelados em câmara estática de congelamento de frio mecânico modelo UK 05 (Klimaquip, Pouso Alegre, MG, Brasil), utilizando a convecção do ar forçado a baixa temperatura (-40°C). O processo de congelamento foi encerrado assim que a temperatura do centro do pão alcançou -18°C . O tempo de congelamento foi de 50 ± 3 minutos. Após os pães ficarem estocados por 7 dias a -18°C em freezer vertical modelo FFE24 (Eletrólux, Curitiba, PR, Brasil) eles foram reassados em forno combinado eletrônico modelo EC3 Gourmet (Prática Technicook, Pouso Alegre, MG, Brasil) a 180°C por 4 minutos a vapor alto e posteriormente por mais 8 minutos sem vapor.

Tabela 1.3: Tempos de fermentação das massas das diferentes formulações

Formulações	Tempo de Fermentação	Tempo de Fermentação (h)
01	t1	1,33
	t2	1,42
02	t1	1,17
	t2	1,67
03	t1	1,00
	t2	1,50
04	t1	1,58
	t2	1,83
05	t1	1,42
	t2	1,67
06	t1	1,50
	t2	1,67

t1 = tempo de fermentação para alcançar estágio 1 e t2 = tempo de fermentação para alcançar estágio 2.

2.2.2. Avaliação do produto

O pão pré-assado (sem congelamento) e o pão reassado (pré-assado, congelado, estocado congelado por 7 dias e reassado) foram avaliados. Os itens a seguir descrevem essas avaliações.

2.2.2.1. Volume específico

O volume aparente dos pães foi determinado pelo método de deslocamento de sementes de painço, e a massa, utilizando-se balança semi-analítica. O volume específico dos pães pré-assados e dos pães reassados foi determinado pela relação volume/massa e expresso em mL/g. A determinação do volume específico foi realizada assim que a temperatura do centro do pão atingiu 32 °C.

2.2.2.2. Textura: firmeza e elasticidade

A determinação da firmeza do miolo dos pães seguiu o método 74-09.01 da AACC (2010) e para a determinação da elasticidade uma adaptação a este método foi feita segundo Sangnark e Noomhorm (2004). A análise foi realizada em um texturômetro TA-XT2 com carga de 50 kg (Stable Micro Systems, Surrey, Inglaterra) e utilizando a célula sensor probe cilíndrico de alumínio P/25. Este probe foi utilizado para que somente o

miolo fosse comprimido. Duas fatias da porção central do pão (1,25 cm cada), obtidas no fatiador modelo RDS 12 (Perfecta, Curitiba, PR, Brasil) foram sobrepostas e dispostas paralelamente à plataforma. A firmeza do pão foi determinada como a força requerida em gramas para comprimir em 25% a amostra. Após a compressão, o probe permaneceu na amostra por 60 segundos para que a elasticidade do miolo fosse avaliada. Ela foi determinada como a taxa entre a força constante durante o tempo de permanência na amostra e a força máxima obtida antes do tempo de permanência. Os parâmetros estabelecidos foram: opção e modo de teste = medida de força em compressão e permanência até o tempo; velocidade pré-teste = 1,0 mm/s; velocidade de teste = 1,7 mm/s; velocidade pós-teste = 10,0 mm/s; distância = 40%; tempo = 60 s, trigger auto = 10 g. Quatorze replicatas foram feitas para cada formulação.

2.2.2.3. Salto de forno

O salto de forno foi avaliado de acordo com Shittu *et al.* (2008). Ele foi determinado pela diferença da altura da massa no final da fermentação e a altura do pão pré-assado. Utilizou-se um paquímetro para obter as medidas.

2.2.2.4. Formato

A análise de formato dos pães foi realizada de acordo com Bodroza-Solarov *et al.* (2008). Medidas da altura e da largura na porção central do pão pré-assado foram realizadas com o auxílio de um paquímetro e o formato foi obtido pela relação altura/largura. Relação igual a 0,5 indica um pão de formato regular, uma relação maior que 0,5 indica um formato esférico, enquanto que uma relação baixa indica um formato plano.

2.2.2.5. Abertura e pestana

A abertura e a pestana dos pães pré-assados foram mensuradas com o auxílio de um paquímetro. A abertura dos pães pré-assados foi definida como a distância linear entre os dois lados do corte no centro do pão. A pestana foi definida como a altura linear do descolamento da lateral do pão em relação à superfície no centro do volume em um ângulo de aproximadamente 45° (Figura 1.1).



Figura 1.1: Análise da abertura (à esquerda) e pestana (à direita) dos pães

2.2.2.6. Fotos

Foram tiradas fotos dos pães pré-assados e dos pães reassados com uma câmara fotográfica modelo DSC-W30 (Sony, New York, EUA).

2.2.3. Análise estatística

Para comparar a diferença das características dos pães devido à diferença do tempo de fermentação, os dados obtidos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e ao teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando o programa Statistica 5.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Volume específico

Os dados obtidos de volume, peso e volume específico dos pães pré-assados e dos pães reassados cujas massas tiveram diferentes tempos de fermentação estão apresentados na Tabela 1.4. Observa-se que o ponto de fermentação da massa, aqui caracterizado pelo tempo de fermentação influenciou o volume e o volume específico dos pães pré-assados e dos pães reassados.

Para os pães pré-assados, independentemente da formulação, o aumento do tempo para alcançar o estágio 2 de fermentação (t_2) provocou um aumento significativo do volume e do volume específico ($p < 0,05$). Para os pães reassados, o volume e o volume específico também foram maiores para os pães com maior tempo de fermentação, exceto para o pão F03, em que não houve diferença significativa ($p < 0,05$).

Como é esperado, até certo ponto, quanto maior o tempo de fermentação, mais tempo a levedura terá para produzir CO_2 e maior volume específico o pão apresentará. Este aumento de volume acontece até certo ponto, pois chega um momento em que o fermento não terá mais substrato para produzir gás e o pão não terá mais estrutura para reter tal produção de gás. Provavelmente, se tivéssemos analisados os pães com tempo de fermentação muito além do estágio 1, um decréscimo de volume específico poderia ter sido detectado. Ao traçar um gráfico dos dados de volume específico *versus* tempo de fermentação obteríamos provavelmente uma curva hiperbólica com um ponto máximo de volume específico em um tempo ótimo de fermentação.

Observa-se que a formulação influencia o quanto o volume específico dos pães aumenta com o tempo de fermentação. A massa da formulação F04 foi a que apresentou em relação às massas das demais formulações, maior tempo de fermentação para alcançar o estágio 1, e conseqüentemente para alcançar também o estágio 2. Porém, o pão F04 não foi aquele que apresentou maior volume específico. As massas das formulações F02, F05 e F06 apresentaram o mesmo tempo para alcançar o estágio 2 (1,67 h), porém apresentaram diferentes valores de volume específico.

Tabela 1.4: Volume, peso e volume específico dos pães pré-assados e dos pães reassados

Formulações	Tempo de Fermentação (h)		Pão Pré-Assado			Pão Reassado		
			Volume (mL)	Peso (g)	VE (mL/g)	Volume (mL)	Peso (g)	VE (mL/g)
01	t1	1,33	263 ± 6 b	81,24 ± 0,89 a	3,24 ± 0,10 b	250 ± 7 b	80,46 ± 0,37 a	3,11 ± 0,09 b
	t2	1,42	306 ± 6 a	79,95 ± 0,36 a	3,83 ± 0,09 a	281 ± 5 a	79,45 ± 0,34 b	3,54 ± 0,06 a
02	t1	1,17	280 ± 4 b	80,87 ± 0,22 a	3,46 ± 0,05 b	263 ± 5 b	80,46 ± 0,54 a	3,26 ± 0,04 b
	t2	1,67	365 ± 5 a	79,77 ± 0,03 b	4,58 ± 0,06 a	353 ± 9 a	78,18 ± 0,21 b	4,51 ± 0,12 a
03	t1	1,00	278 ± 9 b	80,21 ± 0,45 a	3,46 ± 0,10 b	270 ± 14 a	79,86 ± 0,57 a	3,38 ± 0,20 a
	t2	1,50	305 ± 7 a	79,96 ± 0,59 a	3,81 ± 0,10 a	275 ± 4 a	80,39 ± 0,62 a	3,42 ± 0,07 a
04	t1	1,58	283 ± 5 b	81,36 ± 0,40 a	3,47 ± 0,07 b	268 ± 10 b	81,05 ± 0,76 a	3,30 ± 0,15 b
	t2	1,83	298 ± 5 a	80,19 ± 0,59 b	3,71 ± 0,08 a	305 ± 9 a	79,77 ± 0,56 b	3,82 ± 0,13 a
05	t1	1,42	268 ± 5 b	81,29 ± 0,44 a	3,29 ± 0,05 b	241 ± 6 b	81,05 ± 0,71 a	2,98 ± 0,10 b
	t2	1,67	295 ± 7 a	81,12 ± 1,01 a	3,64 ± 0,09 a	275 ± 10 a	81,41 ± 0,15 a	3,38 ± 0,13 a
06	t1	1,50	258 ± 5 b	79,17 ± 0,18 b	3,25 ± 0,06 b	249 ± 3 b	78,91 ± 0,50 a	3,15 ± 0,05 b
	t2	1,67	310 ± 4 a	80,26 ± 0,51 a	3,86 ± 0,07 a	294 ± 5 a	78,96 ± 0,46 a	3,72 ± 0,06 a

* média ± desvio padrão, n = 4. VE = volume específico, t1 = tempo de fermentação para alcançar estágio 1 e t2 = tempo de fermentação para alcançar estágio 2. Médias seguidas pela mesma letra, na mesma coluna, em uma mesma formulação, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

3.2. Textura: firmeza e elasticidade

Os valores de firmeza e elasticidade dos pães pré-assados e dos pães reassados com diferentes tempos de fermentação estão apresentados na Tabela 1.5 e 1.6, respectivamente.

Observa-se que tanto para os pães pré-assados como para os reassados, os pães com tempo de fermentação para alcançar estágio 1 (t1) apresentaram-se estatisticamente mais firmes do que os pães com tempo de fermentação maior ($p < 0,05$). Este resultado foi obtido provavelmente devido aos pães com tempo de fermentação maior terem crescido mais durante a fermentação, apresentando conseqüentemente maior volume e miolo com alvéolos mais abertos. Esta diferença de estrutura do miolo dos pães está apresentada nas Figuras 1.2 a 1.13.

Com relação à elasticidade, o miolo dos pães com tempo de fermentação para alcançar estágio 1 (t1) apresentou elasticidade menor ou igual ao miolo dos pães com tempo de fermentação para alcançar estágio 2 (t2), tanto para os pães pré-assados como para os reassados. Neste estudo, provavelmente a alveolagem mais aberta tendeu a proporcionar maior elasticidade ao miolo.

Tabela 1.5: Firmeza dos pães pré-assados e dos pães reassados

Formulações	Tempo de Fermentação (h)	Firmeza Pré-Assado (gf)	Firmeza Reassado (gf)
01	t1	1,33	143,85 ± 9,09 a
	t2	1,42	86,53 ± 4,66 b
02	t1	1,17	128,36 ± 8,96 a
	t2	1,67	66,04 ± 3,47 b
03	t1	1,00	139,58 ± 11,09 a
	t2	1,50	86,71 ± 4,06 b
04	t1	1,58	113,63 ± 7,03 a
	t2	1,83	92,59 ± 4,12 b
05	t1	1,42	132,68 ± 9,87 a
	t2	1,67	92,61 ± 4,86 b
06	t1	1,50	158,78 ± 15,30 a
	t2	1,67	87,82 ± 4,09 b

* média ± desvio padrão, n = 14. t1 = tempo de fermentação para alcançar estágio 1 e t2 = tempo de fermentação para alcançar estágio 2. Médias seguidas pela mesma letra, na mesma coluna, em uma mesma formulação, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 1.6: Elasticidade dos pães pré-assados e dos pães reassados

Formulações	Tempo de Fermentação (h)		Elasticidade Pré-Assado	Elasticidade Reassado
01	t1	1,33	49,68 ± 1,17 b	51,52 ± 1,16 a
	t2	1,42	51,04 ± 0,88 a	51,79 ± 1,20 a
02	t1	1,17	50,41 ± 0,77 b	52,66 ± 1,05 a
	t2	1,67	53,20 ± 1,11 a	53,63 ± 1,47 a
03	t1	1,00	50,79 ± 0,56 a	53,34 ± 0,70 a
	t2	1,50	50,41 ± 0,95 a	53,18 ± 1,24 a
04	t1	1,58	50,27 ± 1,18 a	52,31 ± 1,18 a
	t2	1,83	50,58 ± 0,95 a	51,15 ± 1,53 a
05	t1	1,42	51,79 ± 0,65 a	54,40 ± 0,96 a
	t2	1,67	51,66 ± 1,08 a	54,97 ± 0,87 a
06	t1	1,50	52,08 ± 0,87 a	52,68 ± 1,10 b
	t2	1,67	51,34 ± 1,33 a	54,29 ± 0,90 a

* média ± desvio padrão, n = 10. t1 = tempo de fermentação para alcançar estágio 1 e t2 = tempo de fermentação para alcançar estágio 2. Médias seguidas pela mesma letra, na mesma coluna, em uma mesma formulação, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

3.3. Salto de forno

A Tabela 1.7 apresenta os valores da altura da massa antes do forno, da altura do pão logo após o pré-assamento e do salto de forno. Observa-se que, apesar da massa de alguns pães passarem um pouco do estágio em que perdem a resistência ao toque (estágio 2 – t2), a altura da massa antes do forno de algumas formulações não apresentou diferença significativa (p < 0,05) com a massa dos pães que ainda apresentavam resistência ao toque (estágio 1 – t1). Provavelmente estas massas expandiram-se para as demais dimensões (largura e/ ou comprimento) ou não apresentaram estrutura para reter o gás produzido e crescer no sentido vertical. O mesmo ocorreu com a altura do pão após o pré-assamento. Independentemente do tempo de fermentação, os pães não apresentaram diferença estatística de salto de forno (p < 0,05).

Tabela 1.7: Salto de forno dos pães pré-assados

Formulações		Tempo de Fermentação (h)	Altura antes do forno (cm)	Altura depois do forno (cm)	Salto de Forno (cm)
01	t1	1,33	4,98 ± 0,08 b	5,91 ± 0,08 b	0,93 ± 0,11 a
	t2	1,42	5,19 ± 0,13 a	6,37 ± 0,22 a	1,18 ± 0,21 a
02	t1	1,17	4,81 ± 0,09 b	6,19 ± 0,24 a	1,38 ± 0,26 a
	t2	1,67	5,29 ± 0,21 a	6,09 ± 0,27 a	0,80 ± 0,47 a
03	t1	1,00	4,97 ± 0,11 a	6,25 ± 0,31 a	1,28 ± 0,33 a
	t2	1,50	5,09 ± 0,13 a	6,14 ± 0,06 a	1,06 ± 0,14 a
04	t1	1,58	5,02 ± 0,11 a	6,18 ± 0,10 a	1,16 ± 0,15 a
	t2	1,83	5,07 ± 0,06 a	6,15 ± 0,08 a	1,10 ± 0,05 a
05	t1	1,42	4,65 ± 0,13 a	6,13 ± 0,13 b	1,48 ± 0,18 a
	t2	1,67	4,98 ± 0,25 a	6,45 ± 0,15 a	1,47 ± 0,31 a
06	t1	1,50	4,99 ± 0,18 a	5,68 ± 0,21 b	0,69 ± 0,28 a
	t2	1,67	5,08 ± 0,12 a	5,99 ± 0,06 a	0,92 ± 0,06 a

* média ± desvio padrão, n = 4. t1 = tempo de fermentação para alcançar estágio 1 e t2 = tempo de fermentação para alcançar estágio 2. Médias seguidas pela mesma letra, na mesma coluna, em uma mesma formulação, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.4. Formato

As medidas de altura, largura, comprimento e formato dos pães pré-assados estão apresentados na Tabela 1.8. Pelos resultados obtidos observa-se que, apesar dos pães de algumas formulações com diferentes tempos de fermentação não apresentarem diferença significativa quanto à altura, eles apresentaram aumento de largura e/ou do comprimento ($p < 0,05$), o que reflete o aumento de volume dos pães, como apresentado anteriormente (Tabela 1.4). As Figuras 1.2 a 1.13 mostram a tendência de colapso dos pães que apresentaram estas medidas aumentadas (com maior tempo de fermentação). Uma dobra na lateral inferior de alguns pães pode ser observada (indicação das setas). Isto mostra a importância do volume do pão adequado, o que está aliado à formulação, modelagem e tempo de fermentação com relação ao desempenho dos pães pré-assados (ausência de defeitos).

Com relação ao formato, os pães com diferentes tempos de fermentação não apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$). Os pães apresentaram valores, em média, entre 0,75 e 0,82, o que indica um formato que está entre um formato regular e um formato esférico. Ou seja, os pães não apresentaram um formato tendendo ao plano (valor de formato $< 0,5$).

Tabela 1.8: Formato dos pães pré-assados

Formulações	Tempo de Fermentação (h)	Altura depois do forno (cm)	Largura (cm)	Comprimento (cm)	Formato (altura/largura)	
01	t1	1,33	5,91 ± 0,08 b	7,53 ± 0,16 b	10,40 ± 0,13 b	0,78 ± 0,01 a
	t2	1,42	6,37 ± 0,22 a	8,00 ± 0,21 a	11,65 ± 0,20 a	0,80 ± 0,03 a
02	t1	1,17	6,19 ± 0,24 a	7,78 ± 0,02 b	10,13 ± 0,35 b	0,80 ± 0,03 a
	t2	1,67	6,09 ± 0,27 a	8,68 ± 0,22 a	12,08 ± 0,44 a	0,70 ± 0,04 a
03	t1	1,00	6,25 ± 0,31 a	7,65 ± 0,17 a	10,47 ± 0,15 b	0,82 ± 0,06 a
	t2	1,50	6,14 ± 0,06 a	7,78 ± 0,26 a	12,06 ± 0,45 a	0,79 ± 0,02 a
04	t1	1,58	6,18 ± 0,10 a	7,87 ± 0,25 a	10,67 ± 0,20 b	0,79 ± 0,03 a
	t2	1,83	6,15 ± 0,08 a	8,25 ± 0,15 a	11,34 ± 0,13 a	0,75 ± 0,01 a
05	t1	1,42	6,13 ± 0,13 b	7,59 ± 0,10 b	10,53 ± 0,21 b	0,81 ± 0,02 a
	t2	1,67	6,45 ± 0,15 a	8,14 ± 0,23 a	11,38 ± 0,15 a	0,79 ± 0,03 a
06	t1	1,50	5,68 ± 0,21 b	7,64 ± 0,01 b	10,15 ± 0,16 b	0,76 ± 0,01 a
	t2	1,67	5,99 ± 0,06 a	7,81 ± 0,06 a	11,72 ± 0,19 a	0,77 ± 0,01 a

* média ± desvio padrão, n = 4. t1 = tempo de fermentação para alcançar estágio 1 e t2 = tempo de fermentação para alcançar estágio 2. Médias seguidas pela mesma letra, na mesma coluna, em uma mesma formulação, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

3.5. Abertura e pestana

A Tabela 1.9 apresenta os valores de abertura e pestana de pães pré-assados com diferentes tempos de fermentação. O que se observou, de um modo geral, é que a massa dos pães quando passam um pouco do estágio em que perdem a resistência ao toque (estágio 2 – t2) desenvolvem mais volume, mas perdem, conseqüentemente, em abertura e pestana. Como um volume maior já foi alcançado durante a fermentação e a estrutura do pão já foi estressada para reter o gás extra produzido, ao chegar ao forno, o pão parece não ter “força” suficiente para abrir abertura e pestana, apesar de apresentar o mesmo crescimento no forno (igual salto de forno). O corte da superfície da massa depois da fermentação final é uma parte do processamento do pão francês que leva a uma característica do produto. O corte libera o estresse na massa durante o assamento, isto é, aumenta a área de expansão da massa e, após o assamento, dá uma aparência atrativa ao produto (BAARDSETH *et al.*, 2000). A intensidade do aumento de volume durante a fermentação e a perda da abertura de pestana durante o forno como conseqüência parece depender da formulação. O pão da formulação F05, apesar de sua massa perder a resistência ao toque (estágio 2 – t2), ainda conseguiu manter a mesma pestana do pão cuja massa ainda apresentava resistência (estágio 1 - t1). Para todas as demais formulações, os pães perderam pestana ao apresentarem o estágio 2 da

fermentação (pães do t2). Provavelmente, as dosagens adequadas e proporcionais das enzimas hemicelulase e hexose oxidase, na mistura de farinha de trigo utilizada, permitiram o pão da formulação F05 apresentar esta característica.

Tabela 1.9: Abertura e pestana dos pães pré-assados

Formulações	Tempo de Fermentação (h)	Abertura (cm)	Pestana (cm)
01	t1	1,33	2,99 ± 0,26 a
	t2	1,42	2,79 ± 0,26 a
02	t1	1,17	2,65 ± 0,24 a
	t2	1,67	2,03 ± 0,07 b
03	t1	1,00	2,77 ± 0,39 a
	t2	1,50	2,37 ± 0,20 a
04	t1	1,58	3,76 ± 0,31 a
	t2	1,83	2,22 ± 0,07 b
05	t1	1,42	2,90 ± 0,24 a
	t2	1,67	2,99 ± 0,12 a
06	t1	1,50	3,81 ± 0,35 a
	t2	1,67	2,06 ± 0,15 b

* média ± desvio padrão, n = 4. . t1 = tempo de fermentação para alcançar estágio 1 e t2 = tempo de fermentação para alcançar estágio 2. Médias seguidas pela mesma letra, na mesma coluna, em uma mesma formulação, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

3.6. Fotos

As Figuras 1.2 a 1.13, a seguir, apresentam as fotos dos pães pré-assados (sem congelamento) e dos pães reassados (pré-assados, congelados, estocados por 7 dias congelados e reassados) de todas as formulações com os diferentes tempos de fermentação analisados.



Figura 1.2: Pães F01 com tempo de fermentação menor – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo)



Figura 1.3: Pães F01 com tempo de fermentação maior – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo)



Figura 1.4: Pães F02 com tempo de fermentação menor – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).



Figura 1.5: Pães F02 com tempo de fermentação maior – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).



Figura 1.6: Pães F03 com tempo de fermentação menor – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).



Figura 1.7: Pães F03 com tempo de fermentação maior – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).



Figura 1.8: Pães F04 com tempo de fermentação menor – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).



Figura 1.9: Pães F04 com tempo de fermentação maior – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).



Figura 1.10: Pães F05 com tempo de fermentação menor – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).



Figura 1.11: Pães F05 com tempo de fermentação maior – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).



Figura 1.12: Pães F06 com tempo de fermentação menor – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).

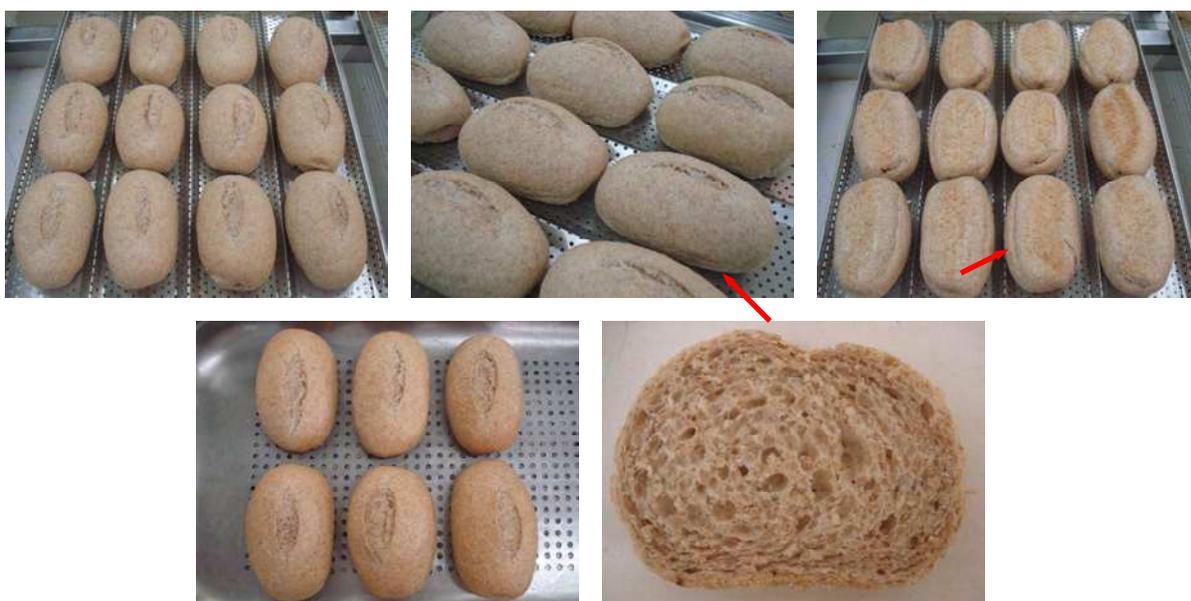


Figura 1.13: Pães F06 com tempo de fermentação maior – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).

4. CONCLUSÃO

Através deste estudo pode-se concluir que o ponto final de fermentação de uma massa influencia várias características do produto final. Dependendo da formulação utilizada, um tempo um pouco maior daquele em que a massa ainda apresenta resistência ao toque pode levar o pão a ganhar volume específico, reduzir a firmeza do miolo, mas por outro lado, reduz a abertura e a pestana, que são atributos de qualidade essenciais ao pão francês. Além disso, os pães passam a apresentar colapso da estrutura. Pães pré-assados e pães reassados foram influenciados da mesma forma em volume específico, firmeza e elasticidade do miolo com a variação do tempo de fermentação. Pães pré-assados com tempos diferentes de fermentação não apresentaram diferença de salto de forno e formato, mas mostraram diferença quanto à susceptibilidade ao colapso. Logo, a inserção da massa no forno no estágio em que a massa ainda apresenta resistência ao toque é um fator crucial para a obtenção de um pão francês pré-assado com boa qualidade, ou seja, sem defeito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC - American Association of Cereal Chemists **Approved methods of the American Association of Cereal Chemists**. 11^a ed. St. Paul: Approved Methods Committee, 2010. Disponível em: <<http://www.aaccnet.org/ApprovedMethods/default.aspx>>. Acesso em: 15 jan. 2010.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists **Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemists**. 16^a ed., 3. rev. Gaithersburg: AOAC International, 1997.

BAARDSETH; P. KVAAL; K.; LEA; P.; ELLEKJAER, M. R.; FARRGESTAD, E. M. The effects of breadmaking process and wheat quality on French baguettes. **Journal of Cereal Science**, v. 32, p. 73–87, 2000.

BODROZA-SOLAROV, M.; FILIPCEV, B.; KEVRESAN, Z.; MANDIC, A.; SIMURINA, O. Quality of bread supplemented with popped amaranthus cruentus grain. **Journal of Food Process Engineering**, v. 31, p. 602–618, 2008.

BRASIL Portaria SVS/MS nº 27, de 13 de janeiro de 1998. Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16 jan 1998. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=97&word=>>>. Acesso em: 18 nov. 2005.

FERREIRA, P. B. M.; WATANABE, E. ; BENASSI, V. T. Estudo do processo de produção de pão francês pré-assado. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 2, p. 91-95, 1999.

LE BAIL, A.; MONTEAU, J. Y.; MARGERIE, F.; LUCAS, T.; CHARGELEGUE, A.; REVERDY, Y. Impact of selected process parameters on crust flaking of frozen partly baked bread. **Journal of Food Engineering**, v. 69, p. 503-509, 2005.

SANGNARK, A.; NOOMHORM, A. Effect of dietary fiber from sugarcane bagasse and sucrose ester on dough and bread properties. **LWT – Food Science and Technology**, v. 37, p. 697-704, 2004.

SHITTU, T. A.; DIXON, A.; AWONORIN, S. O.; SANNI, L. O.; MAZIYA-DIXON, B. Bread from composite cassava–wheat flour. II: Effect of cassava genotype and nitrogen fertilizer on bread quality. **Food Research International**, v. 41, p. 569–578, 2008.

SINELLI, N.; CASIRAGHI, E.; DOWNEY, G. Studies on proofing of yeasted bread dough using near- and mid-infrared spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 922–931, 2008.

SLUIMER, P. **Principles of breadmaking**: functionality of raw materials and process steps. St. Paul: The American Association of Cereal Chemists, Inc., 2005. 212 p.

WIGGINS, C. Proving, baking and cooling. In: CAUVAIN; S. P.; YOUNG, L. S. (Eds.) **Technology of breadmaking**. Gaithersburg: Aspen Publishers, Inc., 1999. 352 p.

Capítulo 2

**Efeito da adição de enzimas na qualidade de pão francês pré-
assado congelado elaborado com a farinha do trigo integral**

RESUMO

Os cereais integrais possuem reconhecidas características nutricionais e funcionais, mas quando incorporados em alimentos, podem interferir no processamento e qualidade do produto final, gerando a necessidade de adequação de formulação. As enzimas são coadjuvantes de tecnologia que podem ajudar a melhorar as propriedades da massa e dos pães quando empregadas em processos de panificação. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição de enzimas na qualidade de pão francês pré-assado congelado elaborado com farinha do trigo integral. Um delineamento composto central rotacional (DCCR) foi empregado utilizando as dosagens das enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase como variáveis independentes. O delineamento incluiu dezessete ensaios: oito pontos fatoriais, seis pontos axiais e três repetições do ponto central. Os resultados foram analisados pela Metodologia de Superfície de Resposta. Os níveis de glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase utilizados foram, respectivamente: 0-150 ppm, 0-450 ppm e 0-150 ppm (base farinha). As variáveis dependentes foram os parâmetros do processo (tempo de mistura rápida e tempo de fermentação) e as características de qualidade dos pães (volume específico, textura do miolo: firmeza e elasticidade, salto de forno, formato, abertura e pestana). As enzimas influenciaram o tempo de fermentação, a firmeza do miolo do pão pré-assado, a diferença de firmeza do miolo entre o pão reassado e o pão pré-assado, o salto de forno, o formato, a abertura e a pestana. Modelos matemáticos para estas variáveis em função das concentrações das diferentes enzimas foram encontrados. Para alguns parâmetros, as enzimas apresentaram efeito de interação. Para o tempo de mistura rápida e o volume específico, não foi possível estabelecer modelos em função das três enzimas estudadas. As superfícies de resposta obtidas pelos modelos para a abertura e pestana ficaram muito similares, mostrando que as enzimas estudadas influenciaram estes dois parâmetros do mesmo modo. Para obtenção de pão francês pré-assado congelado elaborado com farinha do trigo integral possuindo bons atributos de qualidade, a utilização das enzimas dentro das faixas de 30-75 ppm, 91-359 ppm e 30-120 ppm (base farinha) para glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase, respectivamente, é indicada.

Palavras-chave: pão pré-assado, pão francês, glicolipase, hemicelulase, hexose oxidase.

ABSTRACT

Whole grains have known nutritional and functional properties but, when incorporated into foods, may affect processing and final product quality, resulting in the need to adjust formulation. Enzymes are technological aids that can help to improve dough and bread properties when used in bread making processes. The aim of this work was to study the effect of adding enzymes on the quality of frozen part-baked French bread made with whole wheat flour. A central composite rotational design (CCRD) was used, with the percentages of glycolipase, xylanase and hexose oxidase being the independent variables. The design included seventeen trials: eight factorial points, six axial points and three repetitions of the central point. Results were analyzed using the Response Surface Methodology. The levels of glycolipase, xylanase and hexose oxidase used were, respectively: 0-150 ppm, 0-450 ppm and 0-150 ppm (flour basis). The dependent variables were baking process parameters (rapid mixing time and proofing time) and bread quality characteristics (specific volume, crumb texture: firmness and springiness, oven spring, shape, surface opening and cut measurements). Enzymes influenced proofing time, crumb firmness of part-baked bread, the difference between crumb firmness of rebaked and part-baked bread, oven spring, shape, surface opening and cut measurements. Mathematical models for these variables as a function of the concentration of the different enzymes were found. For some parameters, the enzymes showed an interaction effect. For rapid mixing time and specific volume, it was not possible to establish models depending on the three enzymes studied. The response surfaces obtained by the models for the surface opening and cut measurements were very similar, showing that the enzymes studied influenced these two parameters in the same way. For obtaining frozen part-baked French bread made with whole wheat flour having good quality attributes, the use of enzymes within the ranges of 30-75 ppm, 91-359 ppm and 30-120 ppm (flour basis) for glycolipase, xylanase and hexose oxidase, respectively, is indicated.

Key-words: part-baked bread, French bread, glycolipase, xylanase, hexose oxidase

1. INTRODUÇÃO

A indústria de panificação tem sofrido importantes mudanças nas últimas décadas como consequência da mecanização para aumento de produção e demanda de consumo. A mecanização do processo de panificação envolve mudanças na reologia da massa e tecnologias de congelamento que também requerem modificação de formulações (BÁRCENAS *et al.*, 2003). A tecnologia de interrupção do processo de assamento já está estabelecida e existe uma crescente demanda de pães pré-assados congelados, que possuem vida útil prolongada (BÁRCENAS; BENEDITO; ROSELL, 2004).

Apesar do grande sucesso da promoção da alegação saudável dos cereais integrais, é difícil processar alimentos que possuem o requerimento que os levam a possuí-la. De acordo com o FDA, o alimento deve conter 51% de ingredientes do cereal integral para ter a alegação dos cereais integrais descrita no rótulo. Pesquisadores relatam que acima de 25% de ingredientes do cereal integral podem ser adicionados em peso da farinha, mas quantidades mais altas causam problemas tecnológicos (SLAVIN; KRITCHEVSKY, 2002).

Vários aditivos são utilizados para melhorar as propriedades da massa e a qualidade do pão na indústria de panificação (BENEJAM; STEFFOLANI; LEÓN, 2009). Atualmente, as enzimas exercem papel importante na tecnologia de panificação (SHAH; SHAH; MADAMWAR, 2006). Foi demonstrado que a aplicação de enzimas ou emulsificantes ou a aplicação de suas misturas podem melhorar significativamente a qualidade do pão elaborado com farinha do trigo integral (GRAUSGRUBER *et al.*, 2008).

O desenvolvimento de lipases que modificam os galactolipídeos e os fosfolipídeos foi colocado em foco recentemente (POVLSEN; SOE; KAPPELMAN, 2005). A modificação dos principais lipídeos polares pelo uso de enzimas torna possível criar *in-situ* lipídeos mais polares tensoativos na massa do pão (POVLSEN, 2008). Desta forma, as lipases com atividade sobre lipídeos polares são capazes de substituir emulsificantes como éster de ácido tartárico diacetilado com mono e diglicerídeos (Datem) e estearoil 2-lactil lactato de sódio (SSL) em uma ampla faixa de processos de panificação (CHRISTIANSEN *et al.*, 2002). Uma melhor estabilidade da massa e volume específico são obtidos devido ao aumento da polaridade e da atividade de superfície dos lipídeos (POVLSEN, 2008).

A xilanase tem sido utilizada na indústria de panificação para aumentar a estabilidade e flexibilidade da massa e por melhorar o volume e a estrutura do miolo

(COLLINS *et al.*, 2006). A xilanase atua clivando a cadeia das arabinoxilanas, modificando desta forma a funcionalidade dessas (PRIMO-MARTIN *et al.*, 2005). É reconhecido que as arabinoxilanas exercem um papel importante na formação da rede do glúten e da massa. Tem sido informado que arabinoxilanas não extraíveis em água apresentam efeito negativo em panificação, enquanto que as arabinoxilanas extraíveis em água de médio a alto peso molecular têm efeitos benéficos (COURTIN; GELDERS; DELCOUR, 2001; ROUAU; EI-HAYEK; MOREAU, 1994).

A hexose oxidase catalisa a oxidação de mono e dissacarídeos de 6 carbonos às suas correspondentes lactonas, com concomitante redução do oxigênio a peróxido de hidrogênio (HANSEN; STOUGAARD, 1997). Cinco mecanismos dos efeitos das enzimas açúcar-oxidase são relatados na literatura: (i) geração de pontes dissulfídricas entre proteínas (JOYE; LAGRAN; DELCOUR, 2009); (ii) formação de ditirosina (HANFT; KOEHLER, 2005); (iii) bloqueio do efeito da glutatona (FORMAN, 2004); (iv) geleificação das arabinoxilanas solúveis na farinha (FORMAN, 2004; JOYE; LAGRAN; DELCOUR, 2009); e (v) alteração do balanço entre diferentes sistemas enzimáticos presentes na massa (AMEILLE *et al.*, 2000; GARCIA; RAKOTOZAFY; NICOLAS, 2004). O uso de agentes oxidantes em panificação confere vantagens tecnológicas como aumento do volume específico e melhor estrutura de miolo (CAUVAIN, 2001).

Devido ao mecanismo de ação das enzimas, isoladamente ou em suas combinações, ser muito pouco compreendido, uma abordagem integrada que combine a análise química, os experimentos reológicos e ensaios de panificação faz-se necessária para dar respostas às perguntas mais complicadas (WIESER, 2003). Portanto, o objetivo deste trabalho é avaliar, através de um delineamento composto central rotacional, o efeito da adição das enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase na qualidade de pão francês pré-assado congelado elaborado com farinha do trigo integral.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

Todo o material utilizado foi gentilmente doado pelos fornecedores. As farinhas de trigo utilizadas foram a do trigo refinado: Farinha de Trigo Anaconda Tipo 1 (Anaconda, São Paulo, SP, Brasil) e a do trigo integral: Farinha de Trigo Anaconda Integral (Anaconda, São Paulo, SP, Brasil). As características destas farinhas e da mistura utilizada estão apresentadas na Tabela 2.1.

Os demais ingredientes e aditivos utilizados foram: ácido ascórbico (DSM, São Paulo, SP, Brasil), azodicarbonamida (Granotec, Curitiba, PR, Brasil), fermento biológico seco instantâneo massa sal Fleischmann (AB Brasil, Pederneiras, SP, Brasil), glúten vital (Roquette Frères, Lestrem, França), éster de ácido tartárico diacetilado com mono e diglicerídeos Panodan[®] 20 (Danisco, Cotia, SP, Brasil), alfa-amilase fúngica Grindamyl[™] A 500 (Danisco, Cotia, SP, Brasil), glicolipase Grindamyl[®] Powerbake 4100 (Danisco, Cotia, SP, Brasil) e hexose oxidase Grindamyl[™] Sure Bake 900 (Danisco, Cotia, SP, Brasil). A hemicelulase utilizada foi uma mistura de 70% de uma hemicelulase bacteriana livre de inibições Grindamyl[™] Powerbake 7500 (Danisco, Cotia, SP, Brasil) e 30% de uma hemicelulase fúngica Grindamyl[™] H 460 (Danisco, Cotia, SP, Brasil).

2.2. Métodos

2.2.1. Produção dos pães

2.2.1.1. Formulação

A formulação base utilizada neste trabalho está apresentada na Tabela 2.2. A proporção de farinha do trigo refinado e de farinha do trigo integral foi fixada para que o produto final contivesse no mínimo 3 g de fibra alimentar para cada 100 g de pão, ou seja, que fosse fonte de fibras pela legislação brasileira (BRASIL, 1998), conforme cálculo no Anexo I. As enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase foram acrescentadas à formulação de acordo com um delineamento composto central rotacional (Tabela 2.3). Dezessete ensaios foram conduzidos com oito pontos fatoriais (2^3), seis pontos axiais (2×3), e três repetições do ponto central (Tabela 2.4).

Tabela 2.1: Características das farinhas de trigo utilizadas

Parâmetros	Farinha do trigo refinado (FR)	Farinha do trigo integral (FI)	Mistura 60% FI: 40% FR
Granulometria (% retida) - n° 965.22 AOAC (1997)			
14 mesh (1,190 µm)	0,10 ± 0,08	0,04 ± 0,03	0,09 ± 0,01
20 mesh (840 µm)	0,54 ± 0,02	0,74 ± 0,05	0,51 ± 0,01
35 mesh (420 µm)	0,38 ± 0,16	9,74 ± 0,16	7,83 ± 0,07
60 mesh (250 µm)	10,10 ± 4,82	14,83 ± 3,56	14,40 ± 2,43
80 mesh (177 µm)	33,48 ± 5,49	19,16 ± 2,39	23,33 ± 2,72
100 mesh (149 µm)	0,15 ± 0,06	0,52 ± 0,02	0,26 ± 0,04
Fundo (<149 µm)	5,25 ± 0,99	4,97 ± 0,97	3,59 ± 0,18
Composição Centesimal (%)			
Umidade (%) - n° 44-10.01 AACC (2010)	8,21 ± 0,20	7,47 ± 0,22	7,77 ± 0,29
Carboidratos (%)	78,39 ± 0,21	76,72 ± 0,27	77,38 ± 0,34
Proteína (%) - n° 46-13.01 AACC (2010)	11,72 ± 0,04	12,69 ± 0,15	12,31 ± 0,16
Lipídeos (%) - n° 920.39C AOAC (1997)	1,12 ± 0,05	1,57 ± 0,01	1,39 ± 0,05
Cinzas (%) - n° 08-01.01 AACC (2010)	0,56 ± 0,01	1,55 ± 0,04	1,15 ± 0,05
Farinografia - n° 54-21.01 AACC (2010)			
Absorção de água (%)	61,90	67,70	65,00
Tempo de chegada (s)	1,75	5,75	5,25
Tempo de desenvolvimento (s)	9,25	7,75	7,50
Tempo de saída (s)	14,25	12,00	10,25
Estabilidade (s)	12,50	6,25	5,00
Índice de Tolerância (UF)	20	30	60
Extensografia - n° 54-10.01 AACC (2010)			
45 min	R (UE)	360	380
	Rm (UE)	500	400
	E (mm)	170	125
	R/E	2,12	3,04
30 min	R (UE)	480	520
	Rm (UE)	730	550
	E (mm)	170	120
	R/E	2,82	4,33
135 min	R (UE)	460	510
	Rm (UE)	620	540
	E (mm)	155	120
	R/E	2,97	4,25
Atividade diastática (s) - n° 56-81.03 AACC (2010)			
	412 ± 5	355 ± 3	378 ± 6
Teores e Índice de Glúten - n° 38-12.02 AACC (2010)			
Glúten úmido (%)	31,85 ± 0,51	30,70 ± 1,13	31,16 ± 1,24
Glúten seco (%)	10,80 ± 0,26	11,40 ± 0,99	11,16 ± 1,02
Índice de glúten	85,96 ± 3,17	100,00 ± 0	97,38 ± 3,17

Tabela 2.2: Formulação base utilizada para a produção de pão francês

Ingredientes e Aditivos (% base farinha)	
Farinha do trigo refinado	40
Farinha do trigo integral	60
Água	62
Fermento biológico seco instantâneo massa sal	0,8
Sal	2,0
Glúten vital	1,0000
Datem	0,5000
Ácido ascórbico	0,0170
Azodicarbonamida	0,0045
α -amilase fúngica 5000 SKB	0,0200
Glicolipase	*
Hemicelulase	*
Hexose Oxidase	*

*de acordo com o planejamento experimental apresentado na Tabela 2.4.

Tabela 2.3: Variáveis e níveis do planejamento experimental completo 2^3

Variáveis independentes	Níveis				
	- 1,68	- 1	0	+ 1	+ 1,68
Glicolipase (ppm base farinha)	0	30	75	120	150
Hemicelulase (ppm base farinha)	0	91	225	359	450
Hexose Oxidase (ppm base farinha)	0	30	75	120	150

Tabela 2.4: Matriz do planejamento experimental para a adição de glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase à formulação de pão elaborado com farinha do trigo integral

Ensaio	Níveis codificados das variáveis independentes			Níveis não-codificados das variáveis independentes		
	x ₁ (GL)	x ₂ (HM)	x ₃ (HO)	X ₁	X ₂	X ₃
Porção fatorial						
1	-1	-1	-1	30	91	30
2	+1	-1	-1	120	91	30
3	-1	+1	-1	30	359	30
4	+1	+1	-1	120	359	30
5	-1	-1	+1	30	91	120
6	+1	-1	+1	120	91	120
7	-1	+1	+1	30	359	120
8	+1	+1	+1	120	359	120
Pontos axiais						
9	-1,68	0	0	0	225	75
10	+1,68	0	0	150	225	75
11	0	-1,68	0	75	0	75
12	0	+1,68	0	75	450	75
13	0	0	-1,68	75	225	0
14	0	0	+1,68	75	225	150
Pontos centrais						
15	0	0	0	75	225	75
16	0	0	0	75	225	75
17	0	0	0	75	225	75

* x₁, x₂ e x₃ = níveis codificados de glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase; respectivamente. X₁, X₂ e X₃ = níveis não codificados (ppm base farinha) de glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase; respectivamente.

2.2.1.2. Processo

A produção dos pães seguiu o processo de massa direta modificado. Bateladas de 1,8 kg de farinha de trigo foram feitas. Os ingredientes foram misturados em masseira modelo HAE 10 (Hypo, Ferraz de Vasconcelos, Brasil) até que a massa alcançasse o completo desenvolvimento do glúten. O tempo de mistura lenta foi de 5 minutos e o tempo de mistura rápida foi monitorado. A água foi adicionada resfriada ou parte em estado de gelo para que a temperatura final da massa ficasse em $29 \pm 2^\circ\text{C}$. Imediatamente após a mistura, as massas foram divididas em porções de 90 ± 1 g e boleadas. Posteriormente, elas foram colocadas em descanso por 20 minutos. Decorrido este tempo, elas foram moldadas em modeladora modelo HM2 Hp 0,5 (Hypo, Ferraz de Vasconcelos, Brasil) e

deixadas fermentar em câmara de fermentação modelo CCKU 586820-1 (Super Freezer, Poços de Caldas, MG, Brasil) a $30 \pm 3^\circ\text{C}$ e $80 \pm 5\%$ UR até que a massa apresentava ponto máximo de desenvolvimento de volume sem que a resistência ao toque fosse perdida. Como cada formulação continha diferentes quantidades de enzimas, que proporcionaram tolerância diferenciada às massas, o tempo de fermentação foi diferente em cada formulação. Este parâmetro foi monitorado. As massas fermentadas foram pré-assadas em forno de lastro modelo Ipanema IP 4/80 (Haas, Curitiba, Brasil) com injeção de vapor nos primeiros 3 segundos de forneamento e apresentando temperatura de teto $190 \pm 5^\circ\text{C}$ e temperatura de lastro $210 \pm 5^\circ\text{C}$. Quando o centro do pão alcançou 93°C a porta do forno foi aberta e o pré-assamento continuou até que o centro do pão alcançasse 96°C . O tempo de forneamento total foi 11 ± 1 minutos. O monitoramento da temperatura foi realizado através de termopares tipo “T” e com o sistema de aquisição de dados Data Logger modelo 177-T4 (Testo, Lenzkirch, Alemanha). Os pães pré-assados resfriados com o centro a 35°C foram congelados em câmara estática de congelamento de frio mecânico modelo UK 05 (Klimaquip, Pouso Alegre, Brasil), utilizando a convecção do ar forçado à baixa temperatura (-40°C). O processo de congelamento foi encerrado assim que a temperatura do centro do pão alcançou -18°C . O tempo de congelamento foi 50 ± 3 minutos. Após os pães ficarem estocados por 7 dias a -18°C em freezer vertical modelo FFE24 (Eletrolux, Curitiba, PR, Brasil) eles foram reassados em forno combinado eletrônico modelo EC3 Gourmet (Prática Technicook, Pouso Alegre, Brasil) a 180°C por 4 minutos a vapor alto e posteriormente por mais 8 minutos sem vapor.

2.2.2. Avaliação do processo e do produto

O pão pré-assado (sem congelamento) e o pão reassado (pré-assado, congelado, estocado congelado por 7 dias e reassado) foram avaliados. Avaliações do processo também foram realizadas. Os itens a seguir descrevem essas avaliações.

2.2.2.1. Tempo de mistura

O tempo de mistura lenta da masseira foi fixado em 5 min e o tempo de mistura rápida necessário para que a massa alcançasse o completo desenvolvimento do glúten foi monitorado.

2.2.2.2. Tempo de fermentação

O tempo necessário para que a massa alcançasse o ponto final de fermentação também foi monitorado. O tempo de fermentação foi determinado subjetivamente pelo toque da massa. Assim que a massa apresentava ponto máximo de desenvolvimento de volume sem que a resistência ao toque fosse perdida, ela era levada ao forneamento.

2.2.2.3. Volume específico

O volume aparente dos pães foi determinado pelo método de deslocamento de sementes de painço, e a massa, utilizando-se balança semi-analítica. O volume específico dos pães pré-assados e dos pães reassados foi determinado pela relação volume/massa e expresso em mL/g. A determinação do volume específico foi realizada assim que a temperatura do centro do pão atingiu 32°C. A redução de peso, volume e volume específico também foi determinada pela diferença dos valores obtidos entre os pães pré-assados e os pães reassados.

2.2.2.4. Textura: firmeza e elasticidade

A determinação da firmeza do miolo dos pães seguiu o método 74-09.01 da AACC (2010) e para a determinação da elasticidade uma adaptação a este método foi feita segundo Sangnark e Noomhorm (2004). A análise foi realizada em um texturômetro TA-XT2 com carga de 50 kg (Stable Micro Systems, Surrey, Inglaterra) e utilizando a célula sensor probe cilíndrico de alumínio P/25. Este probe foi utilizado para que somente o miolo fosse comprimido. Duas fatias da porção central do pão (1,25 cm cada), obtidas no fatiador modelo RDS 12 (Perfecta, Curitiba, PR, Brasil) foram sobrepostas e dispostas paralelamente à plataforma. A firmeza do pão foi determinada como a força requerida em gramas para comprimir em 25% a amostra. Após a compressão, o probe permaneceu na amostra por 60 segundos para que a elasticidade do miolo fosse avaliada. Ela foi determinada como a taxa entre a força constante durante o tempo de permanência na amostra e a força máxima obtida antes do tempo de permanência. Os parâmetros estabelecidos foram: opção e modo de teste = medida de força em compressão e permanência até o tempo; velocidade pré-teste = 1,0 mm/s; velocidade de teste = 1,7 mm/s; velocidade pós-teste = 10,0 mm/s; distância = 40%; tempo = 60 s, trigger auto = 10 g. Quatorze replicatas foram feitas para cada ensaio.

2.2.2.5. Salto de forno

O salto de forno foi avaliado de acordo com Shittu *et al.* (2008). Ele foi determinado pela diferença da altura da massa no final da fermentação e a altura do pão pré-assado. Utilizou-se um paquímetro para obter as medidas.

2.2.2.6. Formato

A análise de formato dos pães foi realizada de acordo com Bodroza-Solarov *et al.* (2008). Medidas da altura e da largura da fatia central do pão pré-assado foram realizadas com o auxílio de um paquímetro e o formato foi obtido pela relação altura/largura. Relação igual a 0,5 indica um pão de formato regular, uma relação maior que 0,5 indica um formato esférico, enquanto que uma relação baixa indica um formato plano.

2.2.2.7. Abertura e pestana

A abertura e a pestana dos pães pré-assados foram mensuradas com o auxílio de um paquímetro. A abertura dos pães pré-assados foi definida como a distância linear entre os dois lados do corte no centro do pão. A pestana foi definida como a altura linear do descolamento da lateral do pão em relação à superfície no centro do volume em um ângulo de aproximadamente 45° (Figura 2.1).



Figura 2.1: Análise da abertura (à esquerda) e pestana (à direita) dos pães

2.2.2.8. Fotos

Foram tiradas fotos dos pães pré-assados e dos pães reassados com uma câmara fotográfica modelo DSC-W30 (Sony, New York, EUA).

2.2.3. Análise estatística

O experimento fatorial que estuda as variáveis independentes x_1 (glicolipase), x_2 (hemicelulase) e x_3 (hexose oxidase) foi avaliado segundo a metodologia de superfície de resposta utilizando-se o programa Statistica 5.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, EUA), de acordo com Rodrigues e lemma (2005). As respostas ou variáveis dependentes foram:

- ✓ Tempo de mistura rápida
- ✓ Tempo de fermentação
- ✓ Volume do pão pré-assado
- ✓ Peso do pão pré-assado
- ✓ Volume específico do pão pré-assado
- ✓ Volume do pão reassado
- ✓ Peso do pão reassado
- ✓ Volume específico do pão reassado
- ✓ Redução de volume
- ✓ Redução de peso
- ✓ Redução de volume específico
- ✓ Firmeza do pão pré-assado
- ✓ Firmeza do pão reassado
- ✓ Diferença de firmeza
- ✓ Elasticidade do pão pré-assado
- ✓ Elasticidade do pão reassado
- ✓ Diferença de elasticidade
- ✓ Altura antes do forno
- ✓ Altura depois do forno
- ✓ Salto de forno
- ✓ Largura
- ✓ Comprimento
- ✓ Formato
- ✓ Abertura
- ✓ Pestana

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Parâmetros do processo

Os valores obtidos do tempo de mistura rápida e do tempo de fermentação nos ensaios do planejamento experimental estão apresentados na Tabela 2.5.

Para o tempo de mistura rápida, não foi possível estabelecer um modelo em função das três enzimas estudadas. Nenhum efeito linear, quadrático ou de interação entre as variáveis apresentou significância ($p < 0,05$). Isto indica que nenhuma enzima nas condições estudadas teve interferência nesta medida, ou seja, independentemente das quantidades adicionadas de glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase, o tempo de mistura rápido das massas ficou dentro do intervalo do valor médio e seu erro padrão: $5,56 \pm 0,60$ minutos. Estes valores ficaram próximos do valor apresentado pelo tempo de desenvolvimento da massa obtido na análise de farinografia da mistura das farinhas do trigo refinado e do trigo integral (Tabela 2.1).

O tempo de fermentação das massas ficou entre 1,00 e 2,50 horas. As enzimas estudadas influenciaram significativamente ($p < 0,10$) este parâmetro, sendo possível a obtenção de um modelo codificado, abaixo apresentado.

$$\text{Tempo de Fermentação} = 1,55 + 0,18 \text{ HM} + 0,14 \text{ HO}^2 + 0,33 \text{ GL HO} + 0,19 \text{ HM HO} \quad (2.1)$$

$$(r^2 = 0,8049; F_{\text{calc}}/F_{\text{tab}} = 4,99)$$

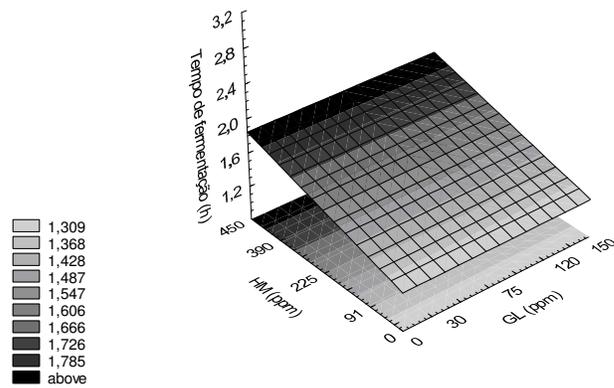
Tabela 2.5: Valores de parâmetros do processo relacionados à adição das enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase

Ensaio	GL	HM	HO	Parâmetros do Processo	
				TMR (min)	TF (h)
1	-1 (30)	-1 (91)	-1 (30)	5,27	1,75
2	+1 (120)	-1 (91)	-1 (30)	5,60	1,33
3	-1 (30)	+1 (359)	-1 (30)	6,77	2,17
4	+1 (120)	+1 (359)	-1 (30)	4,50	1,17
5	-1 (30)	-1 (91)	+1 (120)	5,33	1,00
6	+1 (120)	-1 (91)	+1 (120)	5,93	1,58
7	-1 (30)	+1 (359)	+1 (120)	5,00	1,83
8	+1 (120)	+1 (359)	+1 (120)	6,72	2,50
9	-1,68 (0)	0 (225)	0 (75)	5,00	1,42
10	+1,68 (150)	0 (225)	0 (75)	5,92	1,67
11	0 (75)	-1,68 (0)	0 (75)	5,90	1,50
12	0 (75)	+1,68 (450)	0 (75)	5,43	1,75
13	0 (75)	0 (225)	-1,68 (0)	4,75	1,83
14	0 (75)	0 (225)	+1,68 (150)	5,70	2,08
15	0 (75)	0 (225)	0 (75)	5,45	1,83
16	0 (75)	0 (225)	0 (75)	5,45	1,33
17	0 (75)	0 (225)	0 (75)	5,75	1,42

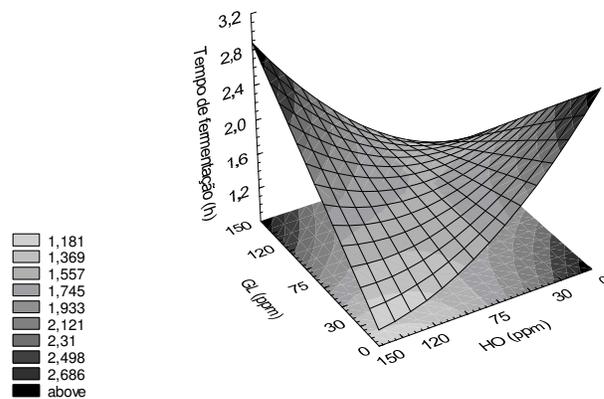
GL = glicolipase; HM = hemicelulase; HO = hexose oxidase; TMR = tempo de mistura rápida; TF = tempo de fermentação. Valores entre parênteses correspondem à quantidade das enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase utilizadas em ppm base farinha (mistura das farinhas do trigo refinado e do trigo integral).

Através das superfícies de resposta obtidas a partir do modelo codificado para o tempo de fermentação (Figura 2.2) observa-se que as enzimas apresentaram interação entre si. A hexose oxidase fornece maiores tempos de fermentação dependendo das concentrações das enzimas glicolipase e hemicelulase. O tempo de fermentação foi maior na presença simultânea de altas concentrações de hemicelulase e hexose oxidase (Figura 2.2 c) ou de altas concentrações de glicolipase e hexose oxidase ou de baixas concentrações de glicolipase e hexose oxidase (Figura 2.2 b). Estando a concentração de hexose oxidase fixa, o aumento da concentração de hemicelulase tendeu a aumentar o tempo de fermentação em qualquer concentração de glicolipase (Figura 2.2 a).

(a)



(b)



(c)

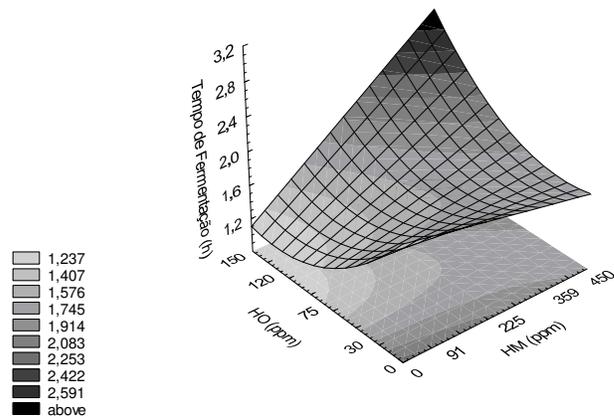


Figura 2.2: Superfícies de resposta para o tempo de fermentação em função: (a) da glicolipase e da hemicelulase; (b) da glicolipase e da hexose oxidase e (c) da hemicelulase e da hexose oxidase, estando a terceira variável fixada no nível 0

3.2. Volume específico

Os valores obtidos do volume, peso e volume específico dos pães pré-assados e dos pães reassados estão apresentados na Tabela 2.6. Para estas variáveis, não foi possível estabelecer modelos em função das três enzimas estudadas. Nenhum efeito linear, quadrático ou de interação entre as variáveis apresentou significância ($p < 0,05$). Isto indica que nenhuma enzima teve interferência nestas medidas, ou seja, independentemente das quantidades adicionadas de glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase, o volume, o peso e o volume específico dos pães pré-assados e dos pães reassados ficou dentro do intervalo do valor médio e seu erro padrão. As informações publicadas sobre volume e volume específico são contraditórias. Alguns autores descrevem um aumento de volume devido a utilização de GL, HM e GO, enquanto outros reportam que não existe mudança significativa no volume do pão devido a estas enzimas.

Pescador-Piedra *et al.* (2009) verificaram que hemicelulase e glicose oxidase utilizadas isoladamente não melhoraram o volume em relação ao pão de forma convencional elaborado com farinha do trigo refinado e sem adição de enzimas. O aumento do volume em relação ao pão padrão só foi alcançado quando hemicelulase e glicose oxidase foram utilizadas conjuntamente. Gandra *et al.* (2008) também verificaram que lipase não influenciou o volume específico de pão de forma convencional elaborado com farelo de trigo. Primo-Martín; Hamer e Jongh (2006) e Stojceska e Ainsworth (2008) verificaram que a hemicelulase e a glicofosfolipase aumentaram o volume específico de pão de forma convencional enriquecido com fibra e de bisnagas crocantes, respectivamente. Moayedallaie, Mirzaei e Paterson (2010) verificaram que a glicofosfolipase aumentou significativamente o volume específico de pão de forma convencional. Gul, Ozer e Zlek (2009) verificaram que a hexose oxidase melhorou o volume de pão convencional elaborado com farelo de trigo. Hilhorst *et al.* (1999) verificaram que a utilização de hemicelulase contribuiu com o aumento do volume específico de bisnaga crocante convencional, enquanto que a glicose oxidase não teve este efeito. Porém, a utilização das duas enzimas juntas proporcionou o mesmo volume do pão que a hemicelulase utilizada isoladamente. Jianga, Le Bail e Wua (2008) verificaram que a adição de hemicelulase aumentou o volume específico (+35,2%) de pão pré-assado congelado.

O peso dos pães pré-assados dos dezessete ensaios foi em média $80,36 \pm 0,71$ g, o volume $292,18 \pm 29,54$ mL e o volume específico $3,63 \pm 0,38$ mL/g. Para os pães reassados, o peso foi em média $79,69 \pm 0,88$ g, o volume $275,35 \pm 26,95$ mL e o volume específico $3,45 \pm 0,36$ mL/g. Comparando com um pão francês branco que pode chegar a apresentar volume específico de 14 mL/g, percebe-se que o volume específico dos pães elaborados com a farinha do trigo integral ficou muito baixo, o que já se esperava devido ao alto teor de farelo e gérmen na composição. Pães elaborados com farinha do trigo integral tendem a ter volume mais baixo do que o pão elaborado com farinha do trigo refinado (BRUCKNER *et al.*, 2001).

Apesar da elevada quantidade de aditivos adicionados, os pães elaborados com a farinha do trigo integral apresentaram-se menos tolerantes à fermentação, o que os impossibilitou de atingir um bom desempenho de volume específico no produto final. Para minimizar este baixo volume específico, as massas foram divididas com um pouco mais de peso do que o convencional de um pão francês (90 g ao invés de 65 g). Esta estratégia já é utilizada atualmente pelas empresas que fazem pães de forma integrais industriais. Uma quantidade maior de massa na forma é empregada para que o pão integral obtenha um volume similar ao de um pão convencional, sem fibras.

Os valores de redução de volume, peso e volume específico que ocorreu entre os pães pré-assados e os pães reassados nos dezessete ensaios do planejamento experimental estão apresentados na Tabela 2.7. As enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase não interferiram significativamente ($p < 0,05$) nestes parâmetros, não sendo possível obter modelos matemáticos que explicassem a variação encontrada em função das três enzimas estudadas.

Em média, no pré-assamento, os pães apresentaram redução de peso de 10,71% e no reassamento 0,84%, o que somou uma redução de peso total, em média, de 11,46% entre a massa e o pão reassado (Tabela 2.7). Esta redução de peso foi menor do que a de um pão francês convencional (branco e sem pré-assamento), a qual fica em torno de 17% e a de um pão francês pré-assado e reassado, a qual fica em torno de 16% (FERREIRA; WATANBE; BENASSI, 1999). A redução de volume dos pães reassados em relação aos pães pré-assados foi em média 5,8% e de volume específico foi 5,0%. Ferreira, Watanabe e Benassi (1999) encontraram 7,5% de redução de volume e 3,9% de redução de volume específico do pão reassado em relação ao pré-assado elaborado com farinha do trigo refinado.

Tabela 2.6: Volume, peso e volume específico dos pães pré-assados e dos pães reassados com relação à adição das enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase

Ensaio	GL	HM	HO	Pão Pré-Assado			Pão Reassado		
				Volume (mL)	Peso (g)	VE (mL/g)	Volume (mL)	Peso (g)	VE(mL/g)
1	-1 (30)	-1 (91)	-1 (30)	344 ± 5	80,24 ± 0,22	4,28 ± 0,05	320 ± 4	78,73 ± 0,40	4,06 ± 0,06
2	+1 (120)	-1 (91)	-1 (30)	263 ± 6	81,24 ± 0,89	3,24 ± 0,10	250 ± 7	80,46 ± 0,37	3,11 ± 0,09
3	-1 (30)	+1 (359)	-1 (30)	332 ± 6	79,31 ± 0,60	4,18 ± 0,09	318 ± 9	78,15 ± 0,86	4,06 ± 0,15
4	+1 (120)	+1 (359)	-1 (30)	280 ± 4	80,87 ± 0,22	3,46 ± 0,05	263 ± 5	80,46 ± 0,54	3,26 ± 0,04
5	-1 (30)	-1 (91)	+1 (120)	278 ± 9	80,21 ± 0,45	3,46 ± 0,10	270 ± 14	79,86 ± 0,57	3,38 ± 0,20
6	+1 (120)	-1 (91)	+1 (120)	283 ± 5	81,36 ± 0,40	3,47 ± 0,07	268 ± 10	81,05 ± 0,76	3,30 ± 0,15
7	-1 (30)	+1 (359)	+1 (120)	317 ± 3	80,47 ± 0,44	3,94 ± 0,06	303 ± 5	79,07 ± 0,38	3,83 ± 0,08
8	+1 (120)	+1 (359)	+1 (120)	359 ± 9	80,41 ± 0,35	4,46 ± 0,10	328 ± 5	79,60 ± 0,42	4,11 ± 0,04
9	-1,68 (0)	0 (225)	0 (75)	268 ± 5	81,29 ± 0,44	3,29 ± 0,05	241 ± 6	81,05 ± 0,71	2,98 ± 0,10
10	+1,68 (150)	0 (225)	0 (75)	283 ± 9	80,89 ± 0,22	3,49 ± 0,10	278 ± 3	80,81 ± 0,18	3,34 ± 0,04
11	0 (75)	-1,68 (0)	0 (75)	258 ± 5	79,17 ± 0,18	3,25 ± 0,06	249 ± 3	78,91 ± 0,50	3,15 ± 0,05
12	0 (75)	+1,68 (450)	0 (75)	283 ± 6	80,78 ± 0,42	3,50 ± 0,08	280 ± 7	79,35 ± 1,20	3,53 ± 0,14
13	0 (75)	0 (225)	-1,68 (0)	276 ± 8	79,62 ± 0,65	3,42 ± 0,05	258 ± 6	79,42 ± 0,95	3,24 ± 0,08
14	0 (75)	0 (225)	+1,68 (150)	262 ± 3	80,52 ± 0,56	3,25 ± 0,01	245 ± 4	80,10 ± 0,78	3,06 ± 0,08
15	0 (75)	0 (225)	0 (75)	296 ± 14	80,16 ± 0,07	3,70 ± 0,18	266 ± 13	79,69 ± 0,43	3,34 ± 0,17
16	0 (75)	0 (225)	0 (75)	303 ± 9	79,10 ± 0,55	3,82 ± 0,13	281 ± 8	78,41 ± 0,42	3,59 ± 0,11
17	0 (75)	0 (225)	0 (75)	282 ± 3	80,49 ± 0,83	3,50 ± 0,06	263 ± 10	79,58 ± 1,22	3,30 ± 0,16

* média ± desvio padrão, n = 4. GL = glicolipase; HM = hemicelulase; HO = hexose oxidase; VE = volume específico. Valores entre parênteses correspondem à quantidade das enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase utilizadas em ppm base farinha (mistura das farinhas do trigo refinado e do trigo integral).

Tabela 2.7: Redução de volume, peso e volume específico entre os pães pré-assados e os pães reassados

Ensaio	GL	HM	HO	Redução de Volume (mL)	Redução de Peso (g)	Redução de Volume Específico (mL/g)
1	-1 (30)	-1 (91)	-1 (30)	24 ± 6	1,51 ± 0,46	0,22 ± 0,08
2	+1 (120)	-1 (91)	-1 (30)	13 ± 9	0,78 ± 0,96	0,13 ± 0,13
3	-1 (30)	+1 (359)	-1 (30)	14 ± 11	1,16 ± 1,05	0,12 ± 0,17
4	+1 (120)	+1 (359)	-1 (30)	17 ± 6	0,41 ± 0,58	0,20 ± 0,06
5	-1 (30)	-1 (91)	+1 (120)	8 ± 17	0,35 ± 0,73	0,08 ± 0,22
6	+1 (120)	-1 (91)	+1 (120)	15 ± 11	0,31 ± 0,86	0,17 ± 0,17
7	-1 (30)	+1 (359)	+1 (120)	14 ± 6	1,40 ± 0,58	0,11 ± 0,10
8	+1 (120)	+1 (359)	+1 (120)	31 ± 10	0,81 ± 0,55	0,35 ± 0,11
9	-1,68 (0)	0 (225)	0 (75)	27 ± 8	0,24 ± 0,84	0,31 ± 0,11
10	+1,68 (150)	0 (225)	0 (75)	5 ± 9	0,08 ± 0,28	0,15 ± 0,11
11	0 (75)	-1,68 (0)	0 (75)	9 ± 6	0,26 ± 0,53	0,10 ± 0,08
12	0 (75)	+1,68 (450)	0 (75)	3 ± 9	1,43 ± 1,27	- 0,03 ± 0,16
13	0 (75)	0 (225)	-1,68 (0)	18 ± 10	0,20 ± 1,15	0,18 ± 0,09
14	0 (75)	0 (225)	+1,68 (150)	17 ± 5	0,42 ± 0,96	0,19 ± 0,08
15	0 (75)	0 (225)	0 (75)	30 ± 19	0,47 ± 0,44	0,36 ± 0,25
16	0 (75)	0 (225)	0 (75)	22 ± 12	0,69 ± 0,69	0,23 ± 0,17
17	0 (75)	0 (225)	0 (75)	19 ± 10	0,91 ± 1,48	0,20 ± 0,17

* média ± desvio padrão, n = 4. GL = glicolipase; HM = hemicelulase; HO = hexose oxidase. Valores entre parênteses correspondem à quantidade das enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase utilizadas em ppm base farinha (mistura das farinhas do trigo refinado e do trigo integral).

Como a farinha do trigo integral possui o farelo que é uma fonte de fibras, a massa consegue absorver uma maior quantidade de água na etapa de mistura e aprisionar uma boa parte desta água durante os processos de forneamento (pré-assamento e reassamento) e congelamento. Esta característica implica em dois fatos. O pão pré-assado passa por dois processos de forneamento e com isso tende a ser mais ressecado e apresentar maior perda de peso do que um pão convencional. A farinha do trigo integral contribui para melhorar estes aspectos de ressecamento e perda de peso por conseguir fazer com que um maior conteúdo de umidade no produto final seja obtido. Mas, por outro lado, o pão pré-assado possui uma estrutura frágil por não possuir uma crosta mais espessa, totalmente formada e tem tendência a colapsar. Uma massa com fibras e com um maior conteúdo de água piora a estrutura do pão. A fibra hidratada é mais um componente da massa que precisa ser sustentada por esta estrutura frágil, fazendo com

que a tendência ao colapso seja maior. Se as condições de formulação e processo não estão bem estabelecidas para contornar este problema, os pães perdem a estrutura facilmente. Neste estudo, os pães não colapsaram porque os parâmetros de processo como modelagem, tempo de fermentação e condições de forneamento foram adaptados para que este problema fosse contornado.

3.3. Textura: firmeza e elasticidade

Os valores da firmeza do miolo dos pães pré-assados e dos pães reassados estão apresentados na Tabela 2.8. A firmeza do miolo dos pães pré-assados ficou em média em $108,34 \pm 27,35$ gf e a dos pães reassados em $105,77 \pm 22,19$ gf.

A firmeza do miolo dos pães pré-assados pode ser explicada matematicamente, através de um modelo codificado, pela variação das três enzimas estudadas (Equação 2.2). Observa-se, pelas superfícies de resposta (Figura 2.3), que fixando-se a concentração de hexose oxidase, o aumento da concentração de hemicelulase contribuiu para aumentar a firmeza, em qualquer concentração de glicolipase (Figura 2.3 a). A hexose oxidase apresentou uma menor interferência na firmeza, mas sua resposta é dependente da concentração de hemicelulase e da glicolipase. Quando a glicolipase ou a hemicelulase estão em concentrações menores, altas concentrações de hexose oxidase tendem a proporcionar miolo mais firme (Figura 2.3 b e c).

Gil *et al.* (1999) observaram que o efeito da hemicelulase ou da mistura de hemicelulase e lipase 1,3-específica na firmeza do miolo de pão de forma convencional não foi claro. Gandra *et al.* (2008) verificaram que a lipase não influenciou a firmeza do miolo de pão de forma convencional elaborado com farelo de trigo. Benejam, Steffolani e León (2009) verificaram que a fosfolipase reduziu a firmeza do miolo de panetones e Stojceska e Ainsworth (2008) verificaram que a glicofosfolipase e hemicelulase reduziram a firmeza de pão de forma convencional enriquecido com fibras. Jianga, Le Bail e Wua (2008) verificaram que a adição de xilanase reduziu a firmeza do miolo (40%) de pão pré-assado congelado.

Os valores da diferença de firmeza entre os pães reassados e os pães pré-assados estão apresentados na Tabela 2.8. Através destes valores foi possível obter um modelo matemático ($p < 0,05$) que explicasse a variação destes valores nos dezessete ensaios do planejamento (Equação 2.3). Observa-se que somente a enzima hemicelulase teve interferência nesta resposta. Através das superfícies de resposta obtidas (Figura 2.4)

verifica-se que em concentrações de hemicelulase acima de aproximadamente 260 ppm (nível codificado 0,26), o miolo dos pães reassados apresentou-se mais firme do que o miolo dos pães pré-assados. Em concentrações menores que 260 ppm a situação se inverteu. Os pães pré-assados apresentaram-se mais firmes que os pães reassados (valores de diferença negativos).

Tabela 2.8: Firmeza dos pães pré-assados e dos pães reassados com relação à adição das enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase

Ensaio	GL	HM	HO	Firmeza Pré-Assado (gf)	Firmeza Reassado (gf)	Diferença (gf)
1	-1 (30)	-1 (91)	-1 (30)	77,32 ± 6,91	67,99 ± 4,51	-9,33 ± 8,25
2	+1 (120)	-1 (91)	-1 (30)	143,85 ± 9,09	133,57 ± 6,70	-10,28 ± 11,29
3	-1 (30)	+1 (359)	-1 (30)	63,69 ± 5,51	69,69 ± 3,34	6,00 ± 6,44
4	+1 (120)	+1 (359)	-1 (30)	128,36 ± 8,96	132,75 ± 7,14	4,39 ± 11,45
5	-1 (30)	-1 (91)	+1 (120)	139,58 ± 11,09	120,82 ± 5,66	-18,76 ± 12,45
6	+1 (120)	-1 (91)	+1 (120)	113,63 ± 7,03	108,70 ± 5,00	-4,93 ± 8,62
7	-1 (30)	+1 (359)	+1 (120)	81,05 ± 6,97	87,86 ± 4,31	6,81 ± 8,19
8	+1 (120)	+1 (359)	+1 (120)	72,98 ± 3,41	83,73 ± 4,88	10,75 ± 5,95
9	-1,68 (0)	0 (225)	0 (75)	132,68 ± 9,87	123,42 ± 6,81	-9,26 ± 11,99
10	+1,68 (150)	0 (225)	0 (75)	97,80 ± 7,67	94,63 ± 2,79	-3,17 ± 8,16
11	0 (75)	-1,68 (0)	0 (75)	158,78 ± 15,30	133,29 ± 5,97	-25,49 ± 16,43
12	0 (75)	+1,68 (450)	0 (75)	86,72 ± 7,69	98,83 ± 5,77	12,11 ± 9,62
13	0 (75)	0 (225)	-1,68 (0)	120,98 ± 7,66	116,16 ± 5,25	-4,82 ± 9,29
14	0 (75)	0 (225)	+1,68 (150)	123,27 ± 11,42	134,13 ± 7,16	10,86 ± 13,48
15	0 (75)	0 (225)	0 (75)	96,12 ± 9,21	96,74 ± 5,94	0,62 ± 10,96
16	0 (75)	0 (225)	0 (75)	98,34 ± 9,70	86,77 ± 3,88	-11,57 ± 10,45
17	0 (75)	0 (225)	0 (75)	106,70 ± 5,09	108,96 ± 6,16	2,26 ± 7,99

* média ± desvio padrão, n = 14. GL = glicolipase; HM = hemicelulase; HO = hexose oxidase. Valores entre parênteses correspondem à quantidade das enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase utilizadas em ppm base farinha (mistura das farinhas do trigo refinado e do trigo integral).

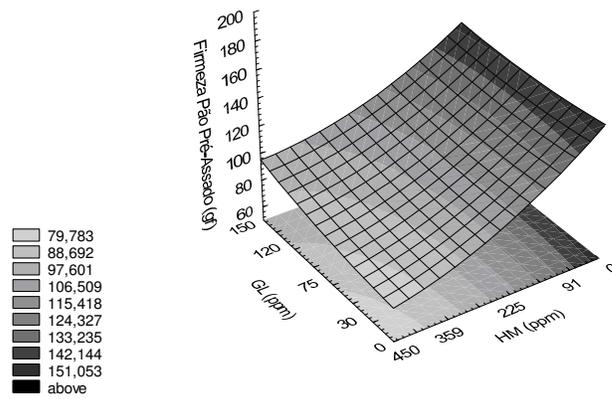
Firmeza do miolo dos pães
pré-assados = 108,34 – 18,27 HM -20,65 GL HO -8,76 HM HO (2.2)

($r^2 = 0,7173$; $F_{\text{calc}}/F_{\text{tab}} = 3,22$)

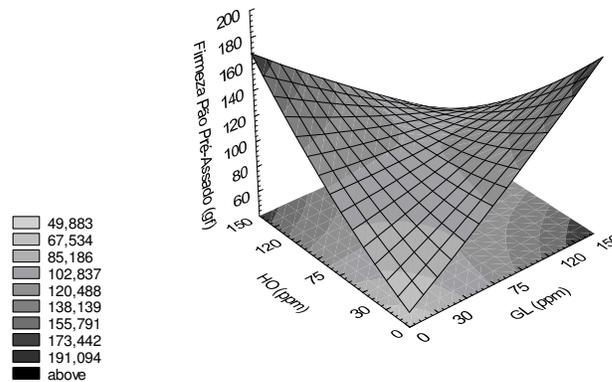
Diferença de Firmeza* = -2,58 + 9,85 HM (2.3)

($r^2 = 0,7173$; $F_{\text{calc}}/F_{\text{tab}} = 8,38$)

(a)



(b)



(c)

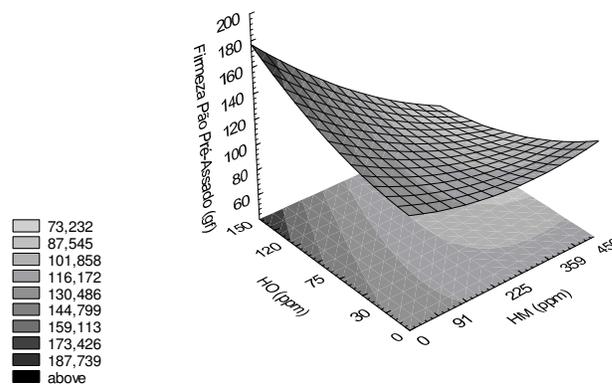
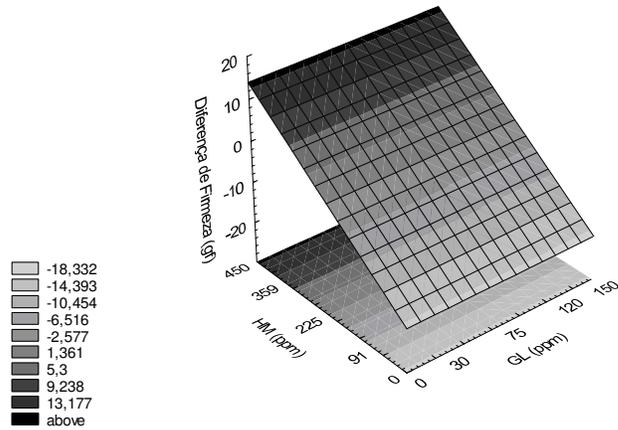
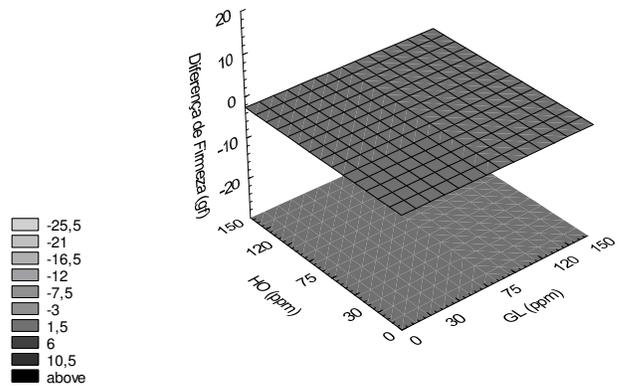


Figura 2.3: Superfícies de resposta para a firmeza dos pães pré-assados em função: (a) da glicolipase e da hemicelulase; (b) da glicolipase e da hexose oxidase e (c) da hemicelulase e da hexose oxidase, estando a terceira variável fixada no nível 0

(a)



(b)



(c)

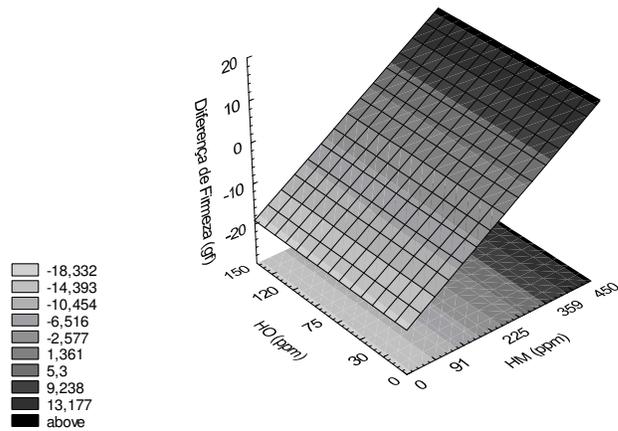


Figura 2.4: Superfícies de resposta para a diferença de firmeza entre os pães reassados e os pães pré-assados em função: (a) da glicolipase e da hemicelulase; (b) da glicolipase e da hexose oxidase e (c) da hemicelulase e da hexose oxidase, estando a terceira variável fixada no nível 0.

Os valores da elasticidade do miolo obtidos para os dezessete ensaios do planejamento experimental apresentaram-se muito próximos entre si, tanto nos pães pré-assados quanto nos pães reassados (Tabela 2.9). Como a diferença entre os valores foi pequena, não foi possível encontrar modelos matemáticos para estas respostas em função da variação das concentrações das três enzimas estudadas. Para os pães pré-assados, o valor médio foi de $50,77 \pm 1,10$ e para os pães reassados $53,04 \pm 0,88$. Gil *et al.* (1999) observaram que o efeito da hemicelulase ou da mistura de hemicelulase e lipase 1,3-específica na elasticidade do miolo de pão de forma convencional não foi claro. Shah, Shah e Madamwar (2006) verificaram que a adição de hemicelulase não afetou a elasticidade do miolo do pão convencional elaborado com farinha do trigo integral, embora uma marginal redução tenha sido observada. Haros, Rosell e Benedito (2002) observaram que hemicelulase não teve efeito significativo na elasticidade do miolo de pão convencional.

Tabela 2.9: Elasticidade dos pães pré-assados e dos pães reassados com relação à adição das enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase

Ensaio	GL	HM	HO	Elasticidade Pré-Assado	Elasticidade Reassado	Diferença
1	-1 (30)	-1 (91)	-1 (30)	$51,65 \pm 1,06$	$52,56 \pm 1,85$	$0,91 \pm 2,13$
2	+1 (120)	-1 (91)	-1 (30)	$49,68 \pm 1,17$	$51,52 \pm 1,16$	$1,84 \pm 1,65$
3	-1 (30)	+1 (359)	-1 (30)	$47,75 \pm 6,15$	$51,75 \pm 1,38$	$4,00 \pm 6,30$
4	+1 (120)	+1 (359)	-1 (30)	$50,41 \pm 0,77$	$52,66 \pm 1,05$	$2,25 \pm 1,30$
5	-1 (30)	-1 (91)	+1 (120)	$50,79 \pm 0,56$	$53,34 \pm 0,70$	$2,55 \pm 0,90$
6	+1 (120)	-1 (91)	+1 (120)	$50,27 \pm 1,18$	$52,31 \pm 1,18$	$2,04 \pm 1,67$
7	-1 (30)	+1 (359)	+1 (120)	$51,99 \pm 1,20$	$53,93 \pm 1,32$	$1,94 \pm 1,78$
8	+1 (120)	+1 (359)	+1 (120)	$51,54 \pm 0,93$	$53,57 \pm 1,09$	$2,03 \pm 1,43$
9	-1,68 (0)	0 (225)	0 (75)	$51,79 \pm 0,65$	$54,40 \pm 0,96$	$2,61 \pm 1,16$
10	+1,68 (150)	0 (225)	0 (75)	$49,83 \pm 2,33$	$52,18 \pm 1,23$	$2,35 \pm 2,63$
11	0 (75)	-1,68 (0)	0 (75)	$52,08 \pm 0,87$	$52,68 \pm 1,10$	$0,60 \pm 1,40$
12	0 (75)	+1,68 (450)	0 (75)	$51,53 \pm 0,79$	$52,46 \pm 1,55$	$0,93 \pm 1,74$
13	0 (75)	0 (225)	-1,68 (0)	$50,70 \pm 1,10$	$54,02 \pm 1,55$	$3,32 \pm 1,90$
14	0 (75)	0 (225)	+1,68 (150)	$50,15 \pm 0,96$	$52,89 \pm 1,00$	$2,74 \pm 1,39$
15	0 (75)	0 (225)	0 (75)	$51,46 \pm 0,97$	$53,23 \pm 0,88$	$1,77 \pm 1,31$
16	0 (75)	0 (225)	0 (75)	$51,38 \pm 0,64$	$54,29 \pm 0,78$	$2,91 \pm 1,01$
17	0 (75)	0 (225)	0 (75)	$50,10 \pm 0,82$	$52,68 \pm 0,97$	$2,58 \pm 1,27$

* média \pm desvio padrão, n = 14. GL = glicolipase; HM = hemicelulase; HO = hexose oxidase. Valores entre parênteses correspondem à quantidade das enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase utilizadas em ppm base farinha (mistura das farinhas do trigo refinado e do trigo integral).

3.4. Salto de forno

Os valores da altura da massa antes do forno e da altura do pão após o pré-assamento estão apresentados na Tabela 2.10. A altura da massa ficou em média $4,96 \pm 0,14$ cm e altura do pão $6,20 \pm 0,21$ cm. A variação dos valores apresentados por estas respostas não puderam ser explicados pela variação da concentração das enzimas estudadas, uma vez que nenhuma delas apresentou interferência significativa a $p < 0,10$. Benejam, Steffolani e León (2009) verificaram que a altura do panetone após o forneamento foi maior quando a fosfolipase foi adicionada à massa, enquanto que a hemicelulase não contribuiu para o aumento deste parâmetro. O desenvolvimento do pão no forno (salto de forno), aqui mensurado através da diferença entre estas alturas, ficou em média $1,24 \pm 0,24$ cm. As enzimas glicolipase e hemicelulase influenciaram o salto de forno dos pães. A variação dos valores desta resposta (Tabela 2.10) foi explicada pela variação da concentração destas enzimas ($p < 0,10$). Pelo modelo matemático obtido (Equação 2.4), verifica-se que a enzima hemicelulase foi a enzima que intensificou a variação desta resposta, seguida pela glicolipase. De acordo com Maat *et al.* (1992), o impacto positivo da hemicelulase no salto de forno é devido à redistribuição da água da fase das pentosanas para a fase do glúten. O aumento no volume do glúten faz que ele fique mais extensível, o que resulta em melhor salto de forno. Shah, Shah e Madamwar (2006) explicam que a massa com hemicelulase possui maior liberação de açúcares fermentescíveis e desta forma há maior taxa de liberação de dióxido de carbono pelas leveduras, o que poderia também levar a um maior salto de forno.

Observou-se que quando a hemicelulase estava nas concentrações centrais (91 a 390 ppm) o salto de forno foi maior e à medida que a concentração desta enzima se aproximou das concentrações extremas (0 e 450 ppm) o salto de forno diminuiu gradativamente, ou seja, a falta ou o excesso de hemicelulase foi prejudicial ao aumento da altura/volume do pão no forno. Concentrações menores de glicolipase favoreceram o salto de forno. Maior salto de forno foi encontrado quando esta enzima estava ausente ou em concentrações menores que 30 ppm. À medida que a concentração de glicolipase aumentava, o salto de forno foi diminuindo gradativamente. A enzima hexose oxidase não influenciou esta resposta. Moayedallaie, Mirzaei e Paterson (2010) verificaram que glicofosfolipase aumentou significativamente o salto de forno de pão de forma convencional.

Para os pães pré-assados costuma-se ver na literatura que um salto de forno alto não é interessante, uma vez que o colapso destes pães acentua-se. Neste estudo, observou-se que a formulação, a modelagem, o ponto final de fermentação e as condições corretas de pré-assamento influenciam muito mais o colapso do que o salto de forno propriamente dito. O salto de forno influenciará o colapso quando alguma destas condições não estiver adequada. Logo, um alto salto de forno é desejável.

Tabela 2.10: Salto de forno dos pães pré-assados com relação à adição das enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase

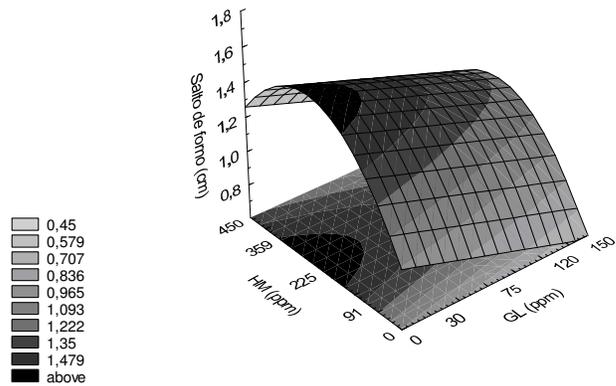
Ensaio	GL	HM	HO	Altura antes do forno (cm)	Altura depois do forno (cm)	Salto de Forno (cm)
1	-1 (30)	-1 (91)	-1 (30)	5,10 ± 0,08	6,37 ± 0,20	1,27 ± 0,22
2	+1 (120)	-1 (91)	-1 (30)	4,98 ± 0,08	5,91 ± 0,08	0,93 ± 0,11
3	-1 (30)	+1 (359)	-1 (30)	5,08 ± 0,15	6,39 ± 0,15	1,31 ± 0,21
4	+1 (120)	+1 (359)	-1 (30)	4,81 ± 0,09	6,19 ± 0,24	1,38 ± 0,26
5	-1 (30)	-1 (91)	+1 (120)	4,97 ± 0,11	6,25 ± 0,31	1,28 ± 0,33
6	+1 (120)	-1 (91)	+1 (120)	5,02 ± 0,11	6,18 ± 0,10	1,16 ± 0,15
7	-1 (30)	+1 (359)	+1 (120)	4,86 ± 0,16	6,37 ± 0,15	1,51 ± 0,22
8	+1 (120)	+1 (359)	+1 (120)	5,17 ± 0,05	6,22 ± 0,21	1,05 ± 0,22
9	-1,68 (0)	0 (225)	0 (75)	4,65 ± 0,13	6,13 ± 0,13	1,48 ± 0,18
10	+1,68 (150)	0 (225)	0 (75)	5,04 ± 0,11	6,12 ± 0,09	1,08 ± 0,14
11	0 (75)	-1,68 (0)	0 (75)	4,99 ± 0,18	5,68 ± 0,21	0,69 ± 0,28
12	0 (75)	+1,68 (450)	0 (75)	5,11 ± 0,13	6,18 ± 0,12	1,07 ± 0,18
13	0 (75)	0 (225)	-1,68 (0)	4,78 ± 0,13	6,19 ± 0,32	1,41 ± 0,35
14	0 (75)	0 (225)	+1,68 (150)	4,91 ± 0,11	5,99 ± 0,11	1,08 ± 0,16
15	0 (75)	0 (225)	0 (75)	5,01 ± 0,16	6,57 ± 0,15	1,56 ± 0,22
16	0 (75)	0 (225)	0 (75)	4,75 ± 0,02	6,22 ± 0,10	1,47 ± 0,10
17	0 (75)	0 (225)	0 (75)	5,02 ± 0,13	6,41 ± 0,14	1,39 ± 0,19

* média ± desvio padrão, n = 4. GL = glicolipase; HM = hemicelulase; HO = hexose oxidase. Valores entre parênteses correspondem à quantidade das enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase utilizadas em ppm base farinha (mistura das farinhas do trigo refinado e do trigo integral).

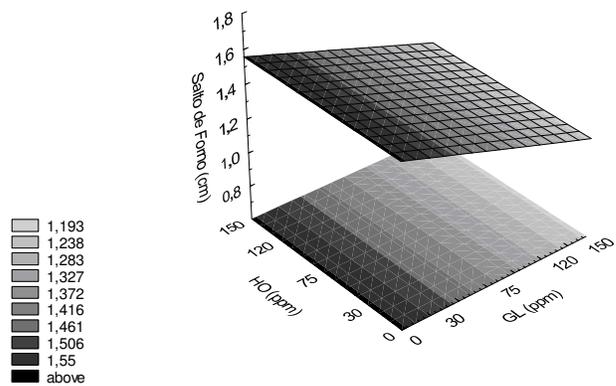
$$\text{Salto de Forno} = 1,37 - 0,11 \text{ GL} + 0,09 \text{ HM} - 0,16 \text{ HM}^2 \quad (2.4)$$

$$(r^2 = 0,7026; F_{\text{calc}}/F_{\text{tab}} = 4,00)$$

(a)



(b)



(c)

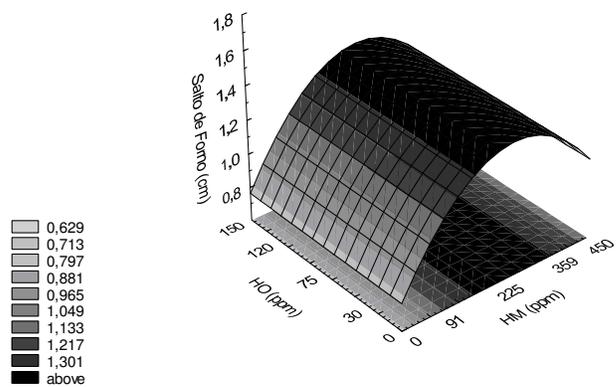


Figura 2.5: Superfícies de resposta para salto de forno em função: (a) da glicolipase e da hemicelulase; (b) da glicolipase e da hexose oxidase e (c) da hemicelulase e da hexose oxidase, estando a terceira variável fixada no nível 0

3.5. Formato

Os valores de largura, comprimento e formato estão apresentados na Tabela 2.11. Os valores médios destes parâmetros apresentados pelos pães do planejamento foram $8,04 \pm 0,39$ cm, $10,87 \pm 0,72$ cm e $0,78 \pm 0,03$ cm, respectivamente.

Para a largura e o comprimento, não foi possível estabelecer modelos em função das três enzimas estudadas. Nenhum efeito linear, quadrático ou de interação entre as variáveis apresentou significância ($p < 0,05$). Isto indica que nenhuma enzima teve interferência nestas medidas, ou seja, independentemente das quantidades adicionadas de glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase, a largura e o comprimento ficaram dentro do intervalo do valor médio e seu erro padrão.

Para o formato foi possível encontrar um modelo matemático que explicasse a variação desta resposta em função da variação da concentração das enzimas estudadas (Equação 2.5). A glicolipase, a hemicelulase e a hexose oxidase tiveram interferência significativa ($p < 0,10$) nesta resposta. Através das superfícies de resposta encontradas (Figura 2.6) observa-se que os pães tenderam mais ao formato arredondado quando a concentração de glicolipase era menor que 30 ppm e de hemicelulase entre 91 e 225 ppm, estando a concentração de hexose oxidase fixa em 75 ppm. Maiores concentrações de hexose oxidase (120 a 150 ppm) favoreceram o formato arredondado. Quanto mais arredondado o pão, menor a tendência dele colapsar-se após o pré-assamento. Caballero, Gómez e Rosell (2007) encontraram que a glicose oxidase e a hemicelulase proporcionaram pães com melhor formato. Hilhorst *et al.* (1999) verificaram que a utilização conjunta de hemicelulase e glicose oxidase em bisnaga crocante convencional proporcionou a ela melhor formato “fundo não plano” do que as enzimas empregadas individualmente.

$$\text{Formato} = 0,79 - 0,01 \text{ GL} - 0,01 \text{ HM} - 0,02 \text{ HM}^2 - 0,02 \text{ GL HO} - 0,01 \text{ HM HO} \quad (2.5)$$

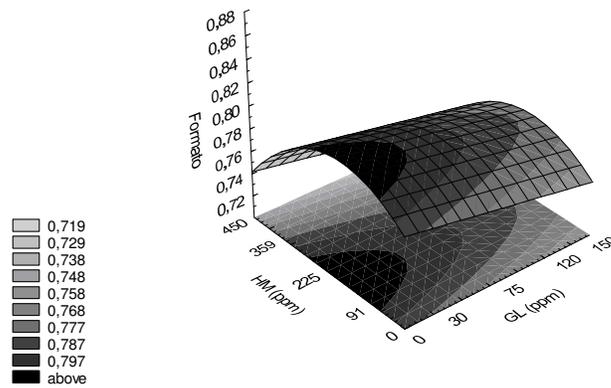
$$(r^2 = 0,7502; F_{\text{calc}}/F_{\text{tab}} = 2,70)$$

Tabela 2.11: Formato dos pães pré-assados com relação à adição das enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase

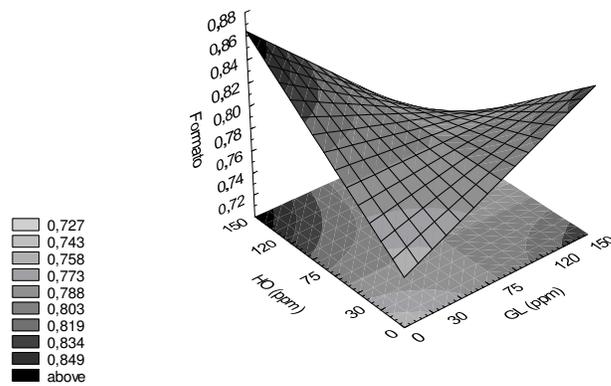
Ensaio	GL	HM	HO	Altura depois do forno (cm)	Largura (cm)	Comprimento (cm)	Formato (altura/largura)
1	-1 (30)	-1 (91)	-1 (30)	6,37 ± 0,20	8,36 ± 0,08	11,73 ± 0,06	0,76 ± 0,02
2	+1 (120)	-1 (91)	-1 (30)	5,91 ± 0,08	7,53 ± 0,16	10,40 ± 0,13	0,78 ± 0,01
3	-1 (30)	+1 (359)	-1 (30)	6,39 ± 0,15	8,56 ± 0,28	11,76 ± 0,40	0,75 ± 0,03
4	+1 (120)	+1 (359)	-1 (30)	6,19 ± 0,24	7,78 ± 0,02	10,13 ± 0,35	0,80 ± 0,03
5	-1 (30)	-1 (91)	+1 (120)	6,25 ± 0,31	7,65 ± 0,17	10,47 ± 0,15	0,82 ± 0,06
6	+1 (120)	-1 (91)	+1 (120)	6,18 ± 0,10	7,87 ± 0,25	10,67 ± 0,20	0,79 ± 0,03
7	-1 (30)	+1 (359)	+1 (120)	6,37 ± 0,15	8,03 ± 0,20	12,22 ± 0,30	0,79 ± 0,03
8	+1 (120)	+1 (359)	+1 (120)	6,22 ± 0,21	8,70 ± 0,08	11,85 ± 0,18	0,72 ± 0,01
9	-1,68 (0)	0 (225)	0 (75)	6,13 ± 0,13	7,59 ± 0,10	10,53 ± 0,21	0,81 ± 0,02
10	+1,68 (150)	0 (225)	0 (75)	6,12 ± 0,09	8,16 ± 0,11	10,96 ± 0,17	0,75 ± 0,02
11	0 (75)	-1,68 (0)	0 (75)	5,68 ± 0,21	7,64 ± 0,01	10,15 ± 0,16	0,76 ± 0,01
12	0 (75)	+1,68 (450)	0 (75)	6,18 ± 0,12	8,61 ± 0,16	10,67 ± 0,22	0,72 ± 0,03
13	0 (75)	0 (225)	-1,68 (0)	6,19 ± 0,32	7,99 ± 0,15	10,41 ± 0,26	0,77 ± 0,04
14	0 (75)	0 (225)	+1,68 (150)	5,99 ± 0,11	7,93 ± 0,14	10,03 ± 0,26	0,76 ± 0,02
15	0 (75)	0 (225)	0 (75)	6,57 ± 0,15	8,36 ± 0,14	10,69 ± 0,18	0,79 ± 0,02
16	0 (75)	0 (225)	0 (75)	6,22 ± 0,10	7,71 ± 0,16	11,87 ± 0,11	0,81 ± 0,02
17	0 (75)	0 (225)	0 (75)	6,41 ± 0,14	7,93 ± 0,05	10,25 ± 1,67	0,81 ± 0,02

* média ± desvio padrão, n = 4. GL = glicolipase; HM = hemicelulase; HO = hexose oxidase. Valores entre parênteses correspondem à quantidade das enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase utilizadas em ppm base farinha (mistura das farinhas do trigo refinado e do trigo integral).

(a)



(b)



(c)

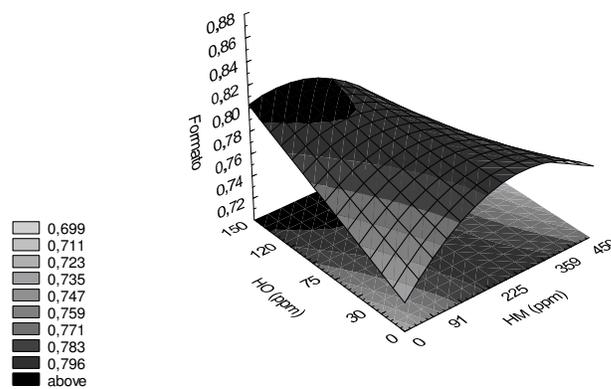


Figura 2.6: Superfícies de resposta para o formato dos pães pré-assados em função: (a) da glicolipase e da hemicelulase; (b) da glicolipase e da hexose oxidase e (c) da hemicelulase e da hexose oxidase, estando a terceira variável fixada no nível 0

3.6. Abertura e pestana

Os valores da abertura e da pestana apresentados pelos pães dos dezessete ensaios do planejamento experimental estão apresentados na Tabela 2.12. Os valores da abertura ficaram entre 2,43 e 3,81 cm e os da pestana ficaram entre 0,72 e 1,54 cm. Apesar de numericamente os números parecerem próximos, estes valores mínimo e máximo refletem uma boa diferença destas características nos pães (Figura 2.7). Nota-se que a abertura e a pestana do ensaio 10 foram pequenas. Rotineiramente, pela linguagem adotada em padaria, diríamos que o pão do ensaio 10 não apresentou abertura de pestana, apesar de termos conseguido quantificá-la em 0,72 cm. O pão do ensaio 14 já apresentou alta abertura e pestana. Na linguagem de padaria, falaríamos que a pestana ficou muito exagerada, grosseira. Portanto, neste estudo obtivemos casos extremos de abertura e de pestana, notando-se que os valores menores e maiores encontrados nos ensaios do planejamento experimental não pertenciam aos pães com abertura e pestana ideais. Os valores intermediários obtidos foram os mais adequados. Outra observação importante a ser realizada é que a abertura encontrada foi diretamente proporcional à pestana. Na Tabela 2.13, são propostos alguns parâmetros para fazermos a análise dos resultados.



Figura 2.7: Exemplo de abertura e pestana

Tabela 2.12: Abertura e pestana dos pães pré-assados com relação à adição das enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase

Ensaio	GL	HM	HO	Abertura (cm)	Pestana (cm)
1	-1 (30)	-1 (91)	-1 (30)	3,02 ± 0,25	1,03 ± 0,18
2	+1 (120)	-1 (91)	-1 (30)	2,99 ± 0,26	1,29 ± 0,10
3	-1 (30)	+1 (359)	-1 (30)	3,30 ± 0,25	1,25 ± 0,13
4	+1 (120)	+1 (359)	-1 (30)	2,65 ± 0,24	0,84 ± 0,06
5	-1 (30)	-1 (91)	+1 (120)	2,77 ± 0,39	1,13 ± 0,05
6	+1 (120)	-1 (91)	+1 (120)	3,76 ± 0,31	1,43 ± 0,11
7	-1 (30)	+1 (359)	+1 (120)	3,22 ± 0,14	1,17 ± 0,14
8	+1 (120)	+1 (359)	+1 (120)	3,25 ± 0,37	1,29 ± 0,17
9	-1,68 (0)	0 (225)	0 (75)	2,90 ± 0,24	1,23 ± 0,15
10	+1,68 (150)	0 (225)	0 (75)	2,43 ± 0,27	0,72 ± 0,03
11	0 (75)	-1,68 (0)	0 (75)	3,81 ± 0,35	1,45 ± 0,10
12	0 (75)	+1,68 (450)	0 (75)	3,53 ± 0,19	1,18 ± 0,26
13	0 (75)	0 (225)	-1,68 (0)	3,40 ± 0,26	1,44 ± 0,14
14	0 (75)	0 (225)	+1,68 (150)	3,77 ± 0,17	1,54 ± 0,09
15	0 (75)	0 (225)	0 (75)	3,33 ± 0,50	1,19 ± 0,05
16	0 (75)	0 (225)	0 (75)	3,14 ± 0,13	1,11 ± 0,13
17	0 (75)	0 (225)	0 (75)	3,21 ± 0,51	1,12 ± 0,16

* média ± desvio padrão, n = 4. GL = glicolipase; HM = hemicelulase; HO = hexose oxidase. Valores entre parênteses correspondem à quantidade das enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase utilizadas em ppm base farinha (mistura das farinhas do trigo refinado e do trigo integral).

Tabela 2.13: Proposta de referência para a análise dos valores de abertura e pestana

Característica	Valor (cm)
Abertura	
Falta	< 2,70
Ideal	2,70 a 3,60
Exagerada	> 3,60
Pestana	
Falta	< 0,90
Ideal	0,90 a 1,30
Exagerada	> 1,30

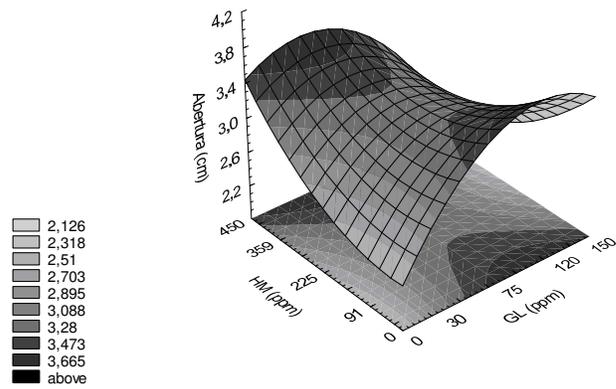
A etapa de modelagem é um dos fatores, além da formulação, que influi muito na abertura e na pestana dos pães. Uma abertura menor do rolo modelador geralmente favorece a abertura e a pestana e, vice-versa. Neste estudo, apesar de utilizarmos uma abertura maior do rolo modelador (modelagem menos apertada), o que desfavoreceria a abertura e a pestana, conseguimos obter bons valores para estes parâmetros. Isto revela uma boa adequação da formulação em relação às características da mistura das farinhas de trigo utilizada. A abertura maior do rolo modelador foi empregada, pois nos pré-testes (resultados não mostrados) observou-se que a abertura menor (modelagem mais apertada, estrutura mais comprimida) favorecia o colapso dos pães após o pré-assamento.

As três enzimas estudadas influenciaram a abertura e a pestana do pão. Pelos valores apresentados pelos pães do planejamento, foi possível obter modelos matemáticos que explicassem a variação dos valores desses parâmetros de acordo com a concentração de glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase utilizada na formulação (Equações 2.6 e 2.7). As superfícies de resposta obtidas através destes modelos para a abertura e a pestana ficaram muito similares (Figuras 2.8 e 2.9), mostrando que as enzimas estudadas influenciaram a abertura e a pestana praticamente do mesmo modo. Este estudo parece sugerir que a abertura é proporcional à pestana e vice-versa.

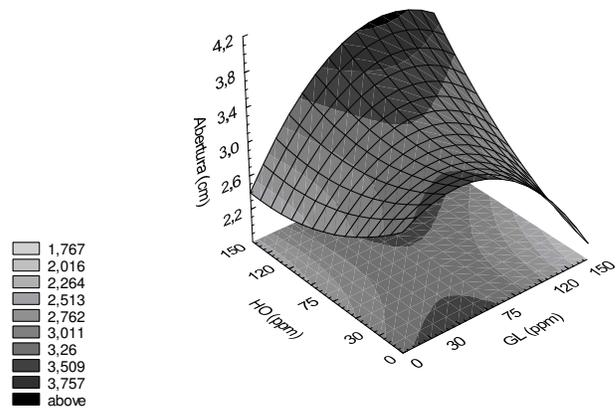
$$\begin{aligned} \text{Abertura} = & 3,24 - 0,24 \text{ GL}^2 + 0,11 \text{ HM}^2 + 0,12 \text{ HO} + 0,08 \text{ HO}^2 - 0,20 \text{ GL HM} + 0,21 \text{ GL} \\ & \text{HO} \\ & (r^2 = 0,8700; F_{\text{calc}}/F_{\text{tab}} = 4,54) \end{aligned} \tag{2.6}$$

$$\begin{aligned} \text{Pestana} = & 1,15 - 0,04 \text{ GL} - 0,08 \text{ GL}^2 - 0,06 \text{ HM} + 0,04 \text{ HM}^2 + 0,06 \text{ HO} + 0,10 \text{ HO}^2 - \\ & 0,11 \text{ GL HM} + 0,07 \text{ GL HO} \\ & (r^2 = 0,7395; F_{\text{calc}}/F_{\text{tab}} = 1,10) \end{aligned} \tag{2.7}$$

(a)



(b)



(c)

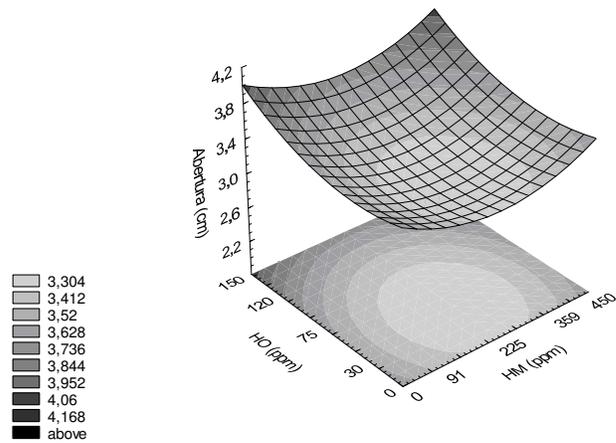
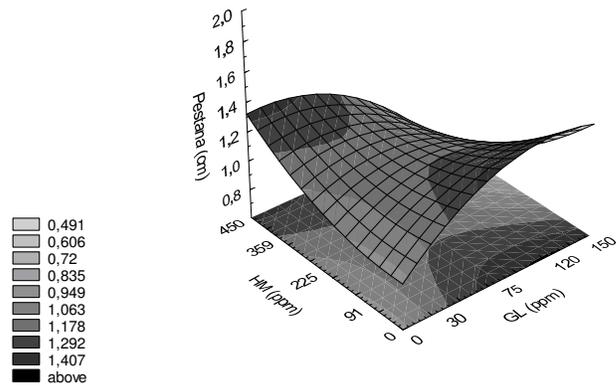
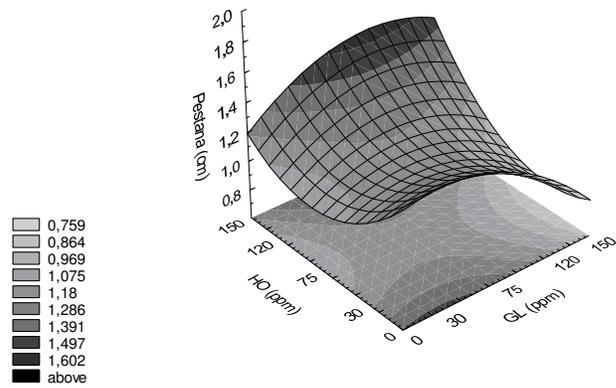


Figura 2.8: Superfícies de resposta para a abertura dos pães pré-assados em função: (a) da glicolipase e da hemicelulase; (b) da glicolipase e da hexose oxidase e (c) da hemicelulase e da hexose oxidase, estando a terceira variável fixada no nível 0

(a)



(b)



(c)

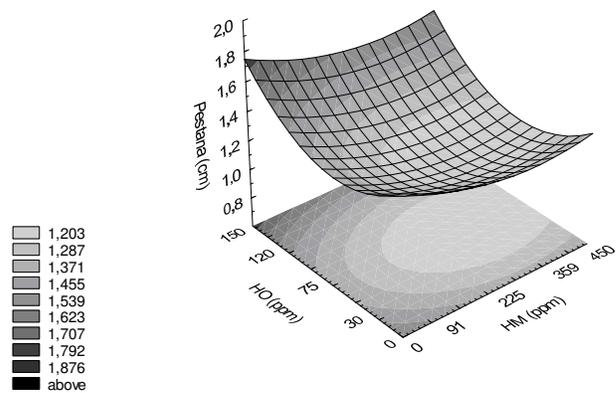


Figura 2.9: Superfícies de resposta para a pestana dos pães pré-assados em função: (a) da glicolipase e da hemicelulase; (b) da glicolipase e da hexose oxidase e (c) da hemicelulase e da hexose oxidase, estando a terceira variável fixada no nível 0

Para a abertura verifica-se que uma região de minimização foi obtida quando a hemicelulase estava entre 91 e 359 ppm e a hexose oxidase entre 0 e aproximadamente 75 ppm. Para a abertura de pestana, esta região se estendeu um pouco mais, ficando minimizada quando a hemicelulase estava entre 91 e 450 ppm e a hexose oxidase entre aproximadamente 30 e 75 ppm. A glicolipase apresentou valores de máximo e mínimo para a abertura e a pestana em toda a faixa estudada (0 a 150 ppm), sendo esta atuação depende da interação da hemicelulase e da hexose oxidase.

3.7. Fotos

As Figuras 2.10 a 2.26, a seguir, apresentam fotos dos pães pré-assados (sem congelamento) e dos pães reassados (pré-assados, congelados, estocados congelados por 7 dias e reassados) de todos os ensaios do planejamento experimental.



Figura 2.10: Pães do ensaio 01 – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).



Figura 2.11: Pães do ensaio 02 – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).



Figura 2.12: Pães do ensaio 03 – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).



Figura 2.13: Pães do ensaio 04 – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).



Figura 2.14: Pães do ensaio 05 – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).



Figura 2.15: Pães do ensaio 06 – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).



Figura 2.16: Pães do ensaio 07 – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).



Figura 2.17: Pães do ensaio 08 – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).



Figura 2.18: Pães do ensaio 09 – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).



Figura 2.19: Pães do ensaio 10 – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).



Figura 2.20: Pães do ensaio 11 – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).



Figura 2.21: Pães do ensaio 12 – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).



Figura 2.22: Pães do ensaio 13 – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).



Figura 2.23: Pães do ensaio 14 – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).



Figura 2.24: Pães do ensaio 15 – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).



Figura 2.25: Pães do ensaio 16 – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).



Figura 2.26: Pães do ensaio 17 – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo).

4. CONCLUSÃO

De um modo geral, os pães obtidos no planejamento experimental apresentaram valores satisfatórios para as respostas avaliadas, não apresentando defeitos comuns aos pães pré-assados, como: colapso, esfrelamento da crosta, miolo com anel branco esbranquiçado e desprendimento da crosta do miolo. Os fatores de sucesso para que o pão francês pré-assado elaborado com a farinha do trigo integral não colapsasse foram: formulação adequada às características da mistura de farinhas de trigo para que os pães possuísem formato arredondado (não lastrasse), modelagem curta e não muito apertada, tempo de fermentação ideal e condições de forneamento (forneamento até o centro do pão alcançar 93°C e retirada de vapor no final do forneamento para que a crosta tivesse um leve ressecamento).

Através deste trabalho verificou-se que as enzimas tiveram desempenho satisfatório sendo possível utilizá-las na formulação de pão pré-assado congelado elaborado com farinha do trigo integral e obter produtos de boa qualidade. As enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase influenciaram os parâmetros como tempo de fermentação, salto de forno, formato, abertura e pestana. Na maioria destes parâmetros,

as três enzimas apresentaram interação entre si, ou seja, a resposta de cada enzima às variações de dosagem foi influenciada pela dosagem das demais.

As características desejadas para um pão francês são boa tolerância à fermentação e ao corte de pestana, bom salto de forno, bom volume específico, formato arredondado e boa abertura e pestana. Pelos resultados obtidos, a utilização conjunta das enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase permitiram obter estas características. As concentrações de 30 a 75 ppm de glicolipase, 91 a 359 ppm de hemicelulase e 30 a 120 ppm de hexose oxidase utilizadas conjuntamente sobre a formulação base utilizada neste estudo são indicadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC - American Association of Cereal Chemists **Approved methods of the American Association of Cereal Chemists**. 11^a ed. St. Paul: Approved Methods Committee, 2010. Disponível em: <<http://www.aaccnet.org/ApprovedMethods/default.aspx>>. Acesso em: 15 jan. 2010.

AMEILLE, V., CASTELLO, P., GARCIA, R., RAKOTOZAFY, L., POTUS, J., NICOLAS, J. Effects of glucose oxidase or lipase addition on dough consistency and oxygen consumption during mixing of unyeasted flour dough. **Sciences Des Aliments**, v. 20, p. 441-455, 2000.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists **Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemists**. 16 ed., 3. rev. Gaithersburg: AOAC International, 1997.

BÁRCENAS, M. E.; BENEDITO, C.; ROSELL, C. M. Use of hydrocolloids as bread improvers in interrupted baking process with frozen storage. **Food Hydrocolloids**, v. 18, p. 769-774, 2004.

BÁRCENAS, M. E.; HAROS, M.; BENEDITO, C.; ROSELL, C. M. Effect of freezing and frozen storage on the staling of part-baked bread. **Food Research International**, v. 36, p. 863-869, 2003.

BENEJAM, W.; STEFFOLANI, M. E.; LEÓN, A. E. Use of enzyme to improve the technological quality of a panettone like baked product. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44, p. 2431-2437, 2009.

BODROZA-SOLAROV, M.; FILIPCEV, B.; KEVRESAN, Z.; MANDIC, A.; SIMURINA, O. Quality of bread supplemented with popped amaranthus cruentus grain. **Journal of Food Process Engineering**, v. 31, p. 602-618, 2008.

BRASIL Portaria SVS/MS nº 27, de 13 de janeiro de 1998. Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16 jan 1998. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=97&word=>>>. Acesso em: 18 nov. 2005.

BRUCKNER, P.L., HABERNICHT, D., CARLSON, G.R., WICHMAN, D.M., TALBERT, L.E. Comparative bread quality of white flour and whole grain flour for hard red spring and winter wheat. **Crop Science**, v. 41, p. 1917-1920, 2001.

CABALLERO, P. A.; GÓMEZ, M.; ROSELL, C. M. Improvement of dough rheology, bread quality and bread shelf-life by enzymes combination **Journal of Food Engineering**, v. 81, p. 42-53, 2007.

CAUVAIN, S. P. Breadmaking. In: OWENS, G. (Ed.). **Cereals processing technology**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited; Boca Raton: CRC Press LLC, 2001. Cap. 10, paginação irregular.

CHRISTIANSEN, L.; HANSEN, H. P. H.; SPENDLER, T.; VIND, J. **Correlating lipase specificity to functionality in baking.** Trabalho apresentado ao AACC Annual Meeting, Montreal, 2002.

COLLINS, T.; HOYOUX, A.; DUTRON, A.; GEORIS, J.; GENOT, B.; DAUVRIN, T.; ARNAUT, F.; GERDAY, C.; FELLER, G. Use of glycoside hydrolase family 8 xylanases in baking. **Journal of Cereal Science**, v. 43, p. 79–84, 2006.

COURTIN, C. M., GELDERS, G. G., DELCOUR, J. A. Use of two endoxylanases with different substrate selectivity for understanding arabinoxylan functionality in wheat flour breadmaking. **Cereal Chemistry**, v. 78, p. 564–571, 2001.

FORMAN, T. Enzymes used in bread baking: an application update. **American Institute of Baking, Technical Bulletin**, v. XXVI, n. 10, p.1-12, 2004.

GANDRA, K. M.; DEL BIANCHI, M.; GODOY, V. P.; QUEIROZ, F. P. C.; STEEL, C. J. Application of lipase and monoglyceride in fiber enriched pan bread. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 182-192, 2008.

GARCIA, R.; RAKOTOZAFY, L.; NICOLAS, J. Analysis and modeling of the ferulic acid oxidation by a glucose oxidase–peroxidase association. comparison with a hexose oxidase–peroxidase association. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 3946–3953, 2004.

GIL, M. J.; CALLEJO, M. J.; RODRÍGUEZ, G.; RUIZ, M. V. Keeping qualities of white pan bread upon storage: effect of selected enzymes on bread firmness and elasticity. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung A-Food Research and Technology**, v. 208, p. 394–399, 1999.

GÜL, H.; ÖZER, M. S.; ZLEK, H. Improvement of the wheat and corn bran bread quality by using glucose oxidase and hexose oxidase. **Journal of Food Quality**, v. 32, p. 209–223, 2009.

GRAUSGRUBER, H.; MIESENBERGER, S.; SCHOENLECHNER, R.; VOLLMANN, J. Influence of dough improvers on whole-grain bread quality of einkorn wheat. **ACTA ALIMENTARIA**, v. 37, p. 379-390, 2008.

HANFT, F.; KOEHLER, P. Quantitation of dityrosine in wheat flour and dough by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 2418–2423, 2005.

HANSEN, O. C.; STOUGAARD, P. Hexose oxidase from the red alga *Chondrus crispus*: purification, molecular cloning, and expression in pichiapastoris. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 272, p. 11581–11587, 1997.

HAROS, M., ROSELL, C.M., BENEDITO, C. Effect of different carbohydrates on fresh bread texture and bread staling. **European Food Research and Technology**, v. 215, p. 425–430, 2002.

HILHORST, R.; DUNNEWIND, B.; ORSEL, R.; STEGEMAN, P.; VAN VLIET, T.; GRUPPEN, H.; SCHOLS, H. A. Baking performance, rheology, and chemical composition of wheat dough and gluten affected by xylanase and oxidative enzymes. **Journal of Food Science**, v. 64, p. 808-813, 1999

JIANGA, Z.; LE BAIL, A.; WUA, A. Effect of the thermostable xylanase B (XynB) from *Thermotoga maritima* on the quality of frozen partially baked bread. **Journal of Cereal Science**, v. 47, p. 172–179, 2008.

JOYE, I. J.; LAGRAIN, B.; DELCOUR, J. A. Use of chemical redox agents and exogenous enzymes to modify the protein network during breadmaking – A review. **Journal of Cereal Science**, v. 50, p. 11–21, 2009.

MAAT, J., ROZA, M., VERBAKEL, J., STEM, H., SANTOS DA SILVA, M. J., BOSSE, M., EGMOND, M. R., HAGEMANS, M. L. D., GORCOM, R. F. M., HESSING, J. G. M., VAN DEN HONDEL, C. A. M. J. J., VAN ROTTERDAM, C. Xylanases and their applications in bakery. In: VISSER, J., BELDMAN, G., AUSTERS-VAN SOMERAN, M. A., VORAGEN, A. G. J. (Eds.). **Xylan and xylanases**. Amsterdam: Elsevier, 1992. p. 349–360.

MOAYEDALLAIE, S.; MIRZAEI, M.; PATERSON, J. Bread improvers: comparison of a range of lipases with a traditional emulsifier. **Food Chemistry**, v. 122, p. 495–499, 2010.

PESCADOR-PIEDRA, J. C.; GARRIDO-CASTRO, A.; CHANONA-PÉREZ, J.; FARRERA-REBOLLO, R.; GUTIÉRREZ-LÓPEZ, G.; CALDERÓN- DOMÍNGUEZ, G. Effect of the addition of mixtures of glucose oxidase, peroxidase and xylanase on rheological and breadmaking properties of wheat flour. **International Journal of Food Properties**, v. 12, p. 748–765, 2009.

POVLSEN, I. L. **Enzymatic modification, isolation and analysis of flour lipids**. Trabalho apresentado ao AACC Annual Meeting, Honolulu, 2008.

POVLSEN, I. L.; SOE, J.; KAPPELMAN, D. **Effect and functionality of lipase with galactolipase activity in dough and bread**. Trabalho apresentado ao AACC Annual Meeting, Orlando, 2005.

PRIMO-MARTÍN; C.; HAMER, R. J.; JONGH, H. H. J. Surface layer properties of dough liquor components: are they key parameters in gas retention in bread dough? **Food Biophysics**, v. 1, p. 83–93, 2006.

PRIMO-MARTIN, C.; WANG, M.; LICHTENDONK, W. J.; PLIJTER, J. J.; HAMER, R. J. An explanation for the combined effect of xylanase–glucose oxidase in dough systems. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, p. 1186–1196, 2005.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos**: uma estratégia seqüencial de planejamentos. Campinas: Casa do Pão, 2005. 326p.

ROUAU, X.; EI-HAYEK, M. L.; MOREAU, D. Effect of an enzyme preparation containing pentosanases on the bread-making quality of flours in relation to changes in pentosan properties. **Journal of Cereal Science**, v. 19, p. 259–272, 1994.

SANGNARK, A.; NOOMHORM, A. Effect of dietary fiber from sugarcane bagasse and sucrose ester on dough and bread properties. **LWT – Food Science and Technology**, v. 37, p. 697-704, 2004.

SHAH, A. R.; SHAH, R. K.; MADAMWAR, D. Improvement of the quality of whole wheat bread by supplementation of xylanase from *Aspergillus foetidus*. **Bioresource Technology**, v. 97, p. 2047–2053, 2006.

SHITTU, T. A.; DIXON, A.; AWONORIN, S. O.; SANNI, L. O.; MAZIYA-DIXON, B. Bread from composite cassava–wheat flour. II: Effect of cassava genotype and nitrogen fertilizer on bread quality. **Food Research International**, v. 41, p. 569–578, 2008.

SLAVIN, J.; KRITCHEVSKY, D. Pass the whole-grain snack food, please. **Food Technology**, v. 56, n. 5, p. 5, 2002

STOJCESKA, V.; AINSWORTH, P. The effect of different enzymes on the quality of high-fibre enriched brewer's spent grain breads. **Food Chemistry**, v. 110, p. 865–872, 2008.

WIESER, H. The use of redox agents. In: CAUVIN, S. P. (Ed.). **Bread making: improving quality**. Cambridge: Woodhead Publishing Ltd; Boca Raton: CRC Press LLC, 2003. Paginação irregular.

**Efeito do tempo de estocagem congelada na qualidade de
pão francês pré-assado congelado elaborado com
farinha do trigo integral**

RESUMO

A condição de estocagem de pães pré-assados pode influenciar as características do produto final. O objetivo deste trabalho foi validar os modelos encontrados no trabalho anterior (Capítulo 2), avaliar o efeito do período de estocagem congelada na qualidade de pão francês pré-assado elaborado com farinha do trigo integral, verificando se pães com diferentes formulações (concentrações diferentes das enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase) apresentariam diferenças neste período. Pães pré-assados com três formulações diferentes, contendo quantidades diferentes de glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase, foram processados. Na primeira parte, para verificar a validação dos modelos matemáticos encontrados no Capítulo 2, avaliações do tempo de mistura, tempo de fermentação e caracterização dos pães quanto ao salto de forno, formato, abertura, pestana, volume específico e textura do miolo (firmeza e elasticidade) foram realizadas. Na segunda parte, para avaliação do tempo de estocagem congelada, os pães foram avaliados com 0, 1, 7, 15, 30 e 65 dias de estocagem congelada quanto ao volume específico, textura (firmeza e elasticidade), umidade, fração de água não congelável, transições térmicas do amido e sensorial (teste de aceitação e intenção de compra) e as diferenças entre formulações foram observadas. Os resultados mostraram que os modelos para tempo de fermentação, salto de forno, formato, abertura e pestana encontrados no trabalho anterior conseguiram predizer os valores experimentais encontrados neste trabalho. O período de estocagem congelada não afetou a elasticidade do miolo, as propriedades da água medidas por DSC, os parâmetros de DSC da transição do complexo amilose-lipídeo e a intenção de compra dos consumidores. O volume específico, a firmeza do miolo, a umidade, a temperatura de transição vítrea, os parâmetros do DSC da fusão da amilopectina retrogradada e a aceitação sensorial foram afetados pelo período de estocagem congelada em algumas formulações, ou seja, a interferência dependeu da presença/ausência ou das quantidades das enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase na formulação dos pães. Portanto, a formulação é um fator que define se os pães pré-assados terão ou não variação de algumas de suas características ao longo do período de estocagem congelada.

Palavras-chave: estocagem, congelamento, pão pré-assado, pão francês, farinha do trigo integral.

ABSTRACT

Storage conditions of part-baked breads may influence the characteristics of the final product. The aim of this work was to validate the models found in previous work (Chapter 2), to evaluate the effect of the period of frozen storage on the quality of part-baked French bread made with whole wheat flour and to check if breads with different formulations (different concentrations of glycolipase, xylanase and hexose oxidase enzymes) would show differences in this period. Partbaked breads from three different formulations containing different amounts of glycolipase, xylanase and hexose oxidase were processed. In the first part, to verify the validation of the mathematical models found in Chapter 2, evaluations of mixing time, proofing time and characterization of bread as to oven spring, shape, surface opening and cut measurements, specific volume and texture (firmness and springiness) were performed. In the second part, to evaluate the period of frozen storage, breads were evaluated with 0, 1, 7, 15, 30 and 65 days of frozen storage as to specific volume, crumb texture (firmness and springiness), moisture, unfreezable water fraction, thermal transitions of starch and sensory test (acceptance and purchase intention) and the differences among formulations were observed. The results showed that the models for proofing time, oven spring, shape, surface opening and cut measurements found in our previous work could predict the experimental values found in this work. The period of frozen storage did not affect crumb springiness, water properties measured by DSC, DSC parameters of the transition of the amylose-lipid complex and purchase intention of consumers. Specific volume, crumb firmness, moisture, temperature of glass transition, DSC melting parameters of retrograded amylopectin and sensory acceptability were affected by the frozen storage period in some formulations, thus, the interference depended on the presence/absence or amount of glycolipase, xylanase and hexose oxidase enzymes in bread formulations. Therefore, the formulation is a factor that determines whether the part-baked breads will undergo or not changes of some of their characteristics throughout the storage period.

Key words: storage, freezing, part-baked bread, French bread, whole wheat flour.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, as tecnologias de interrupção do processo de panificação são vastamente empregadas com o intuito de evitar a perda da aceitação do consumidor associada ao menor frescor do pão (ROSELL; GOMEZ, 2007). Atenção especial deve ser dada às condições de estocagem de pães pré-assados, desde que estas têm papel fundamental na qualidade tecnológica dos pães e seu comportamento durante o envelhecimento (ROSELL; SANTOS, 2010). Os pães após passarem pelo pré-assamento podem ser estocados de quatro maneiras diferentes antes do reassamento: à temperatura ambiente, sob atmosfera modificada, sob refrigeração ou sob congelamento (BÁRCENAS; ROSELL, 2006a; LEUSCHNER; O'CALLAGHAN; ARENDT, 1997; SLUIMER, 2005). A principal diferença que estas condições de estocagem proporcionam aos pães pré-assados é o tempo de vida de prateleira, o qual pode variar desde alguns dias até meses. A estocagem congelada é o processo mais utilizado para a preservação de pães pré-assados. Esta técnica permite estocagem por longos períodos, mas é um processo caro devido ao alto custo de manutenção da cadeia de frio (LAINEZ; VERGARA; BÁRCENAS, 2008).

Vários problemas podem surgir com a estocagem congelada de pães pré-assados sob condições controladas de congelamento por um prolongado período de tempo (RIBOTTA; LE BAIL, 2007). Com o aumento do tempo de estocagem do pão pré-assado, a qualidade do pão pode sofrer mudanças, como a redução do volume específico, a perda do conteúdo de umidade, aumento da dureza do miolo e aroma, resultando na deterioração do produto (BÁRCENAS; BENEDITO; ROSELL, 2004; BÁRCENAS; ROSELL, 2006b; VULICEVIC *et al.*, 2004).

As mudanças mais pronunciadas na qualidade dos pães ocorrem no início do período de estocagem. Uma diferença marcante pode ser notada nos valores dos parâmetros de qualidade dos pães antes de seu congelamento e após uma semana de estocagem. Nas semanas seguintes, mudanças sensoriais e de textura são mínimas. O congelamento, por ele próprio, tem o maior efeito na qualidade do pão, enquanto que o tempo de estocagem, em condições ótimas, afeta-a apenas minimamente (FIK; SURÓWKA, 2002). A umidade (crosta e miolo), a elasticidade e a textura na boca foram os atributos de qualidade mais sensíveis, que foram significativamente deteriorados depois de 4 semanas de estocagem (VULICEVIC *et al.*, 2004). Resultados obtidos do Teste de Diferença de Controle mostraram que os provadores perceberam uma leve

diferença após o terceiro dia entre o pão pré-assado congelado e um fresco (CARR *et al.*, 2006).

O fenômeno de recristalização durante a estocagem, que envolve mudanças no número, tamanho e forma dos cristais de gelo, danificam a estrutura do produto (BÁRCENAS; ROSELL, 2006a). Mesmo sob temperaturas constantes, ocorre o processo no qual cristais pequenos diminuem em tamanho, enquanto cristais grandes aumentam em tamanho. Com o tempo, o número de cristais diminui e o tamanho médio dos mesmos aumenta – em parte, ocorre a reversão do efeito inicial do congelamento rápido (REID, 1983). Resultados da microestrutura, observada por microscopia eletrônica de varredura, indicaram que o dano físico sofrido pelos constituintes do miolo de pães pré-assados durante a estocagem, foi causado pelo crescimento progressivo dos cristais de gelo. Este dano parece ser o principal responsável pela perda de qualidade e maior velocidade da taxa de envelhecimento (BÁRCENAS; ROSELL, 2006b).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do período de estocagem congelada na qualidade de pão francês pré-assado elaborado com farinha do trigo integral, verificando se pães com diferentes formulações (concentrações diferentes das enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase) apresentariam diferenças neste período.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

Todo o material utilizado foi gentilmente doado pelos fornecedores. As farinhas de trigo utilizadas foram a do trigo refinado: Farinha de Trigo Anaconda Tipo 1 (Anaconda, São Paulo, SP, Brasil) e a do trigo integral: Farinha de Trigo Anaconda Integral (Anaconda, São Paulo, SP, Brasil). As características destas farinhas e da mistura utilizada estão apresentadas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1: Características das farinhas de trigo utilizadas

Parâmetros	Farinha do trigo refinado (FR)	Farinha do trigo integral (FI)	Mistura 60% FI: 40% FR
Granulometria (% retida) - n° 965.22 AOAC (1997)			
14 mesh (1,190 µm)	0,10 ± 0,08	0,04 ± 0,03	0,09 ± 0,01
20 mesh (840 µm)	0,54 ± 0,02	0,74 ± 0,05	0,51 ± 0,01
35 mesh (420 µm)	0,38 ± 0,16	9,74 ± 0,16	7,83 ± 0,07
60 mesh (250 µm)	10,10 ± 4,82	14,83 ± 3,56	14,40 ± 2,43
80 mesh (177 µm)	33,48 ± 5,49	19,16 ± 2,39	23,33 ± 2,72
100 mesh (149 µm)	0,15 ± 0,06	0,52 ± 0,02	0,26 ± 0,04
Fundo (<149 µm)	5,25 ± 0,99	4,97 ± 0,97	3,59 ± 0,18
Composição Centesimal (%)			
Umidade (%) - n° 44-10.01 AACC (2010)	8,21 ± 0,20	7,47 ± 0,22	7,77 ± 0,29
Carboidratos (%)	78,39 ± 0,21	76,72 ± 0,27	77,38 ± 0,34
Proteína (%) - n° 46-13.01 AACC (2010)	11,72 ± 0,04	12,69 ± 0,15	12,31 ± 0,16
Lipídeos (%) - n° 920.39C AOAC (1997)	1,12 ± 0,05	1,57 ± 0,01	1,39 ± 0,05
Cinzas (%) - n° 08-01.01 AACC (2010)	0,56 ± 0,01	1,55 ± 0,04	1,15 ± 0,05
Farinografia - n° 54-21.01 AACC (2010)			
Absorção de água (%)	61,90	67,70	65,00
Tempo de chegada (s)	1,75	5,75	5,25
Tempo de desenvolvimento (s)	9,25	7,75	7,50
Tempo de saída (s)	14,25	12,00	10,25
Estabilidade (s)	12,50	6,25	5,00
Índice de Tolerância (UF)	20	30	60
Extensografia - n° 54-10.01 AACC (2010)			
45 min	R (UE)	360	380
	Rm (UE)	500	400
	E (mm)	170	125
	R/E	2,12	3,04
30 min	R (UE)	480	520
	Rm (UE)	730	550
	E (mm)	170	120
	R/E	2,82	4,33
135 min	R (UE)	460	510
	Rm (UE)	620	540
	E (mm)	155	120
	R/E	2,97	4,25
Atividade diastática (s) - n° 56-81.03 AACC (2010)			
	412 ± 5	355 ± 3	378 ± 6
Teores e Índice de Glúten - n° 38-12.02 AACC (2010)			
Glúten úmido (%)	31,85 ± 0,51	30,70 ± 1,13	31,16 ± 1,24
Glúten seco (%)	10,80 ± 0,26	11,40 ± 0,99	11,16 ± 1,02
Índice de glúten	85,96 ± 3,17	100,00 ± 0	97,38 ± 3,17

Os demais ingredientes e aditivos utilizados foram: ácido ascórbico (DSM, São Paulo, SP, Brasil), azodicarbonamida (Granotec, Curitiba, PR, Brasil), fermento biológico seco instantâneo massa sal Fleischmann (AB Brasil, Pederneiras, SP, Brasil), glúten vital (Roquette Frères, Lestrem, França), éster de ácido tartárico diacetilado com mono e diglicerídeos Panodan[®] 20 (Danisco, Cotia, SP, Brasil), alfa-amilase fúngica GrindamyI[™] A 500 (Danisco, Cotia, SP, Brasil), glicolipase GrindamyI[®] Powerbake 4100 (Danisco, Cotia, SP, Brasil) e hexose oxidase GrindamyI[™] Sure Bake 900 (Danisco, Cotia, SP, Brasil). A hemicelulase utilizada foi uma mistura de 70% de uma hemicelulase bacteriana livre de inibições GrindamyI[™] Powerbake 7500 (Danisco, Cotia, SP, Brasil) e 30% de uma hemicelulase fúngica GrindamyI[™] H 460 (Danisco, Cotia, SP, Brasil).

2.2. Métodos

2.2.1. Produção dos pães

2.2.1.1. Formulação

As formulações utilizadas neste trabalho estão apresentadas na Tabela 3.2. A proporção de farinha do trigo refinado e de farinha do trigo integral foi fixada para que o produto final contivesse no mínimo 3 g de fibra alimentar para cada 100 g de pão, ou seja, que fosse fonte de fibras pela legislação brasileira (BRASIL, 1998), conforme cálculo no Anexo I.

Tabela 3.2: Formulações utilizadas na produção de pão francês

Ingredientes e Aditivos (% base farinha)	Formulações		
	F01	F02	F03
Farinha do trigo refinado	40	40	40
Farinha do trigo integral	60	60	60
Água	62	62	62
Fermento biológico seco instantâneo massa sal	0,8	0,8	0,8
Sal	2,0	2,0	2,0
Glúten vital	1,0000	1,0000	1,0000
Datem	0,5000	0,5000	0,5000
Ácido ascórbico	0,0170	0,0170	0,0170
Azodicarbonamida	0,0045	0,0045	0,0045
α -amilase fúngica 5000 SKB	0,0200	0,0200	0,0200
Glicolipase	0,0030	0,0075	---
Hemicelulase	0,0225	0,0225	---
Hexose Oxidase	0,0075	0,0030	---

2.2.1.2. Processo

A produção dos pães seguiu o processo de massa direta modificado. Bateladas de 1,8 kg de farinha de trigo foram feitas. Os ingredientes foram misturados em masseira modelo HAE 10 (Hypo, Ferraz de Vasconcelos, Brasil) até que a massa alcançasse o completo desenvolvimento do glúten. A água foi adicionada resfriada ou parte em estado de gelo para que a temperatura final da massa ficasse entre $29 \pm 2^\circ\text{C}$. O tempo de mistura lenta foi 5 minutos e o tempo de mistura rápida foi $5,40 \pm 0,41$ minutos. Imediatamente após a mistura, as massas foram divididas em porções de 90 ± 1 g e boleadas. Posteriormente, elas foram colocadas em descanso por 20 minutos. Decorrido este tempo, elas foram moldadas em modeladora modelo HM2 Hp 0,5 (Hypo, Ferraz de Vasconcelos, Brasil) e deixadas fermentar em câmara de fermentação modelo CCKU 586820-1 (Super Freezer, Poços de Caldas, Brasil) a $30 \pm 3^\circ\text{C}$ e $80 \pm 5\%$ UR até que alcançassem o máximo volume sem perda de resistência ao toque (avaliação subjetiva). As massas fermentadas foram pré-assadas em forno de lastro modelo Ipanema IP 4/80 (Haas, Curitiba, PR, Brasil) com injeção de vapor nos primeiros 3 segundos de forneamento e apresentando temperatura de teto $190 \pm 5^\circ\text{C}$ e temperatura de lastro $210 \pm 5^\circ\text{C}$. Quando o centro do pão alcançou 93°C , a porta do forno foi aberta e o pré-assamento continuou até que o centro do pão alcançasse 96°C . O tempo de forneamento

total foi 11 ± 1 minutos. O monitoramento da temperatura foi realizado através de termopares tipo “T” e com o sistema de aquisição de dados Data Logger modelo 177-T4 (Testo, Lenzkirch, Alemanha). Os pães pré-assados resfriados com o centro a 35°C foram congelados em câmara estática de congelamento de frio mecânico modelo UK 05 (Klimaquip, Pouso Alegre, Brasil), utilizando a convecção do ar forçado à baixa temperatura (-40°C). O processo de congelamento foi encerrado assim que a temperatura do centro do pão alcançou -18°C . O tempo de congelamento foi 50 ± 3 minutos. Após os pães ficarem estocados por 1, 7, 15, 30 e 65 dias a -18°C em freezer vertical modelo FFE24 (Eletrolux, Curitiba, Brasil) ou não ficarem estocados (0 dia), eles foram reassados em forno combinado eletrônico modelo EC3 Gourmet (Prática Technicook, Pouso Alegre, Brasil) a 180°C por 4 minutos a vapor alto e posteriormente por mais 8 minutos sem vapor.

2.2.2. Avaliação do produto

Parte I: Caracterização dos produtos

O pão pré-assado (sem congelamento) e o pão reassado (pré-assado, congelado, estocado congelado por 7 dias e reassado) foram avaliados. As avaliações a seguir descritas foram realizadas no processo e nos pães com objetivo de caracterizá-los e verificar a validação dos modelos matemáticos encontrados no trabalho anterior (Capítulo 2).

2.2.2.1. Tempo de mistura

O tempo de mistura lenta da masseira foi fixado em 5 min e o tempo de mistura rápida necessário para que a massa alcançasse o completo desenvolvimento do glúten foi monitorado.

2.2.2.2. Tempo de fermentação

O tempo necessário para que a massa alcançasse o ponto final de fermentação também foi monitorado. O tempo ótimo de fermentação foi determinado subjetivamente pelo toque da massa. Assim que a massa apresentava ponto máximo de desenvolvimento de volume sem que a resistência ao toque fosse perdida, ela era levada ao forneamento.

2.2.2.3. Salto de forno

O salto de forno foi avaliado de acordo com Shittu *et al.* (2008). Ele foi determinado pela diferença da altura da massa no final da fermentação e a altura do pão pré-assado. Utilizou-se um paquímetro para obter as medidas.

2.2.2.4. Formato

A análise de formato dos pães foi realizada de acordo com Bodroza-Solarov *et al.* (2008). Medidas da altura e da largura na porção central do volume do pão pré-assado foram realizadas com o auxílio de um paquímetro e o formato foi obtido pela relação altura/largura. Relação igual a 0,5 indica um pão de formato regular, uma relação maior que 0,5 indica um formato esférico, enquanto que uma relação baixa indica um formato plano.

2.2.2.5. Abertura e pestana

A abertura e a pestana dos pães pré-assados foram mensuradas com o auxílio de um paquímetro. A abertura dos pães pré-assados foi definida como a distância linear entre os dois lados do corte no centro do pão. A pestana foi definida como a altura linear do descolamento da lateral do pão em relação à superfície no centro do volume em um ângulo de aproximadamente 45° (Figura 3.1).



Figura 3.1: Análise da abertura (à esquerda) e pestana (à direita) dos pães

2.2.2.6. Volume específico

O volume aparente dos pães foi determinado pelo método de deslocamento de sementes de painço, e a massa, utilizando-se balança semi-analítica. O volume específico dos pães pré-assados e dos pães reassados foi determinado pela relação volume/massa e expresso em mL/g. A determinação do volume específico foi realizada assim que a temperatura do centro do pão atingiu 32 °C.

2.2.2.7. Textura: firmeza e elasticidade

A determinação da firmeza do miolo dos pães seguiu o método 74-09.01 da AACC (2010) e para a determinação da elasticidade uma adaptação a este método foi feita segundo Sangnark e Noomhorm (2004). A análise foi realizada em um texturômetro TA-XT2 com carga de 50 kg (Stable Micro Systems, Surrey, Inglaterra) e utilizando a célula sensor probe cilíndrico de alumínio P/25. Este probe foi utilizado para que somente o miolo fosse comprimido. Duas fatias da porção central do pão (1,25 cm cada), obtidas no fatiador modelo RDS 12 (Perfecta, Curitiba, PR, Brasil) foram sobrepostas e dispostas horizontalmente à plataforma. A firmeza do pão foi determinada como a força requerida em gramas para comprimir em 25% as amostras. Após a compressão, o probe permaneceu na amostra por 60 segundos para que a elasticidade do miolo fosse avaliada. Ela foi determinada como a taxa entre a força constante durante o tempo de permanência na amostra e a força máxima obtida antes do tempo de permanência. Os parâmetros estabelecidos foram: opção e modo de teste = medida de força em compressão e permanência até o tempo; velocidade pré-teste = 1,0 mm/s; velocidade de

teste = 1,7 mm/s; velocidade pós-teste = 10,0 mm/s; distância = 40%; tempo = 60s, trigger auto = 10 g. Oito replicatas foram feitas para cada ensaio.

Parte II: Efeito do período de estocagem congelada

Para avaliar o efeito do período de estocagem, os pães pré-assados congelados foram avaliados quanto à umidade, transição térmica do amido e fração de água não congelável em vários períodos de estocagem congelada (0, 1, 7, 15, 30 e 65 dias). Pães reassados dos pães pré-assados congelados, estocados congelados nos períodos anteriormente descritos, foram avaliados quanto ao volume específico e textura. A análise sensorial foi realizada somente nos pães reassados com 7 e 65 dias de estocagem. A seguir, segue a descrição destas análises. O volume específico e a textura foram determinados de acordo com a descrição nos itens 2.2.2.6. e 2.2.2.7., respectivamente.

2.2.2.8. Umidade do miolo

A umidade do miolo central dos pães foi determinada em triplicata pelo método n°44-10.01 da AACC (2010).

2.2.2.9. Fração de água não congelável

DSC (*differential scanning calorimetry*) foi utilizada para avaliar a fração de água não congelável do pão pré-assado. Cerca de 2,5-3,0 mg de amostra do pão pré-assado congelado foram colocados no recipiente de alumínio. O recipiente foi selado e colocado em um Modulated DSC modelo 2920 (TA Instruments, New Castle, EUA) calibrado com índio. Os recipientes foram submetidos ao equilíbrio de ~25°C até -50°C, mantidos nesta temperatura por 2 minutos e submetidos à taxa de calor de 10 °C/min de -50 °C a 50 °C. Um recipiente vazio foi utilizado como referência. As transições associadas aos processos de cristalização e fusão da água foram caracterizadas pelas temperaturas inicial (T_0) e de pico (T_p) e pela mudança de entalpia (ΔH). A temperatura de transição vítrea também foi caracterizada. Estes parâmetros foram calculados utilizando o software Thermal Advantage for 29XX series versão 1.3 (TA Instruments, New Castle, EUA). A fração de água não congelável, a qual é a fração de água ligada, foi medida como a diferença entre o conteúdo total de água e a fração de água congelável. A fração de água congelável foi

obtida pela relação entre a entalpia total de fusão do gelo e o calor latente de fusão do gelo (334 J/g). A fusão do gelo é detectada como um pico endotérmico em torno de 0 °C, com área proporcional à quantidade de gelo presente (HAMDAMI; MONTEAU; LE BAIL, 2004; RIBOTTA; LE BAIL, 2007). Três replicatas foram realizadas para cada amostra.

$$x_u = x_{tw} - (\Delta H/L) \quad (3.1)$$

onde: x_u = conteúdo de água não congelável (g/g produto)

x_{tw} = conteúdo de água total (g/g produto)

ΔH = entalpia de fusão (J g⁻¹)

L = calor latente de fusão da água a 0 °C (J g⁻¹)

2.2.2.10. Transições térmicas do amido

DSC (*differential scanning calorimetry*) foi utilizada para avaliar as transições físicas que ocorrem com o amido durante os diferentes tempos de estocagem. DSC em excesso de água (amostra:água, 1:2) foi realizada em amostras liofilizadas dos pães pré-pressados que foram moídas e passadas através de peneira de 32 mesh. Cerca de 2,5-3,0 mg de amostra foram colocados no recipiente de alumínio e água deionizada foi adicionada com o auxílio de uma micropipeta. O recipiente foi selado e deixado descansar durante a noite para o equilíbrio de umidade na amostra. O recipiente foi colocado em um Modulated DSC modelo 2920 (TA Instruments, New Castle, EUA) calibrado com índio. Os recipientes foram submetidos à taxa de calor de 10 °C/min de 20 °C a 120 °C. Um recipiente vazio foi utilizado como referência. As transições foram caracterizadas pelas temperaturas inicial (T_0) e de pico (T_p) e pela mudança de entalpia (ΔH) associada aos processos de fusão da amilopectina retrogradada e à transição do complexo amilose-lipídeo. Estes parâmetros foram calculados utilizando o software Thermal Advantage for 29XX series versão 1.3 (TA Instruments, New Castle, EUA). Três replicatas foram realizadas para cada amostra.

2.2.2.11. Avaliação sensorial: teste de aceitação e intenção de compra

A avaliação sensorial dos pães reassados foi realizada por 60 provadores não treinados, que possuíam frequência de consumo de pães integrais. Eles apresentavam faixa etária de 16-57 anos, sendo 70,29% deles do sexo feminino e 29,46% do sexo masculino. Um perfil dos provadores de acordo com a frequência de consumo de pães integrais foi traçado. Na primeira etapa da análise sensorial, os pães foram apresentados inteiros e os provadores avaliaram visualmente aparência, volume, formato, cor e avaliação global. Na segunda etapa, uma fatia dos pães foi dada para degustação e os provadores avaliaram a cor, aroma, sabor, textura e avaliação global. As amostras foram avaliadas utilizando uma escala hedônica de 9 pontos (STONE; SIDEL, 1993), sendo os extremos de valor 1 atribuído ao termo hedônico “desgostei extremamente” e de valor 9 atribuído ao termo “gostei extremamente”. Os provadores também expressaram sua intenção de compra dos pães e das fatias, em uma escala de 5 pontos, sendo os extremos de valor 1 atribuído ao termo “certamente não compraria” e de valor 5 atribuído ao termo “certamente compraria”. Os provadores analisaram as amostras em cabines individuais, sob luz branca. As três amostras dos pães e as três amostras das fatias foram apresentadas aleatoriamente e em referência monádica.

2.2.2.12. Fotos

Foram tiradas fotos dos pães pré-assados e dos pães reassados com uma câmara fotográfica modelo DSC-W30 (Sony, New York, EUA).

2.2.3. Análise estatística

Para comparar a diferença das características dos pães devido à formulação e devido à diferença do tempo de estocagem congelada, os dados obtidos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e ao teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando o programa Statistica 5.0 (StatSoft Inc., Tulsa, EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Parte I: Caracterização dos produtos

A Tabela 3.3 apresenta os valores experimentais e os valores preditos pelos modelos matemáticos encontrados no Capítulo 2 para parâmetros do processo e diversas características dos pães pré-assados e reassados. Observa-se que os valores experimentais para o salto de forno foram muito próximos dos valores preditos pelo modelo. Para o tempo de fermentação, o formato, a abertura e a pestana os valores também ficaram muito próximos para os pães F01 e F02. Os valores experimentais do pão F03 (sem adição das enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase), como esperado, por tratar-se de um ponto extremo da área estudada, apresentou um desvio maior em relação aos valores preditos nestes parâmetros. Valores experimentais não tão próximos aos valores preditos foram encontrados para a firmeza do miolo do pão pré-assado e a diferença de firmeza do miolo entre o pão reassado e o pão pré-assado. Algum erro experimental pode ter acarretado essa diferença. Com relação às características dos pães, observa-se que os pães F03 apresentaram valores bem menores de salto de forno, abertura e pestana em relação aos pães F01 e F02, o que demonstra que as enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase ajudaram a realçar estas características nos pães.

Tabela 3.3: Valores experimentais e valores preditos pelos modelos codificados das características dos pães pré-assados, congelados, estocados congelados e reassados apresentadas no Capítulo 2

Parâmetros	Valores experimentais			Valores preditos pelos modelos codificados		
	F01	F02	F03	F01	F02	F03
Tempo de mistura rápida (min)	5,77	5,50	5,50	---	---	---
Tempo de fermentação (h)	1,67	1,58	2,00	1,55	1,69	3,11
Volume específico pré-assado (mL/g)	3,17 ± 0,01	3,51 ± 0,15	3,27 ± 0,12	---	---	---
Volume específico reassado* (mL/g)	2,81 ± 0,14	3,09 ± 0,27	2,97 ± 0,08	---	---	---
Redução volume específico (mL/g)	-0,36 ± 0,14	-0,42 ± 0,31	-0,31 ± 0,14	---	---	---
Firmeza pré-assado (gf)	175,67 ± 12,01	149,62 ± 10,34	130,61 ± 12,46	108,34	108,34	56,03
Firmeza reassado* (gf)	132,72 ± 8,93	118,82 ± 5,64	112,07 ± 8,16	---	---	---
Diferença de firmeza (gf)	-42,95 ± 14,97	-30,80 ± 11,78	-18,54 ± 14,89	-2,58	-2,58	-19,13
Elasticidade pré-assado	48,35 ± 1,25	48,57 ± 1,04	50,71 ± 2,44	---	---	---
Elasticidade reassado*	53,77 ± 0,79	52,62 ± 1,55	54,96 ± 1,99	---	---	---
Diferença de elasticidade	5,42 ± 1,48	4,05 ± 1,86	4,25 ± 3,15	---	---	---
Altura antes do forno (cm)	4,66 ± 0,15	4,88 ± 0,19	5,17 ± 0,10	---	---	---
Altura depois do forno (cm)	6,13 ± 0,19	6,25 ± 0,10	6,11 ± 0,13	---	---	---
Salto de Forno (cm)	1,47 ± 0,26	1,37 ± 0,16	0,95 ± 0,16	1,48	1,37	0,95
Largura (cm)	7,88 ± 0,24	7,81 ± 0,16	7,50 ± 0,20	---	---	---
Comprimento (cm)	10,04 ± 0,27	10,15 ± 0,36	10,30 ± 0,38	---	---	---
Formato (altura/largura)	0,79 ± 0,04	0,80 ± 0,01	0,82 ± 0,03	0,80	0,79	0,68
Abertura (cm)	2,79 ± 0,11	2,72 ± 0,25	1,44 ± 0,20	3,00	3,20	2,93
Pestana (cm)	1,12 ± 0,08	1,21 ± 0,12	0,63 ± 0,11	1,11	1,19	1,27

* pão reassado com 7 dias de estocagem congelada.

** média ± desvio padrão, n = 4 a 8. F01 corresponde aos pontos (x1=-1, x2=0, x3=0), F02 ao (x1=0, x2=0, x3=-1) e F03 a (x1=-1,68, x2=-1,68, x3=-1,68) nos modelos encontrados onde x1 = valor codificado da dosagem de glicolipase, x2 = valor codificado da dosagem de hemicelulase e x3 = valor codificado da dosagem de hexose-oxidase.

Parte II: Diferença do período de estocagem congelada

3.1. Volume específico

O peso, o volume e o volume específico dos pães pré-assados e dos pães reassados com diferentes períodos de estocagem congelada das três formulações estão apresentados na Tabela 3.4. Observa-se que, em uma mesma formulação, os pães reassados em qualquer período de estocagem congelada não perderam peso em relação ao pão pré-assado sem congelamento. Os pães pré-assados podem perder água nas etapas de congelamento e de estocagem congelada. No entanto, como a avaliação do período de estocagem foi feita através do pão reassado, este fato não pode ser observado devido à aplicação de vapor durante alguns minutos na etapa de reassamento dos pães. O peso dos pães reassados não apresentou diferença significativa ao longo do período de estocagem congelada, exceto o peso do pão da F01, com 65 dias de estocagem, que foi estatisticamente inferior ao dos pães com 0 e 7 dias de estocagem congelada.

O volume dos pães reassados com os diferentes períodos de estocagem congelada não apresentaram diferença estatística entre si, exceto o pão reassado da F03, com 65 dias de estocagem, que apresentou volume estatisticamente maior aos dos pães com 1, 7 e 15 dias de estocagem. Logo, não observada uma retração da estrutura dos pães, a qual poderia ter sido causada pela perda de água dos mesmos durante a estocagem congelada.

Com relação ao volume específico, para uma mesma formulação, não houve diferença estatística ao longo do período de estocagem, exceto para os pães da F03 cujo volume específico com 65 dias de estocagem congelada foi estatisticamente maior aos dos pães com 1, 7 e 15 dias de estocagem congelada. Os pães pré-assados sem congelamento e os pães reassados sem estocagem congelada (0 dia) não apresentaram diferença estatística quanto ao volume específico.

Tabela 3.4: Peso, volume e volume específico dos pães pré-assados e dos pães reassados com vários períodos de estocagem congelada

	Pré-assados	Pré-Assados, Congelados, Estocados Congelados por 0, 1, 7, 15, 30 e 65 dias e Reassados					
		0 dia	1 dia	7 dias	15 dias	30 dias	65 dias
Peso (g)							
F01	82,43 ± 0,57 aAB	82,90 ± 0,50 aA	82,42 ± 0,72 aAB	82,95 ± 0,66 aA	82,50 ± 0,21 aAB	82,06 ± 0,40 aAB	81,32 ± 0,70 aB
F02	82,09 ± 0,14 aA	80,76 ± 0,51 bA	81,89 ± 1,04 aA	81,94 ± 0,86 aA	80,86 ± 0,94 bA	81,33 ± 1,06 aA	80,81 ± 0,60 aA
F03	80,94 ± 0,24 bA	80,72 ± 0,90 bA	81,34 ± 0,81 aA	81,44 ± 1,07 aA	81,28 ± 0,28 abA	81,17 ± 0,29 aA	80,01 ± 0,17 aA
Volume (mL)							
F01	262 ± 3 bA	243 ± 3 aAB	232 ± 10 aB	233 ± 10 aB	235 ± 5 bB	235 ± 5 aB	242 ± 8 bB
F02	288 ± 12 aA	255 ± 5 aB	252 ± 10 aB	253 ± 20 aB	248 ± 3 aB	257 ± 15 aAB	255 ± 5 a bB
F03	265 ± 9 bA	253 ± 8 aAB	242 ± 3 aB	242 ± 6 aB	238 ± 3 bB	250 ± 9 aAB	260 ± 5 aA
VE (mL/g)							
F01	3,17 ± 0,01 bA	2,94 ± 0,04 bAB	2,81 ± 0,13 aB	2,81 ± 0,14 aB	2,85 ± 0,06 bB	2,86 ± 0,07 aB	2,97 ± 0,11 bAB
F02	3,51 ± 0,15 aA	3,16 ± 0,06 aA	3,07 ± 0,16 aA	3,09 ± 0,27 aA	3,07 ± 0,07 aA	3,16 ± 0,22 aA	3,16 ± 0,06 abA
F03	3,27 ± 0,12 abA	3,14 ± 0,12 abAB	2,97 ± 0,02 aB	2,97 ± 0,08 aB	2,93 ± 0,05 abB	3,08 ± 0,10 aAB	3,25 ± 0,06 aA

* média ± desvio padrão, n = 3. VE = volume específico. Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na mesma coluna, em um mesmo parâmetro de avaliação, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05). Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

Bárcenas *et al.* (2003) não verificaram efeito significativo no volume específico do pão reassado devido ao período de estocagem congelada. Carr *et al.* (2006) verificaram que o peso e o volume específico dos pães pré-assados, congelados e estocados congelados por até 7 dias e reassados foram mais baixos que os seus respectivos sem estocagem congelada. Os autores verificaram que o volume específico dos pães reassados teve uma redução significativa depois de 4 dias de estocagem congelada. Depois de dois dias de estocagem congelada houve também uma redução significativa do peso dos pães. Estes autores não sugeriram explicação para estas reduções de peso e volume específico dos pães durante a estocagem congelada.

3.2. Textura: firmeza e elasticidade

Os valores de firmeza e elasticidade dos pães pré-assados e dos pães reassados com diferentes tempos de estocagem congelada estão apresentados na Tabela 3.5.

Com relação à firmeza dos pães das formulações F01 e F02, observa-se que o pão pré-assado e o pão reassado advindo do pão pré-assado com nenhum dia de estocagem congelada não apresentam diferença estatística quanto a este atributo. Do pão reassado com nenhum dia de estocagem congelada para aquele com um dia de estocagem congelada, a firmeza dos pães reassados foi estatisticamente menor e permaneceu constante para todo o período de estocagem (65 dias). Os pães da formulação F03 também não apresentaram diferença estatística do 1 ao 65º dia de estocagem congelada. Para todas as formulações, a diferença maior se dá do pão reassado com nenhum dia de estocagem congelada para o com 1 dia de estocagem congelada. Fik e Surówka (2002) também não verificaram efeito do período de estocagem congelada (77 dias) na dureza do miolo de pães pré-assados reassados, enquanto que Bárcenas e Rosell (2006b) e Bárcenas *et al.* (2003) observaram que a dureza do miolo dos pães pré-assados reassados aumentou com o tempo de estocagem congelada. De acordo com Bárcenas *et al.* (2003), este aumento da dureza do miolo ficou mais evidente após 14 dias de estocagem.

Bárcenas e Rosell (2006b) relatam a alteração da dureza durante o período de estocagem congelada como consequência da degradação da estrutura do miolo promovida pelo crescimento dos cristais de gelo durante a estocagem congelada. Os cristais danificam a rede protéica formada pelas proteínas desnaturadas, as quais são responsáveis pela estrutura do miolo. O dano aumenta com o descongelamento e

assamento. Schiraldi e Fessas (2001) propõem que a água atua como um plasticizante no pão. A redução no conteúdo de umidade favorece a formação de ligações de hidrogênio entre os polímeros de amido e entre o amido e as proteínas, o que proporciona maior dureza. Fik e Surówka (2002) relatam que variação da dureza do miolo do pão pré-assado pode ser devido às mudanças elástico-plásticas que ocorrem com a modificação da estrutura do amido.

Em nossos resultados não houve tendência de variação da firmeza do miolo dos pães reassados devido ao período de estocagem congelada. Os pães também não tenderam a apresentar redução de peso devido à estocagem (Tabela 3.4). A presença de fibra na formulação, através da adição da farinha do trigo integral, pode ter ajudado o pão a reter a quantidade de água necessária para inibir a formação das ligações de hidrogênio entre os polímeros de amido e entre amido e as proteínas. A água retida também pode ter favorecido uma minimização de mudanças elástico-plásticas relacionadas à modificação da estrutura do amido.

Observa-se que os pães reassados das formulações F01, F02 e F03 não apresentaram diferença estatística quanto à elasticidade do miolo durante todo o período de estocagem congelada (período entre 1 e 65 dias). A diferença observada foi, nos pães da F01 e F02, entre o pão pré-assado e o pão reassado. A elasticidade do miolo do pão pré-assado sem congelamento apresentou-se maior em relação à do pão reassado em qualquer período de estocagem congelada. Já para F03, o pão pré-assado apresentou menor elasticidade, ocorrendo um aumento desta somente no pão reassado que teve, no mínimo, 1 dia de estocagem congelada. Carr *et al.* (2006) verificaram que o período de estocagem congelada não influenciou a elasticidade de pães pré-assados.

Tabela 3.5: Firmeza e elasticidade dos pães pré-assados e dos pães reassados com vários períodos de estocagem congelada

	Pré-Assados	Pré-Assados, Congelados, Estocados Congelados por 0, 1, 7, 15, 30 e 65 dias e Reassados					
		0 dia	1 dia	7 dias	15 dias	30 dias	65 dias
Firmeza (gf)							
F01	175,67 ± 12,01 aA	181,55 ± 15,73 aA	129,05 ± 5,94 aC	132,72 ± 8,93aC	136,08 ± 11,07 aC	136,70 ± 11,82 aC	156,82 ± 13,01 aB
F02	149,62 ± 10,34 bA	149,28 ± 15,44 bA	126,75 ± 6,11 aB	118,82 ± 5,64bB	128,08 ± 12,08 abB	123,52 ± 9,37 aB	133,76 ± 12,33 bAB
F03	130,61 ± 12,46 cB	146,79 ± 10,97 bA	122,49 ± 10,28 aBC	112,07 ± 8,16bC	120,94 ± 9,49 bBC	123,10 ± 12,19 aBC	123,80 ± 9,30 bBC
Elasticidade							
F01	48,35 ± 1,25 bA	52,38 ± 1,23 acB	52,53 ± 2,32 bB	53,77 ± 0,79 acB	52,54 ± 1,36 aB	52,87 ± 1,87 bB	52,25 ± 1,26 bB
F02	48,57 ± 1,04 bA	51,12 ± 2,15 bcB	52,79 ± 0,98 bB	52,62 ± 1,55 bcB	52,35 ± 2,15 aB	52,73 ± 1,37 bB	52,26 ± 0,89 bB
F03	50,71 ± 2,44 aB	53,52 ± 1,96 aAB	55,28 ± 1,69 aA	54,96 ± 1,99 aA	53,86 ± 3,58 aAB	55,67 ± 1,43 aA	55,89 ± 0,44 aA

* média ± desvio padrão, n = 8. Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na mesma coluna, em um mesmo parâmetro de avaliação, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05). Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

3.3. Umidade do miolo

Os valores de umidade dos pães pré-assados e dos pães reassados em diferentes períodos de estocagem congelada estão apresentados na Tabela 3.7.

Os pães pré-assados da F03 não apresentaram diferença estatística da umidade entre os diferentes períodos de estocagem congelada. A umidade dos pães pré-assados da F01 com 65 dias de estocagem congelada foi estatisticamente maior do que a umidade dos pães com 1 e 30 dias de estocagem congelada. A umidade dos pães desta formulação nos demais períodos de estocagem congelada não apresentou diferença estatística entre si. Para a F02, a umidade dos pães com 65 dias de estocagem congelada também apresentou-se estatisticamente superior à dos pães com 1 dia de estocagem congelada. A partir de 7 dias de estocagem congelada, os pães pré-assados das diferentes formulações (F01, F02 e F03) não apresentaram diferença estatística entre si, quanto à umidade. Carr *et al.* (2006) verificaram que a estocagem congelada não influenciou o conteúdo de água de pães pré-assados.

3.4. Fração de água não congelável

As Tabelas 3.6 e 3.7 apresentam os valores de temperatura inicial, temperatura de pico e entalpia para a cristalização da água e fusão do gelo, além dos valores de temperatura de transição vítrea e a fração de água não congelável. A Figura 3.2 apresenta um exemplo de termograma típico encontrado nesta análise.

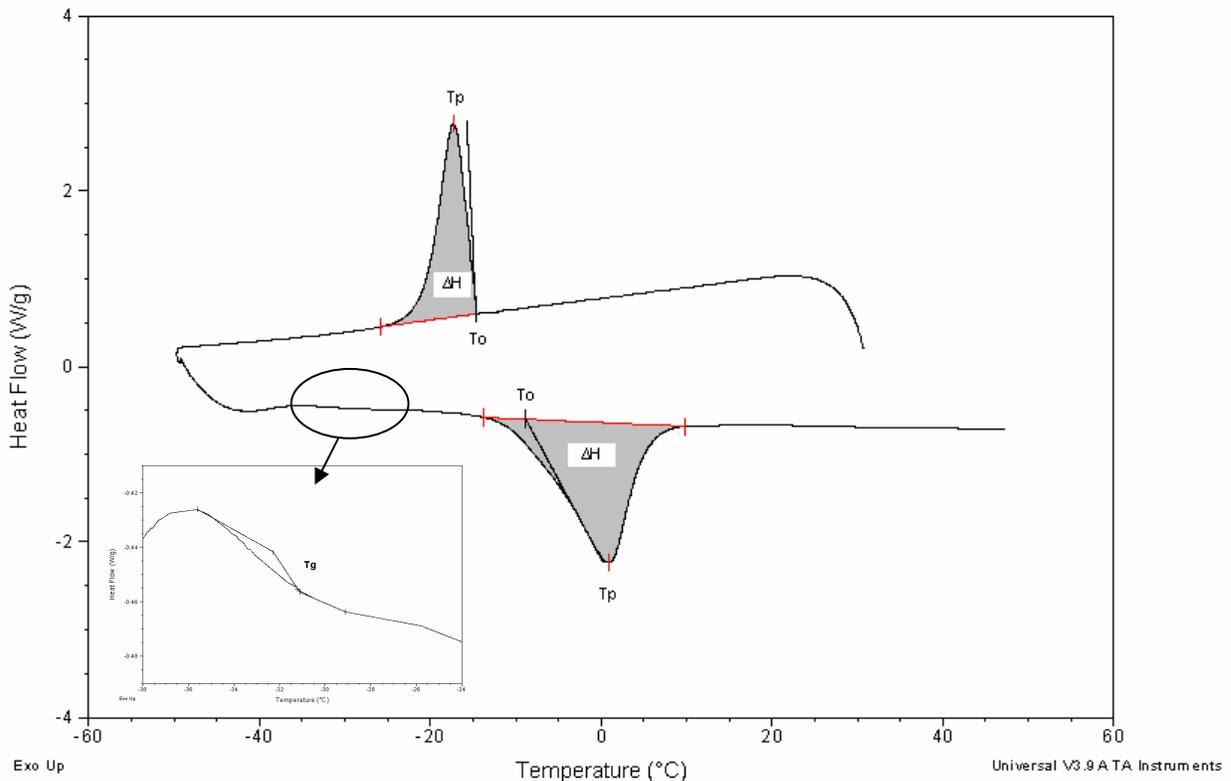


Figura 3.2: Exemplo de um termograma do DSC mostrando a temperatura de transição vítrea (T_g) e temperatura inicial (T_o), temperatura de pico (T_p) e entalpia (ΔH) para a cristalização e fusão da água

Para a cristalização da água, não houve diferença estatística em relação a todos os parâmetros (T_o , T_p e ΔH) durante os diferentes períodos de estocagem congelada em uma mesma formulação. Entre as formulações, também não houve diferença estatística em qualquer período de estocagem congelada. A temperatura inicial de cristalização da água no miolo interno do pão pré-assado congelado apresentou-se, em média, entre -11,85 e -21,60 °C, a temperatura de pico entre -15,06 e -22,74 °C e a entalpia entre 58,32 e 81,62 J/g.

Tabela 3.6: Temperatura inicial, temperatura de pico e entalpia da cristalização da água e temperatura de transição vítrea obtidas nos termogramas do DSC dos pães pré-assados congelados e estocados congelados por diferentes períodos

	Pré-Assados, Congelados e Estocados Congelados por 0, 1, 7, 15, 30 e 65 dias					
	0 dia	1 dia	7 dias	15 dias	30 dias	65 dias
T_o (°C)						
F01	-16,89 ± 0,38 aA	-21,54 ± 5,96 aA	-21,60 ± 0,97 aA	-19,76 ± 4,56 aA	-16,81 ± 4,82 aA	-20,19 ± 1,99 aA
F02	-11,85 ± 0,44 aA	-15,73 ± 3,28 aA	-15,34 ± 3,86 aA	-19,70 ± 5,50 aA	-18,38 ± 3,55 aA	-18,50 ± 3,54 aA
F03	-18,32 ± 5,79 aA	-20,80 ± 6,73 aA	-18,38 ± 3,97 aA	-17,26 ± 3,76 aA	-19,69 ± 0,25 aA	-15,64 ± 2,64 aA
T_p (°C)						
F01	-18,57 ± 0,54 aA	-22,71 ± 4,69 aA	-22,74 ± 0,49 aA	-20,56 ± 3,93 aA	-18,90 ± 4,29 aA	-20,66 ± 1,71 aA
F02	-15,06 ± 0,22 aA	-17,72 ± 2,16 aA	-17,20 ± 3,47 aA	-21,48 ± 3,51 aA	-19,62 ± 2,77 aA	-19,46 ± 2,81 aA
F03	-21,45 ± 3,02 aA	-22,32 ± 5,16 aA	-19,77 ± 3,27 aA	-18,60 ± 2,99 aA	-20,98 ± 0,08 aA	-19,44 ± 0,51 aA
ΔH (J/g)						
F01	74,65 ± 5,86 aA	75,29 ± 5,81 aA	66,40 ± 7,31 aA	71,93 ± 7,69 aA	74,85 ± 6,56 aA	77,82 ± 6,39 aA
F02	78,42 ± 5,30 aA	78,49 ± 4,99 aA	75,69 ± 10,75 aA	70,93 ± 5,98 aA	75,36 ± 8,21 aA	81,62 ± 10,99 aA
F03	58,32 ± 12,87 aA	67,45 ± 5,01 aA	73,08 ± 5,59 aA	75,05 ± 2,94 aA	64,88 ± 0,22 aA	61,24 ± 15,02 aA
T_g (°C)						
F01	-31,90 ± 1,74 aA	-31,79 ± 2,16 aA	-29,72 ± 2,62 aA	-31,57 ± 0,79 aA	-31,16 ± 0,66 aA	-31,58 ± 1,17 aA
F02	-32,75 ± 0,35 aBC	-34,23 ± 0,08 aC	-30,40 ± 0,81 aA	-32,40 ± 0,51 aBC	-32,89 ± 0,38 bBC	-31,83 ± 0,92 aAB
F03	-32,16 ± 1,42 aA	-30,92 ± 1,28 aA	-31,87 ± 0,83 aA	-31,92 ± 0,53 aA	-33,10 ± 0,73 bA	-31,92 ± 0,36 aA

* média ± desvio padrão, n = 3. T_o = temperatura inicial; T_p = temperatura do pico; ΔH = entalpia de cristalização; T_g = temperatura de transição vítrea. Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na mesma coluna, em um mesmo parâmetro de avaliação, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05). Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

Tabela 3.7: Temperatura inicial, temperatura de pico e entalpia da fusão do gelo e fração de água não congelável obtidas nos termogramas do DSC dos pães pré-assados congelados e estocados congelados por diferentes períodos e, umidade do miolo central

	Pré-Assados, Congelados e Estocados Congelados por 0, 1, 7, 15, 30 e 65 dias					
	0 dia	1 dia	7 dias	15 dias	30 dias	65 dias
T_o (°C)						
F01	-9,33 ± 0,39 aA	-8,43 ± 0,44 aA	-9,03 ± 0,06 aA	-9,47 ± 0,55 aA	-9,18 ± 1,02 aA	-9,89 ± 1,31 aA
F02	-9,02 ± 0,03 aA	-8,95 ± 0,26 aA	-9,11 ± 0,14 aA	-8,73 ± 0,80 aA	-8,61 ± 0,75 aA	-8,58 ± 0,68 aA
F03	-9,41 ± 0,93 aA	-8,82 ± 0,43 aA	-9,15 ± 1,16 aA	-9,19 ± 0,83 aA	-8,31 ± 0,56 aA	-9,67 ± 0,70 aA
T_p (°C)						
F01	0,23 ± 0,76 aA	0,70 ± 0,18 aA	0,61 ± 0,51 aA	-0,06 ± 0,30 aA	0,19 ± 0,10 aA	0,61 ± 0,28 aA
F02	1,14 ± 0,39 aA	0,51 ± 0,24 aA	0,62 ± 0,67 aA	0,26 ± 0,24 aA	0,38 ± 0,73 aA	0,88 ± 0,09 aA
F03	0,08 ± 0,84 aA	-0,38 ± 0,48 bA	0,58 ± 0,60 aA	0,25 ± 0,18 aA	0,14 ± 0,45 aA	-0,65 ± 0,51 bA
ΔH (J/g)						
F01	83,08 ± 4,80aA	86,36 ± 6,25 aA	77,86 ± 9,12 aA	82,31 ± 9,79 aA	84,06 ± 12,21 aA	90,21 ± 7,88 aA
F02	88,53 ± 2,81 aA	89,76 ± 4,62 aA	88,61 ± 10,09 aA	84,58 ± 5,85 aA	91,30 ± 5,63 aA	93,48 ± 10,98 aA
F03	78,52 ± 11,62 aA	81,24 ± 3,29 aA	85,51 ± 5,08 aA	86,13 ± 3,89 aA	79,81 ± 3,30 aA	70,54 ± 15,77 aA
UW (g/g miolo)						
F01	0,16 ± 0,01 aA	0,16 ± 0,02 aA	0,18 ± 0,03 aA	0,17 ± 0,03 aA	0,18 ± 0,03 aA	0,15 ± 0,02 aA
F02	0,15 ± 0,01 aA	0,15 ± 0,01 aA	0,15 ± 0,03 aA	0,16 ± 0,02 aA	0,14 ± 0,02 aA	0,14 ± 0,03 aA
F03	0,21 ± 0,04 aA	0,18 ± 0,01 aA	0,16 ± 0,02 aA	0,16 ± 0,01 aA	0,18 ± 0,01 aA	0,21 ± 0,05 aA
Umidade (%)						
F01	41,37 ± 0,25 bC	41,96 ± 0,38 abAB	41,56 ± 0,17 aBC	41,70 ± 0,10 aABC	41,45 ± 0,18 aBC	42,18 ± 0,03 aA
F02	41,40 ± 0,32 bAB	41,51 ± 0,18 bAB	41,11 ± 0,90 aB	41,57 ± 0,28 aAB	41,36 ± 0,31 aAB	42,20 ± 0,33 aA
F03	42,27 ± 0,34 aA	42,12 ± 0,16 aA	42,00 ± 0,16 aA	41,96 ± 0,2 7aA	41,76 ± 0,34 aA	42,32 ± 0,23 aA

* média ± desvio padrão, n = 3. T_o = temperatura inicial; T_p = temperatura do pico; ΔH = entalpia de fusão; UW = água não congelável. Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na mesma coluna, em um mesmo parâmetro de avaliação, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05). Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

A temperatura de transição vítrea é a temperatura na qual ocorre alteração do estado físico do sólido vítreo para um líquido “borrachento” viscoso. É bem conhecido que alimentos congelados devem ser estocados em uma temperatura menor que a temperatura de transição vítrea para que sejam mais estáveis ao longo do período de estocagem (MATUDA *et al.*, 2008). Geralmente, pães pré-assados congelados são estocados a -18°C , temperatura acima da temperatura de transição vítrea encontrada para estes pães. A temperatura de transição vítrea ficou, em média, entre $-34,33$ e $-29,72^{\circ}\text{C}$. Os pães das F01 e F03 não apresentaram diferença estatística quanto à temperatura de transição vítrea nos diferentes períodos de estocagem congelada. A temperatura de transição vítrea dos pães da F02 com 07 dias de estocagem congelada apresentou-se superior à temperatura dos demais períodos de estocagem, exceto à do período com 65 dias. Para a maioria dos períodos de estocagem congelada, a temperatura de transição vítrea das formulações não apresentou diferença estatística entre si.

Para a fusão do gelo, não houve diferença estatística em relação a todos os parâmetros (T_o , T_p e ΔH) durante os diferentes períodos de estocagem congelada em uma mesma formulação. Entre as formulações, somente nos dias 01 e 65 de estocagem congelada, os pães da F03 apresentaram T_p inferior à demais formulações. Em relação à T_o e ΔH não houve diferença estatística entre as formulações em qualquer período de estocagem congelada. A temperatura inicial de fusão do gelo do miolo interno do pão pré-assado congelado apresentou-se, em média, entre $-9,67$ e $-8,31^{\circ}\text{C}$, a temperatura de pico entre $-0,65$ e $1,14^{\circ}\text{C}$ e a entalpia de fusão, relacionada à água congelável, entre $70,54$ e $93,48$ J/g. Ribotta e Le Bail (2007) verificaram que a temperatura inicial da fusão do gelo aumentou significativamente depois de 30 dias de estocagem congelada em pão pré-assado tendo formulação sem enzimas e que esta tendência foi similar em pão pré-assado elaborado com enzimas, mas as diferenças não foram significativas.

O conteúdo de água não congelável do miolo dos pães pré-assados que variou, em média, entre $0,14$ e $0,21$ g de água/g de miolo (33 a 50% da água total, respectivamente), não apresentou diferença estatística entre os diferentes períodos de estocagem congelada. Em qualquer período de estocagem congelada, não houve diferença estatística entre as diferentes formulações, o que demonstra que a presença ou ausência e as diferentes quantidades de glicolipase, hemicelulase e hexose-oxidase não interferiram no congelamento da água. Ribotta e Le Bail (2007) e Hamdami, Monteau e Le

Bail (2004) encontraram valores entre 0,31 e 0,41 g de água não congelável/ g miolo de pão francês pré-assado (35,4 a 46,2% da água total, respectivamente). Ribotta e Le Bail (2007) verificaram que a quantidade de água não congelável aumentou levemente com o tempo de estocagem congelada, exceto em pães pré-assados formulados com enzimas (amilase e protease) e que o incremento foi mais notável em pães formulados sem enzimas.

3.5. Transições térmicas do amido

Quatro picos podem ser obtidos no termograma durante o aquecimento no DSC de uma amostra contendo amido em excesso de água. Se grânulos intactos de amido estão presentes no sistema, a gelatinização aparecerá como um pico endotérmico na faixa de 55-75°C. A gelatinização do amido é um processo irreversível e, se uma amostra que já foi gelatinizada e resfriada for reaquecida imediatamente no DSC, somente uma transição será registrada durante o segundo aquecimento devido à transição do complexo amilose-lipídio. Este pico endotérmico aparece na faixa de 90-110°C. A transição é reversível, o complexo é novamente formado durante o resfriamento. Porém, se a amostra é estocada por pelo menos um dia antes do reaquecimento, uma nova endoterma será observada próxima ao intervalo da gelatinização. Este pico é atribuído à fusão da amilopectina recristalizada e ocorre na faixa de 45-65°C. Outro pico endotérmico que pode ser observado é devido à fusão da amilose retrogradada que ocorre a temperaturas acima de 110°C (COLONNA; BULEON, 2010; ELIASSON, 2003; JAGANNATH *et al.*, 1998; LÉON; DURAN, BARBER, 1997; LIU, 2005; RASMUSSEN; HANSEN, 2001). Os termogramas dos pães pré-assados das formulações F01, F02 e F03 nos diferentes períodos de estocagem congelada estão apresentados na Figura 3.3. Nota-se que, independentemente da formulação, os termogramas apresentaram o mesmo perfil. Picos endotérmicos da fusão da amilopectina retrogradada e da transição do complexo amilose-lipídeo foram observados, enquanto que picos da gelatinização do amido não foram detectados. Os valores da temperatura inicial, temperatura de pico e entalpia destes eventos estão apresentados na Tabela 3.8.

Apesar de observarmos nos termogramas que o pico da fusão da amilopectina retrogradada parece acentuar-se nos dias 30 e 65 de estocagem congelada, não houve diferença estatística dos parâmetros deste pico (T_o , T_p e ΔH) entre os diferentes períodos de estocagem congelada em uma mesma formulação, exceto para a temperatura de pico

da F02. Este parâmetro do período de 7 dias de estocagem congelada apresentou-se estatisticamente maior do que o do período de 30 dias. No entanto, este parâmetro do período de 7 e de 30 dias de estocagem congelada não apresentou diferença estatística em relação aos demais dias de estocagem congelada (0, 1, 15 e 65 dias). Bárcenas e Rosell (2006b) também constataram que a entalpia de retrogradação da amilopectina em pães pré-assados não variou com o período de estocagem congelada. Bárcenas *et al.* (2003) verificaram que nenhuma retrogradação da amilopectina foi detectada no pão pré-assado durante a estocagem congelada. Bárcenas, Haros, Rosell (2003) verificaram que a estocagem congelada de pães pré-assados produziu um aumento na faixa de temperatura de retrogradação da amilopectina.

Com relação ao pico de transição do complexo amilose-lipídeo também não houve diferença estatística dos parâmetros deste pico (T_o , T_p e ΔH) entre os diferentes períodos de estocagem congelada em uma mesma formulação.

Para um mesmo período de estocagem congelada, não foi observada diferença estatística entre as formulações para os parâmetros do pico da fusão da amilopectina retrogradada (T_o , T_p e ΔH). Jianga, Le Bail e Wua (2008) encontraram que a recristalização da amilopectina foi diminuída no período de estocagem de pães pré-assados congelados em que a hemicelulase B de *Thermotoga maritima* MSB8 (XynB) foi adicionada. Neste trabalho, apesar dos pães das F01 e F02 apresentarem maior quantidade de hemicelulase (225 ppm base farinha) em relação aos pães da F03 (0 ppm), diferenças quanto à fusão da amilopectina retrogradada não foram encontradas.

As formulações F01, F02 e F03 apresentavam quantidades diferentes da enzima glicolipase: 30 ppm, 75 ppm e 0 ppm base farinha, respectivamente. Possivelmente, os glicolipídeos liberados por esta enzima poderiam interagir com a amilose do amido e interferir na fusão do complexo amilose-lipídeo observado no termograma do DSC. No entanto, isso não ocorreu. A temperatura inicial e a entalpia de fusão das formulações não apresentaram diferença estatística entre si em um mesmo período de estocagem congelada. Diferenças foram notadas apenas com relação à temperatura de pico nos dias 0 e 7 de estocagem congelada.

Logo, de um modo geral, as diferentes quantidades das enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase não afetaram a retrogradação e o complexo amilose-lipídeo em qualquer período de estocagem congelada.

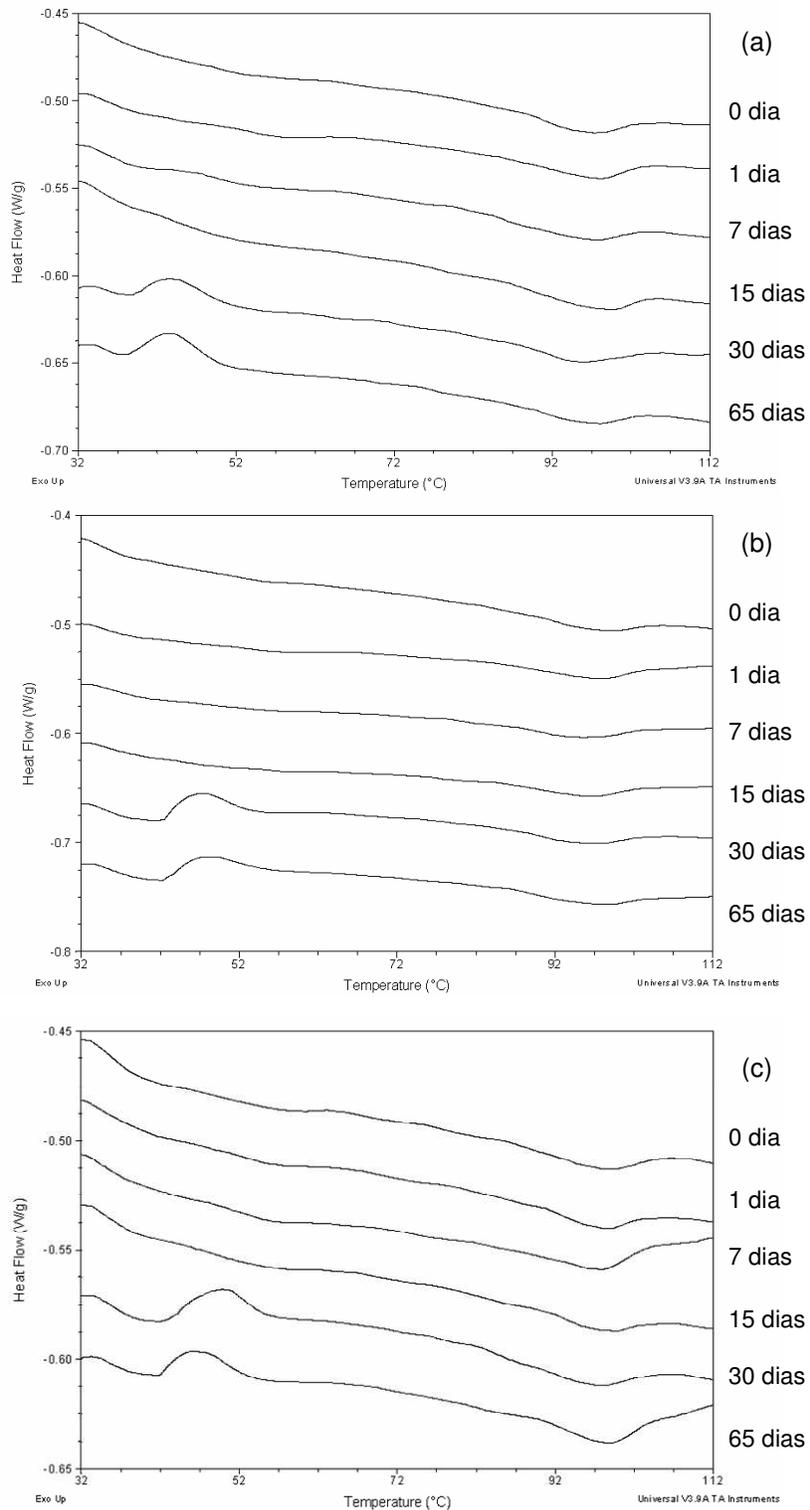


Figura 3.3: Termogramas do DSC da (a) F01, (b) F02 e (c) F03 com 0, 1, 7, 15, 30 e 65 dias de estocagem congelada, de cima para baixo

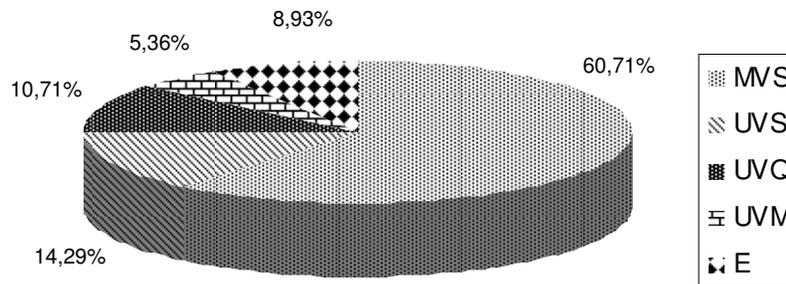
Tabela 3.8: Temperatura inicial, temperatura de pico e entalpia da fusão da amilopectina retrogradada e da transição do complexo amilose-lipídeo obtidas nos termogramas do DSC dos pães pré-assados congelados e estocados congelados por diferentes períodos

	Pré-Assados, Congelados e Estocados Congelados por 0, 1, 7, 15, 30 e 65 dias					
	0 dia	1 dia	7 dias	15 dias	30 dias	65 dias
Amilopectina retrogradada						
T_o (°C)						
F01	49,37 ± 0 aA	49,79 ± 6,21 aA	47,21 ± 2,14 aA	44,41 ± 1,19 aA	41,76 ± 9,18 aA	38,04 ± 8,23 aA
F02	38,16 ± 9,10 aA	45,54 ± 7,88 aA	46,38 ± 2,44 aA	44,50 ± 8,42 aA	33,65 ± 0,34 aA	33,93 ± 0,15 aA
F03	41,92 ± 7,60 aA	45,74 ± 10,00 aA	49,04 ± 6,26 aA	50,67 ± 3,20 aA	47,51 ± 9,25 aA	39,93 ± 9,28 aA
T_p (°C)						
F01	52,89 ± 0 aA	56,57 ± 2,12 aA	55,84 ± 1,10 aA	53,05 ± 0,58 aA	46,67 ± 7,43 aA	43,84 ± 7,57 aA
F02	47,64 ± 5,67 aAB	51,97 ± 9,15 aAB	55,95 ± 3,44 aA	51,81 ± 5,08 aAB	40,86 ± 1,09 aB	41,21 ± 1,55 aAB
F03	54,12 ± 3,08 aA	50,50 ± 10,08 aA	54,99 ± 6,00 aA	56,84 ± 2,21 aA	51,86 ± 10,81 aA	47,38 ± 6,97 aA
ΔH (J/g)						
F01	0,12 ± 0 aA	0,11 ± 0,07 aA	0,19 ± 0,01 aA	0,31 ± 0,05 aA	0,37 ± 0,33 aA	0,35 ± 0,31 aA
F02	0,86 ± 0,72 aA	0,59 ± 0,73 aA	0,24 ± 0,11 aA	0,58 ± 0,63 aA	0,68 ± 0,29 aA	0,66 ± 0,26 aA
F03	0,21 ± 0,08 aA	0,26 ± 0,24 aA	0,15 ± 0,09 aA	0,13 ± 0,04 aA	0,17 ± 0,12 aA	0,29 ± 0,14 aA
Complexo amilose-lipídeo						
T_o (°C)						
F01	85,32 ± 6,54 aA	88,36 ± 3,42 aA	87,37 ± 2,17 aA	87,18 ± 2,32 aA	86,81 ± 3,40 aA	88,68 ± 1,94 aA
F02	89,44 ± 2,48 aA	88,16 ± 2,14 aA	87,80 ± 1,51 aA	89,27 ± 2,27 aA	87,91 ± 1,81 aA	88,00 ± 2,25 aA
F03	89,80 ± 1,17 aA	91,37 ± 0,47 aA	86,64 ± 3,84 aA	89,33 ± 1,51 aA	88,24 ± 3,50 aA	90,73 ± 1,99 aA
T_p (°C)						
F01	96,65 ± 0,89 bA	96,89 ± 1,50 aA	96,16 ± 0,22 abA	96,99 ± 1,29 aA	97,98 ± 1,48 aA	97,71 ± 1,51 aA
F02	98,82 ± 0,35 aA	98,54 ± 2,03 aA	95,67 ± 1,98 bA	97,24 ± 0,86 aA	96,98 ± 0,40 aA	97,62 ± 1,93 aA
F03	97,75 ± 0,62 abA	97,86 ± 0,14 aA	98,48 ± 0,67 aA	96,16 ± 2,06 aA	98,25 ± 1,11 aA	99,15 ± 0,17 aA
ΔH (J/g)						
F01	0,78 ± 0,55 aA	0,52 ± 0,26 aA	0,39 ± 0,11 aA	0,60 ± 0,10 aA	0,98 ± 0,65 aA	0,97 ± 0,74 aA
F02	1,16 ± 0,37 aA	1,07 ± 0,96 aA	0,79 ± 0,50 aA	0,74 ± 0,69 aA	1,13 ± 1,05 aA	1,10 ± 0,56 aA
F03	0,61 ± 0,33 aA	0,77 ± 0,81 aA	0,97 ± 0,40 aA	0,47 ± 0,16 aA	0,35 ± 0,08 aA	0,65 ± 0,57 aA

* média ± desvio padrão, n = 3. T_o = temperatura inicial; T_p = temperatura do pico; ΔH = entalpia de fusão. Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na mesma coluna, em um mesmo parâmetro de avaliação, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05). Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

3.6. Avaliação sensorial: teste de aceitação e intenção de compra

A Figura 3.4 mostra o perfil dos provadores de acordo com a freqüência de consumo de pães integrais. Observa-se que grande parte dos provadores que avaliaram os pães reassados (60,71%) costumava consumir pães integrais mais de uma vez por semana.



* freqüência de consumo: mvs = mais de uma vez por semana; uvs = uma vez por semana; uvq = uma vez a cada quinze dias, uvm = uma vez por mês; e = eventualmente.

Figura 3.4: Perfil dos provadores de acordo com a freqüência de consumo de pães integrais

A Tabela 3.9 apresenta os escores do teste de aceitação sensorial e intenção de compra dos pães reassados. Observa-se através dos escores destes dois testes que os pães foram bem avaliados pelos provadores. No teste de aceitação, os provadores não perceberam diferença significativa entre as formulações em todos os atributos avaliados do pão e da fatia nos dois diferentes períodos de estocagem congelada (7 e 65 dias). Os provadores expressaram sua aceitação, em média, com as notas entre 6 e 8, ou seja, entre os termos gostei ligeiramente e gostei muito. Não houve diferença significativa entre os diferentes períodos de estocagem congelada em todos os atributos de todas as formulações, exceto nos pães da F03 cuja nota com 65 dias de estocagem congelada foi estatisticamente menor que a nota com 7 dias no atributo aparência da avaliação do pão.

Com relação à intenção de compra também não houve diferença estatística entre as formulações e entre os períodos de estocagem congelada. A intenção de compra foi expressa, em média, entre os termos talvez comprasse/talvez não (nota 3) e certamente compraria (nota 5).

Fik e Surowka (2002) não encontraram correlação entre a qualidade sensorial e o tempo de estocagem congelada. De acordo com os autores, a mudança com o tempo de estocagem congelada (11 semanas) foi pequena.

Alguns provadores deixaram comentários na ficha de avaliação. O comentário mais freqüente foi com relação à textura da fatia. De acordo com eles, a textura da crosta ficou similar à crosta de um pão de forma integral. Eles esperavam que a textura da crosta fosse mais crocante, similar a um pão francês tradicional. O pão francês elaborado com a farinha de trigo integral apresentou alta umidade, que é retida pelas fibras. Como os pães não foram servidos assim que reassados, o equilíbrio de umidade entre o miolo e a crosta ocorreu mais rápido que o esperado, ou seja, o pão perdeu a crocância mais rapidamente.

Tabela 3.9: Escores do teste de aceitação sensorial e intenção de compra dos pães reassados com vários períodos de estocagem congelada

Atributos da Avaliação do Pão	Pré-Assados, Congelados, Estocados Congelados por 7 e 65 dias e Reassados		Atributos da Avaliação da Fatia	Pré-Assados, Congelados, Estocados Congelados por 7 e 65 dias e Reassados	
	7 dias	65 dias		7 dias	65 dias
Aceitação					
Aparência			Cor		
F01	7,20 ± 1,15 aA	7,20 ± 1,47 aA	F01	7,68 ± 1,05 aA	7,61 ± 1,07 aA
F02	7,18 ± 1,28 aA	6,91 ± 1,54 aA	F02	7,73 ± 0,90 aA	7,64 ± 1,05 aA
F03	7,34 ± 1,13 aA	6,80 ± 1,52 aB	F03	7,63 ± 0,91 aA	7,54 ± 1,24 aA
Volume			Aroma		
F01	7,45 ± 1,13 aA	7,07 ± 1,48 aA	F01	7,41 ± 1,39 aA	7,41 ± 1,45 aA
F02	7,43 ± 1,16 aA	7,18 ± 1,42 aA	F02	7,71 ± 1,09 aA	7,50 ± 1,41 aA
F03	7,23 ± 1,29 aA	7,00 ± 1,62 aA	F03	7,48 ± 1,16 aA	7,41 ± 1,46 aA
Formato			Sabor		
F01	7,52 ± 1,24 aA	7,29 ± 1,45 aA	F01	7,21 ± 1,34 aA	7,34 ± 1,55 aA
F02	7,61 ± 1,17 aA	7,07 ± 1,71 aA	F02	7,43 ± 1,44 aA	7,36 ± 1,65 aA
F03	7,57 ± 1,33 aA	6,96 ± 1,93 aA	F03	7,29 ± 1,37 aA	7,11 ± 1,68 aA
Cor			Textura		
F01	7,07 ± 1,28 aA	7,50 ± 1,33 aA	F01	7,09 ± 1,52 aA	7,00 ± 1,54 aA
F02	7,30 ± 1,17 aA	7,07 ± 1,52 aA	F02	7,11 ± 1,87 aA	7,00 ± 1,58 aA
F02	7,21 ± 1,33 aA	7,07 ± 1,65 aA	F02	7,00 ± 1,51 aA	6,57 ± 1,92 aA
AG			AG		
F01	7,39 ± 1,04 aA	7,29 ± 1,33 aA	F01	7,38 ± 1,32 aA	7,39 ± 1,22 aA
F02	7,45 ± 0,97 aA	7,13 ± 1,40 aA	F02	7,52 ± 1,32 aA	7,36 ± 1,35 aA
F02	7,34 ± 1,13 aA	7,00 ± 1,38 aA	F02	7,34 ± 1,31 aA	7,14 ± 1,46 aA
Intenção de Compra					
F01	4,00 ± 0,85 aA	4,07 ± 0,85 aA	F01	4,02 ± 1,04 aA	4,21 ± 0,87 aA
F02	4,05 ± 0,77 aA	3,86 ± 0,92 aA	F02	4,16 ± 1,02 aA	4,13 ± 0,97 aA
F03	4,00 ± 0,91 aA	3,93 ± 0,93 aA	F03	4,09 ± 1,01 aA	3,82 ± 1,06 aA

* média ± desvio padrão, n = 60. AG = avaliação global; IC = intenção de compra. Teste de Aceitação: avaliação por escala hedônica de 9 pontos (1= desgostei extremamente a 9 = gostei extremamente) e Intenção de Compra: avaliação por escala hedônica de 5 pontos (1 = certamente não compraria e 5 = certamente compraria). Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na mesma coluna, em um mesmo parâmetro de avaliação, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05). Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na mesma linha, em um mesmo parâmetro de avaliação, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

3.7. Fotos

As Figuras 3.5 a 3.7, a seguir, apresentam as fotos dos pães pré-assados (sem congelamento) e dos pães reassados (pré-assados, congelados, estocados congelados e reassados) das três formulações avaliadas.



Figura 3.5: Pães F01 – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo)



Figura 3.6: Pães F02 – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo)



Figura 3.7: Pães F03 – pães pré-assados (acima) e pães reassados (abaixo)

4. CONCLUSÃO

Sensorialmente, foi demonstrado que o pão francês pré-assado elaborado com farinha do trigo integral pode ser mantido por 65 dias de congelamento sem que haja decréscimo da aceitação dos seus atributos e intenção de compra comparado com o pão com 7 dias de estocagem congelada. Bons escores nestas avaliações para os pães foram encontrados. A presença/ausência e a quantidade presente na formulação das enzimas glicolipase, hemicelulase determinaram se o volume específico, a firmeza do miolo, a umidade, a temperatura de transição vítrea, os parâmetros do DSC da fusão da amilopectina retrogradada e a aceitação sensorial variariam com o período de estocagem congelada. Características dos pães como a elasticidade do miolo, as propriedades da água medidas por DSC, os parâmetros de DSC da transição do complexo amilose-lipídio e a intenção de compra dos consumidores não foi afetada pelo período de estocagem congelada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC - American Association of Cereal Chemists **Approved methods of the American Association of Cereal Chemists**. 11^a ed. St. Paul: Approved Methods Committee, 2010. Disponível em: <<http://www.aaccnet.org/ApprovedMethods/default.aspx>>. Acesso em: 15 jan. 2010.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists **Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemists**. 16 ed., 3. rev. Gaithersburg: AOAC International, 1997.

BÁRCENAS, M. E.; BENEDITO, C.; ROSELL, C. M. Use of hydrocolloids as bread improvers in interrupted baking process with frozen storage. **Food Hydrocolloids**, v. 18, p. 769-774, 2004.

BÁRCENAS, M. E.; HAROS, M.; BENEDITO, C.; ROSELL, C. M. Effect of freezing and frozen storage on the staling of part-baked bread. **Food Research International**, v. 36p. 863-869, 2003.

BÁRCENAS, M. E.; HAROS, M.; ROSELL, C. M. An approach to studying the effect of different bread improvers on the staling of pre-baked frozen bread. **European Food Research Technology**, v. 218, p. 56–61, 2003.

BÁRCENAS, M. E.; ROSELL, C. M. Different approaches for improving the quality and extending the shelf life of the partially baked bread: low temperatures and HPMC addition. **Journal of Food Engineering**, v. 72, p. 92–99, 2006a.

BÁRCENAS, M. E.; ROSELL, C. M. Effect of frozen storage time on the bread crumb and aging o par-baked bread. **Food Chemistry**, v. 95, p. 438–445, 2006b.

BODROZA-SOLAROV, M.; FILIPCEV, B.; KEVRESAN, Z.; MANDIC, A.; SIMURINA, O. Quality of bread supplemented with popped amaranthus cruentus grain. **Journal of Food Process Engineering**, v. 31, p. 602–618, 2008.

BRASIL Portaria SVS/MS nº 27, de 13 de janeiro de 1998. Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16 jan 1998. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=97&word=>>>. Acesso em: 18 nov. 2005.

CARR, L. G.; RODAS, M. A. B.; TORRE, J. C. M. D.; TADINI, C. C. Physical, textural and sensory characteristics of 7-day frozen part-baked French bread. **LWT – Food Science and Technology**, v. 39, p. 540–547, 2006.

COLONNA, P.; BULEON, A. Thermal transitions of starches. In: BERTOLINI, A. C. (Ed.). **Starches**: characterization, properties and applications Boca Raton: CRC Press, 2010. Paginação irregular.

ELIASSON, A.-C. Utilization of thermal properties for understanding baking and staling processes. In: BRESLAUER, K. J.; KALETUNC, G. (Eds.). **Characterization of cereals and flours: properties, analysis and applications**. New York: Marcel Dekker, Inc., 2003. Paginação irregular.

HAMDAMI, N.; MONTEAU, J.-Y.; LE BAIL, A. Thermophysical properties evolution of French partly baked bread during freezing. **Food Research International**, v. 37, n. 7, p. 703-713, 2004.

FIK, M.; SURÓWKA, K. Effect of prebaking and frozen storage on the sensory quality and instrumental texture of bread. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 82, p. 1268-1275, 2002.

JAGANNATH, J. H.; JAYARAMAN, K. S.; ARYA, S. S.; SOMASHEKAR R. Differential scanning calorimetry and wide-angle x-ray scattering studies of bread staling. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 67, p. 1597–1603, 1998.

JIANGA, Z.; LE BAIL, A.; WUA, A. Effect of the thermostable xylanase B (XynB) from *Thermotoga maritima* on the quality of frozen partially baked bread. **Journal of Cereal Science**, v. 47, p. 172–179, 2008.

LAINÉZ, E.; VERGARA, F.; BÁRCENAS, M. E. Quality and microbial stability of partially baked bread during refrigerated storage. **Journal of Food Engineering**, v. 89, p. 414–418, 2008.

LEON, A.; DURAN, E.; BARBER, C. B. A new approach to study starch changes occurring in the dough-baking process and during bread storage. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung A**, v. 204, p. 316-320, 1997.

LEUSCHNER, R. G. K.; O'CALLAGHAN, M. J. A.; ARENDT, E. K. Optimization of baking parameters of part-baked and rebaked Irish brown soda bread by evaluation of some quality characteristics. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 32, p. 487-493, 1997.

LIU, Q. Understanding Starches and Their Role in Foods. In: CUI, S. W. (Ed.). **Food Carbohydrates: chemistry, physical properties and applications**. Boca Raton: Taylor & Francis Group, LLC, 2005. Paginação irregular.

MATUDA, T. M.; CHEVALLIER, S.; FILHO, P. A. P.; LEBAIL, A.; TADINI, C. C. Impact of guar and xanthan gums on proofing and calorimetric parameters of frozen bread dough. **Journal of Cereal Science**, v. 48, p. 741–746, 2008

RASMUSSEN, P. H.; HANSEN, A. Staling of wheat bread stored in modified atmosphere. **LWT – Food Science and Technology**, v. 34, p. 487-491, 2001.

REID, D. S. Fundamental physicochemical aspects of freezing. **Food Technology**, v. 37, n. 4, p. 110-115, 1983.

RIBOTTA, P. D.; LE BAIL, A. Thermo-physical and thermo-mechanical assessment of partially baked bread during chilling and freezing process. Impact of selected enzymes on crumb contraction to prevent crust flaking. **Journal of Food Engineering**, v. 78, p. 913–921, 2007.

ROSELL, C.M.; GOMEZ, M. Freezing in breadmaking performance: frozen dough and part-baked bread. **Food Reviews International**, v. 23, p.303–319, 2007.

ROSELL, C. M.; SANTOS, E. Impact of fibers on physical characteristics of fresh and staled bake off bread. **Journal of Food Engineering**, v. 98, p. 273–281, 2010.

SANGNARK, A.; NOOMHORM, A. Effect of dietary fiber from sugarcane bagasse and sucrose ester on dough and bread properties. **LWT – Food Science and Technology**, v. 37, p. 697-704, 2004.

SCHIRALDI, A.; FESSAS, D. Mechanism of staling: an overview. In: CHINACHOTI, P.; VODOVOTZ, P. Y. (Eds.). **Bread staling**. Boca Raton: CRC Press LLC, 2001. Paginação irregular.

SHITTU, T. A.; DIXON, A.; AWONORIN, S. O.; SANNI, L. O.; MAZIYA-DIXON, B. Bread from composite cassava–wheat flour. II: Effect of cassava genotype and nitrogen fertilizer on bread quality. **Food Research International**, v. 41, p. 569–578, 2008.

SLUIMER, P. **Principles of breadmaking: functionality of raw materials and process steps**. St. Paul: The American Association of Cereal Chemists, Inc., 2005. 212p.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 2 ed. San Diego: Academic Press, 1993. 338p.

VULICEVIC, I. R.; ABDEL-AAL, E-S. M.; MITTAL, G. S.; LU, X. Quality and storage life of par-baked frozen breads. **LWT – Food Science and Technology**, v. 37, n. 2, p. 205-213, 2004.

**Mudanças estruturais da massa nos processos de pré-
assamento e reassamento de pão francês elaborado
com farinha do trigo integral**

RESUMO

A panificação é um processo complexo onde os constituintes da formulação passam por modificações estruturais devido à ocorrência de interações entre si e/ou à aplicação de mudanças em condições de processo como umidade e temperatura. O objetivo deste trabalho foi avaliar as mudanças ocorridas na massa após as etapas de pré-assamento e reassamento de pão francês congelado elaborado com farinha do trigo integral, através da caracterização das diferentes porções dos pães (miolo interno, miolo externo e crosta) no final destas etapas. Análises de perfil de temperatura, umidade, cor, propriedades de pasta, transições térmicas do amido, difratometria dos raios x, espectrometria no infravermelho, microscopia óptica de luz polarizada e microscopia eletrônica de varredura foram realizadas na massa e nas três porções dos pães no final de cada etapa de assamento. As análises mostraram que, possivelmente, logo após a etapa de pré-assamento, os grânulos de amido dos miolos (interno e externo) já gelatinizaram, restando apenas alguns grânulos intactos isolados que foram observados na microscopia óptica de luz polarizada, mas não foram detectados nos termogramas do DSC. A crosta, após o pré-assamento, apresentou considerável quantidade de grânulos de amido intactos, perfil que persistiu na crosta do pão reassado. Os resultados mostraram que a mudança maior da massa ocorre na etapa de pré-assamento que na etapa de reassamento. Em relação às porções, os miolos interno e externo do pão apresentaram o mesmo perfil de alterações, não apresentando diferença entre si, mas grandes mudanças em relação à crosta.

Palavras-chave: pão pré-assado, pão francês, farinha do trigo integral, assamento, miolo e crosta.

ABSTRACT

Breadmaking is a complex process where the formulation constituents undergo structural changes due to possible interactions among themselves and/or implementation of changes in process conditions such as moisture and temperature. The aim of this work was to evaluate changes in dough after the stages of partbaking and rebaking of French bread made with whole wheat flour, through the characterization of the different bread portions (inner crumb, outer crumb and crust) at the end of these stages. Analysis of temperature profile, moisture, color, pasting properties, thermal transitions of starch, x-ray crystallography, Fourier infra-red spectroscopy, polarized light microscopy and scanning electron microscopy were performed on the dough and on the three bread portions at the end of each stage of baking. Analyses showed that possibly soon after the stage of partbaking the starch granules of the crumb (inner and outer) were gelatinized, with only a few isolated intact granules that were observed through polarized light microscopy, but were not detected in DSC thermograms. The crust after partbaking showed considerable amount of intact starch granules, profile that persisted in the crust of rebaked bread. The results showed that the major changes occurred in the partbaking stage, more than in the rebaking stage. Regarding portions, inner and outer crumbs of bread presented the same profile of changes, they did not show differences between themselves but showed major changes in relation to the crust.

Key words: part-baked bread, French bread, whole wheat flour, baking, crumb, crust.

1. INTRODUÇÃO

Existe pouca dúvida, atualmente, de que cereais integrais e produtos de cereais integrais são muito superiores à farinha branca ou aos produtos de cereais refinados por apresentarem propriedades funcionais e maior valor nutricional. Os mecanismos responsáveis de benefícios à saúde dos cereais integrais não são claros. Porém, os cereais integrais contêm concentradas fontes de fibra alimentar, amido resistente, oligossacarídeos, vitaminas, traços de minerais, compostos fenólicos, fitato e fitoestrogênios tais como a lignana, juntamente com esteróis e estanois de plantas. Constituintes do cereal integral podem atuar sinergicamente para mediar respostas ao colesterol, à insulina e à glicose; diminuir a pressão sanguínea; funcionar como antioxidantes; ligar compostos carcinogênicos e diminuir o tempo de trânsito intestinal através do colón (MARQUART; SLAVIN; FULCHER, 2002). No entanto, verificou-se que os produtos altamente processados e formulados à base de cereais existentes no mercado, poderiam ter uma limitada relação aos produtos recomendados para promover a saúde (YOKOYAMA *et al.*, 1994). Os cereais são consumidos, habitualmente, depois de serem submetidos aos processos de moagem e peneiramento (RODRIGO; VADILLO, 2004). As frações farelo e germe, que são removidas do grão durante o processo de refinamento, provêm a maioria (quase todos) dos compostos biologicamente ativos encontrados no grão (MARQUART; SLAVIN; FULCHER, 2002).

A nutrição é o aspecto mais importante na mente de consumidores ocidentais quando fazem decisões de compras alimentícias e a indústria de alimentos congelados não pode escapar às pressões comerciais exercidas pelo desejo de dietas cada vez melhor balanceadas nutricionalmente. De fato, ela está provavelmente na melhor posição para entregar tais produtos “saudáveis” ao consumidor (KENNEDY, 2000). Os pães pré-assados congelados é um dos produtos que, devido à conveniência, vem ganhando mercado e seria um ótimo veículo para a promoção deste objetivo.

A principal diferença entre os pães completamente assados e os parcialmente assados é como eles são forneados (HILLEBRAND, 2005). As características típicas de um pão pré-assado, que o diferenciam de um pão convencional são a cor pálida da crosta, o alto conteúdo de umidade no miolo, uma crosta fina e um volume específico mais baixo (LEUSCHNER; O’CALLAGHAN; ARENDT, 1997; SLUIMER, 2005). Na etapa de pré-assamento, o forneamento da massa ocorre até que o miolo esteja formado e a cor da crosta não esteja desenvolvida, ou seja, o processo é finalizado antes que a reação de

Maillard ocorra na crosta (BÁRCENAS; ROSELL, 2006a, 2006b; FIK; SURÓWKA, 2002). Após o assamento parcial, ou o pré-assamento, o pão já deve apresentar seu tamanho e forma definitivos (FERREIRA; WATANABE; BENASSI, 1999). Já na etapa de reassamento, que é a segunda fase de forneamento, os principais objetivos são reverter o envelhecimento do pão, formar a crosta, proporcionar coloração amarronzada à crosta e desenvolver aroma (LEUSCHNER; O'CALLAGHAN; ARENDT, 1997, 1998, 1999; SLUIMER, 2005). Um rápido processo de congelamento acompanhado por um rápido descongelamento no forno é o que impulsiona o mercado de pães pré-assados (KENNEDY, 2000).

Os pães pré-assados congelados são produtos líderes em termos de inovação na indústria de panificação. Uma tendência em expansão no Brasil é o suprimento de pães pré-assados congelados em lojas de conveniência e supermercados (CARR *et al.*, 2006). A vantagem do pão pré-assado congelado é que ele requer poucos tipos de equipamentos na loja e o seu preparo é rápido, uma vez que ele necessita somente ser removido do congelador e colocado no forno. A comercialização de pão pré-assado congelado foca na redução de desperdícios de matérias primas, de espaço e de equipamentos no ponto de comercialização. Também não há necessidade de mão de obra especializada. Uma padronização da qualidade do produto é promovida e a venda do pão sempre fresco a qualquer horário do dia torna-se possível (NUTRINEWS, 2011).

O assamento é um processo complexo causando uma série de mudanças físicas, químicas e bioquímicas no alimento, tais como gelatinização do amido, desnaturação de proteínas, liberação de dióxido de carbono dos agentes levedantes, expansão do volume, evaporação de água, formação da crosta, e reações de escurecimento como resultado simultâneo da transferência de calor e massa no produto e do produto com o meio dentro do forno (SUMNU; OZKOC, 2010). Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar as mudanças ocorridas na massa após as etapas de pré-assamento e reassamento de pão francês elaborado com farinha do trigo integral, através da caracterização das diferentes porções dos pães (miolo interno, miolo externo e crosta) no final destas etapas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

Todo o material utilizado foi gentilmente doado pelos fornecedores. As farinhas de trigo utilizadas foram a do trigo refinado: Farinha de Trigo Anaconda Tipo 1 (Anaconda, São Paulo, SP, Brasil) e a do trigo integral: Farinha de Trigo Anaconda Integral (Anaconda, São Paulo, SP, Brasil). As características destas farinhas e da mistura utilizada estão apresentadas na Tabela 4.1.

Os demais ingredientes e aditivos utilizados foram: ácido ascórbico (DSM, São Paulo, SP, Brasil), azodicarbonamida (Granotec, Curitiba, PR, Brasil), fermento biológico seco instantâneo massa sal Fleischmann (AB Brasil, Pederneiras, SP, Brasil), glúten vital (Roquette Frères, Lestrem, França), éster de ácido tartárico diacetilado com mono e diglicerídeos Panodan[®] 20 (Danisco, Cotia, SP, Brasil), alfa-amilase fúngica Grindamyl[™] A 500 (Danisco, Cotia, SP, Brasil), glicolipase Grindamyl[®] Powerbake 4100 (Danisco, Cotia, SP, Brasil) e hexose oxidase Grindamyl[™] Sure Bake 900 (Danisco, Cotia, SP, Brasil). A hemicelulase utilizada foi uma mistura de 70% de uma hemicelulase bacteriana livre de inibições Grindamyl[™] Powerbake 7500 (Danisco, Cotia, SP, Brasil) e 30% de uma hemicelulase fúngica Grindamyl[™] H 460 (Danisco, Cotia, SP, Brasil).

Tabela 4.1: Características das farinhas de trigo utilizadas

Parâmetros	Farinha do trigo refinado (FR)	Farinha do trigo integral (FI)	Mistura 60% FI: 40% FR
Granulometria (% retida) - n° 965.22 AOAC (1997)			
14 mesh (1,190 µm)	0,10 ± 0,08	0,04 ± 0,03	0,09 ± 0,01
20 mesh (840 µm)	0,54 ± 0,02	0,74 ± 0,05	0,51 ± 0,01
35 mesh (420 µm)	0,38 ± 0,16	9,74 ± 0,16	7,83 ± 0,07
60 mesh (250 µm)	10,10 ± 4,82	14,83 ± 3,56	14,40 ± 2,43
80 mesh (177 µm)	33,48 ± 5,49	19,16 ± 2,39	23,33 ± 2,72
100 mesh (149 µm)	0,15 ± 0,06	0,52 ± 0,02	0,26 ± 0,04
Fundo (<149 µm)	5,25 ± 0,99	4,97 ± 0,97	3,59 ± 0,18
Composição Centesimal (%)			
Umidade (%) - n° 44-10.01 AACC (2010)	8,21 ± 0,20	7,47 ± 0,22	7,77 ± 0,29
Carboidratos (%)	78,39 ± 0,21	76,72 ± 0,27	77,38 ± 0,34
Proteína (%) - n° 46-13.01 AACC (2010)	11,72 ± 0,04	12,69 ± 0,15	12,31 ± 0,16
Lipídeos (%) - n° 920.39C AOAC (1997)	1,12 ± 0,05	1,57 ± 0,01	1,39 ± 0,05
Cinzas (%) - n° 08-01.01 AACC (2010)	0,56 ± 0,01	1,55 ± 0,04	1,15 ± 0,05
Farinografia - n° 54-21.01 AACC (2010)			
Absorção de água (%)	61,90	67,70	65,00
Tempo de chegada (s)	1,75	5,75	5,25
Tempo de desenvolvimento (s)	9,25	7,75	7,50
Tempo de saída (s)	14,25	12,00	10,25
Estabilidade (s)	12,50	6,25	5,00
Índice de Tolerância (UF)	20	30	60
Extensografia - n° 54-10.01 AACC (2010)			
45 min	R (UE)	360	380
	Rm (UE)	500	400
	E (mm)	170	125
	R/E	2,12	3,04
30 min	R (UE)	480	520
	Rm (UE)	730	550
	E (mm)	170	120
	R/E	2,82	4,33
135 min	R (UE)	460	510
	Rm (UE)	620	540
	E (mm)	155	120
	R/E	2,97	4,25
Atividade diastática (s) - n° 56-81.03 AACC (2010)			
	412 ± 5	355 ± 3	378 ± 6
Teores e Índice de Glúten - n° 38-12.02 AACC (2010)			
Glúten úmido (%)	31,85 ± 0,51	30,70 ± 1,13	31,16 ± 1,24
Glúten seco (%)	10,80 ± 0,26	11,40 ± 0,99	11,16 ± 1,02
Índice de glúten	85,96 ± 3,17	100,00 ± 0	97,38 ± 3,17

2.2. Métodos

2.2.1. Produção dos pães

A formulação base utilizada neste trabalho foi: farinha de trigo integral (60%), farinha de trigo branca (40%), água (62%), fermento seco instantâneo massa sal (0.8%), sal (2%), glúten vital (1%), datem (0,5%), ácido ascórbico (0,017%), azodicarbonamida (0,0045%), α -amilase fúngica 5000 SKB (0,02%), glicolipase (0,0075%), hemicelulase (0,0225%) e hexose-oxidase (0,0030%). A proporção de farinha do trigo refinado e de farinha do trigo integral foi fixada para que o produto final contivesse no mínimo 3 g de fibra alimentar para cada 100 g de pão, ou seja, que fosse fonte de fibras pela legislação brasileira (BRASIL, 1998), conforme cálculo no Anexo I.

A produção dos pães seguiu o processo de massa direta modificado. Uma batelada de 3,3 kg de farinha de trigo foi feita. Os ingredientes foram misturados em masseira modelo HAE 10 (Hypo, Ferraz de Vasconcelos, SP, Brasil) até que a massa alcançasse o completo desenvolvimento do glúten. A água foi adicionada resfriada ou parte em estado de gelo para que a temperatura final da massa ficasse entre $29 \pm 2^\circ\text{C}$. O tempo de mistura lento foi de 5 minutos e o tempo de mistura rápido foi 5,5 minutos. Imediatamente após a mistura, as massas foram divididas em porções de 90 ± 1 g e boleadas. Posteriormente, elas foram colocadas em descanso por 20 minutos. Decorrido este tempo, elas foram moldadas em modeladora modelo HM2 Hp 0,5 (Hypo, Ferraz de Vasconcelos, SP, Brasil) e deixadas fermentar em câmara de fermentação modelo CCKU 586820-1 (Super Freezer, Poços de Caldas, MG, Brasil) a $30 \pm 3^\circ\text{C}$ e $80 \pm 5\%$ UR até que a massa perdesse resistência ao toque. O tempo de fermentação foi 1,58 h. As massas fermentadas foram pré-assadas em forno de lastro modelo Ipanema IP 4/80 (Haas, Curitiba, PR, Brasil) com injeção de vapor nos primeiros 3 segundos de forneamento e apresentando temperatura de teto $190 \pm 5^\circ\text{C}$ e temperatura de lastro $210 \pm 5^\circ\text{C}$. Quando o centro do pão alcançou 93°C a porta do forno foi aberta e o pré-assamento continuou até que o centro do pão alcançasse 96°C . O tempo de forneamento total foi 11,5 minutos. Os pães pré-assados resfriados com o centro a 35°C foram congelados em câmara estática de congelamento de frio mecânico modelo UK 05 (Klimaquip, Pouso Alegre, MG, Brasil), utilizando a convecção do ar forçado à baixa temperatura (-40°C). O processo de congelamento foi encerrado assim que a temperatura do centro do pão alcançou -18°C . O tempo de congelamento foi de aproximadamente 1 hora. Os pães congelados foram imediatamente reassados em forno combinado eletrônico modelo EC3 Gourmet (Prática

Technicook, Pouso Alegre, MG, Brasil) a 180°C por 4 minutos a vapor alto e posteriormente por mais 8 minutos sem vapor.

2.2.2. Avaliação do processo e do produto

A massa, os pães pré-assados e os pães reassados foram avaliados. Nos pães, três porções foram caracterizadas para a realização das análises, de acordo com a Figura 4.1: miolo interno, miolo externo e crosta.

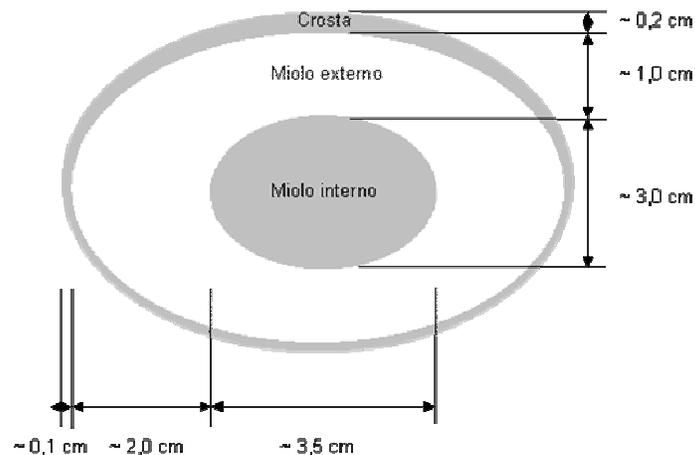


Figura 4.1: Corte transversal do pão com a localização das três porções de amostragem

2.2.2.1. Perfil de temperatura

O monitoramento da temperatura foi realizado no ambiente e nas três porções dos pães durante o pré-assamento, resfriamento, congelamento, reassamento e resfriamento através de termopares tipo “T” e com o sistema de aquisição de dados Data Logger modelo 177-T4 (Testo, Lenzkirch, Alemanha). A temperatura foi registrada a cada 5 segundos e os dados analisados no software Set ComSoft 4 (Testo, Lenzkirch, Alemanha).

2.2.2.2. Umidade

A umidade da massa e das três porções dos pães pré-assados e dos pães reassados foi determinada em triplicata pelo método n°44-10.01 da AACC (2010).

2.2.2.3. Cor

A cor da crosta e do miolo interno dos pães pré-assados e dos pães reassados foi avaliada instrumentalmente, utilizando-se o Colorímetro Color Quest II (Hunter Lab, Virginia, EUA). Os parâmetros estabelecidos foram: ângulo de observação 10° e iluminante D65. Foram determinados os valores de L* ou luminosidade (preto 0/branco 100), a* (verde -/vermelho +) e b* (azul -/amarelo +), referidos também como sistema de cor CIELab. Todas as medidas foram realizadas em quatro replicatas.

2.2.2.4. Propriedades de pasta

As propriedades de pasta da massa e das três porções dos pães pré-assados e dos pães reassados foram determinadas no viscosímetro RVA (*Rapid Visco Analyser*) modelo 4+ (Newport Scientific Pty. Ltd., Sidney, Austrália). 3,5 g de amostra liofilizada, moída e passada através da peneira de 32 mesh foram colocados em recipientes de alumínio, suspensos em 25 mL de água destilada (volume corrigido para a base de 14% de umidade na amostra), homogeneizados e deixados descansar por 30 minutos antes da análise. Utilizou-se o programa de aquecimento Standard 1: velocidade de rotação das pás igual a 160 rpm e perfil de temperatura estabelecido em aquecimento da temperatura ambiente a 50°C (0-1min), aquecimento de 50 a 95°C (1-4,5min), temperatura constante a 95°C (4,45-7,15min), resfriamento de 95 a 50°C (7,15-11min) e temperatura constante a 50°C (11-13min). O perfil de viscosidade e os parâmetros foram calculados utilizando o software Thermocline para Windows versão 2.4 (Newport Scientific Pty. Ltd., Sidney, Austrália). Os parâmetros analisados foram temperatura de pasta, viscosidade máxima, tempo de viscosidade máxima, viscosidade mínima a 95°C, *breakdown*, viscosidade final a 50°C e *setback*. As medidas foram realizadas em triplicatas.

2.2.2.5. Transições térmicas do amido

DSC (*differential scanning calorimetry*) foi utilizada para avaliar as transições físicas que ocorreram com o amido durante os diferentes estágios do processamento. DSC em excesso de água (amostra:água, 1:2) foi realizada em amostras liofilizadas da massa e das três porções dos pães pré-assados e dos pães reassados que foram moídas e passadas através de peneira de 32 mesh. Cerca de 2,5-3,0 mg de amostra foram colocados no recipiente de alumínio e água deionizada foi adicionada com o auxílio de

uma micropipeta. O recipiente foi selado e deixado descansar durante a noite para o equilíbrio de umidade na amostra. O recipiente foi colocado em um calorímetro Modulated DSC modelo 2920 (TA Instruments, New Castle, EUA) calibrado com índio. Os recipientes foram submetidos à taxa de calor de 10 °C/min de 20 °C a 120 °C. Um recipiente vazio foi utilizado como referência. As transições foram caracterizadas pelas temperaturas inicial (T_0) e de pico (T_p) e pela mudança de entalpia (ΔH) associada aos processos de fusão da amilopectina retrogradada, gelatinização do amido e à transição do complexo amilose-lipídeo. Estes parâmetros foram calculados utilizando o software Thermal Advantage for 29XX series versão 1.3 (TA Instruments, New Castle, EUA). Três replicatas foram realizadas para cada amostra.

2.2.2.6. Difratomia de raios x

A análise foi realizada de acordo com Farahnaky e Majzoobi (2008). As amostras liofilizadas da massa e das três porções dos pães pré-assados e dos pães reassados foram moídas e passadas através de peneira de 32 mesh. Medidas da difração de raio-x foram realizadas em um Difratomômetro de Raios x modelo X'Pert (Philips, Andover, EUA). A geração de raios x foi equipada com um tubo de cobre operando a 40 kV e 30 mA e produzindo radiações Cu α de aproximadamente 1.54 Å de comprimento de onda. Dados foram registrados de $2\theta = 5$ a 40° utilizando um tamanho de passo de $0,02^\circ$ e um tempo de residência de 1 s.

2.2.2.7. Espectrometria no infravermelho

Amostras da massa e das três porções dos pães pré-assados e dos pães reassados foram liofilizadas, moídas e passadas através de peneira de 32 mesh. Misturas de 2 mg destas amostras e 200 mg de KBr foram preparadas. O material foi colocado dentro de um conjunto formatador para formação das pastilhas, aplicando-se uma força de 80 kN por 10 minutos, com o auxílio de uma prensa hidráulica. Os espectros infravermelhos (4000 a 400 cm^{-1}) das amostras foram obtidos em um espectrofotômetro transformado de Fourier (FTIR) modelo IRPrestige-21 (Shimadzu, Kyoto, Japão) usando as técnicas de análise qualitativa e análise diferencial. As medidas foram feitas a uma resolução de 4 cm^{-1} com varredura de 45 escaneamentos. Utilizou-se o software IR Solution versão 1.21 (Shimadzu, Kyoto, Japão) para análise de ajuste das curvas.

2.2.2.8. Microscopia óptica de luz polarizada

Amostras liofilizadas, moídas e passadas através de peneira de 32 mesh da massa e das três porções dos pães pré-assados e dos pães reassados foram colocadas entre lâminas e lamínulas com uma gota de água. As lâminas foram observadas utilizando um microscópio de luz polarizada modelo BX51 (Olympus, Tokyo, Japão) e imagens foram capturadas com uma câmera fotográfica modelo E330-ADU1.2X (Olympus, Tokyo, Japão).

2.2.2.9. Microscopia eletrônica de varredura

A microestrutura da massa e das três porções dos pães pré-assados e dos pães reassados foi examinada em um microscópio eletrônico de varredura (MEV) com detector de energia dispersiva de raios x modelo Leo 440i (LEO Electron Microscopy Ltda, Cambridge, Reino Unido), sob as seguintes condições: alto vácuo = 10^{-4} Pa, distância de trabalho (foco) = 25 mm, energia do feixe de elétrons (tensão de aceleração) = 10 kV, corrente do feixe de elétrons de 100 pA. Antes da análise, as amostras foram colocadas em *stubs* de alumínio contendo fita de dupla face de carbono condutor e posteriormente recobertas por ouro em um *Sputter Coater* modelo SC7620 (VG Microtech, Uckfield, Reino Unido). Ampliações de 1000 e 3000 vezes foram obtidas.

2.2.2.10. Análise estatística

Para comparar a massa e as diferentes porções dos pães nos diferentes estágios do processamento, os dados obtidos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e ao teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando o programa Statistica 5.0 (StatSoft Inc., Tulsa, EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Perfil de temperatura

O perfil de temperatura no miolo interno, miolo externo, crosta e ambiente ao longo das etapas de pré-assamento, resfriamento, congelamento, reassamento e resfriamento está apresentado na Figura 4.2.

Na etapa de pré-assamento, a massa a 30°C (temperatura estabelecida na câmara de fermentação) foi inserida no forno de lastro e uma injeção de 3 s de vapor foi dada. Apesar da temperatura do forno estar estabelecida em 190°C/210°C (lastro/teto), ela alcançou no máximo 186°C. Notou-se que a abertura de pestana dos pães ocorreu quando a temperatura do miolo interno estava próxima a 40°C. Com 60,0% do tempo de pré-assamento, o miolo interno alcançou 63°C, temperatura referente à morte das leveduras. Com 68,6% do tempo alcançou 76°C, temperatura referente à gelatinização do amido e com 88,5% do tempo de pré-assamento alcançou 93°C. Apesar destes tempos serem referentes a um forneamento de pré-assamento, estes valores estão de acordo com as recomendações da AIB (2001) para uma curva de tempo x temperatura ideal para assamento de um pão convencional. Quando o miolo interno do pão alcançou 93°C (aproximadamente após 10 minutos), as portas do forno foram abertas. Após aproximadamente 1,5 minuto a temperatura do miolo interno alcançou 96°C, havendo equilíbrio de temperatura com as demais porções do pão (miolo externo e crosta). A velocidade de aquecimento da massa no pré-assamento foi de aproximadamente 5,7°C/min. Neste momento, o pão já pré-assado foi retirado do forno e deixado resfriar à temperatura ambiente até que o miolo interno alcançasse 35°C (40 minutos) e depois inserido no ultrancongelador até que a temperatura do miolo interno alcançasse -18°C (aproximadamente 1 hora). Neste momento, a temperatura da crosta era -33,2° e a da câmara -38,9°C. A velocidade de resfriamento do pão nesta etapa foi de aproximadamente -0,83°C/min. Após 8 minutos à temperatura ambiente, o pão pré-assado congelado foi colocado no forno turbo combinado estabelecido para reassamento: 4 min com vapor alto e depois 8 minutos a seco. Apesar da temperatura do forno estar estabelecida em 180°C, ela alcançou no máximo 162°C. A velocidade de aquecimento do pão no reassamento foi de aproximadamente 8,5°C/min. O pão reassado saiu do forno apresentando miolo interno e externo a 91°C e crosta a 96°C. O miolo interno demorou aproximadamente 1,5 hora para alcançar o equilíbrio com o ambiente (21°C).

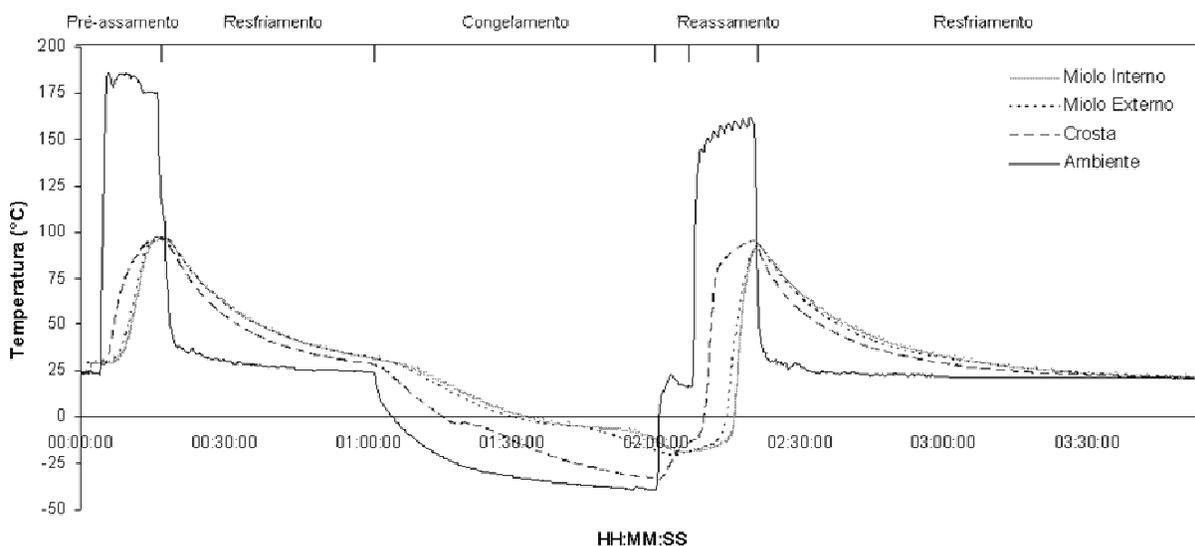


Figura 4.2: Perfil de temperatura no miolo interno, miolo externo, crosta e ambiente durante o pré-assamento, resfriamento, congelamento, reassamento e resfriamento

3.2. Umidade

Os valores de umidade da massa e das três porções dos pães pré-assados e dos pães reassados está apresentado na Tabela 4.2. Pelos dados apresentados, observa-se apenas uma pequena diferença de umidade (aproximadamente 2%) entre a massa e os miolos interno e externo do pão pré-assado. Já a crosta do pão pré-assado apresentou uma relevante perda de água em relação à massa, apresentando 19,43% de umidade. Quando observamos os valores de umidade dos miolos interno e externo do pão reassado, notamos que eles tinham valores de umidade maiores que as suas respectivas porções no pão pré-assado e que estes valores não são significativamente diferentes ao apresentado pela massa. Este aumento de umidade dos miolos no reassamento ocorreu devido a esta etapa ter sido realizada sob vapor nos primeiros minutos. Mesmo com o término da etapa de reassamento a seco e com o resfriamento do pão após o reassamento, notou-se que os valores de umidade dos miolos interno e externo mantiveram-se altos enquanto que a crosta perdeu a umidade significativamente, apresentando valor de 13,18%, ou seja, valor significativamente inferior à crosta do pão pré-assado ($p < 0,05$). Quando há a injeção de vapor, a superfície da massa absorve o vapor, o que induz o transporte de calor na massa. A absorção da umidade devido ao vapor previne a perda de umidade do pão (SLUIMER, 2005).

Bárcenas e Rosell (2006b) verificaram que a umidade maior no pão pré-assado do que no pão reassado ocorreu devido à evaporação de água durante o reassamento. A umidade do pão pré-assado foi em torno de $(41,40 \pm 0,03) \%$ e do pão reassado $(36,21 \pm 0,01) \%$. Leuschner, O'Callaghan e Arendt (1997) também verificaram perda de umidade durante o reassamento, ao trabalharem com pães de forma feitos com massas de 850 g. Eles observaram que a perda ocorreu somente dentro da área da crosta (até 10 mm abaixo da mesma), enquanto o resto do pão não foi afetado. O conteúdo de umidade na crosta diminuiu de 40 para 20% enquanto a umidade no miolo permaneceu a um valor constante (45%).

Com relação aos problemas relatados sobre pães pré-assados, Leuschner, O'Callaghan e Arendt (1997) comentam sobre a perda de peso e Sluimer (2005) sobre o ressecamento dos pães após a etapa de reassamento. Pelo conteúdo de umidade apresentado pelo pão reassado neste trabalho, nota-se que foi possível contornar estes problemas através da aplicação de vapor contínuo nos primeiros minutos da etapa de reassamento e da presença de fibra alimentar/farelo na formulação. A fibra possibilitou um aumento de absorção de água pela massa e provavelmente promoveu a retenção desta água durante as etapas de assamento.

Tabela 4.2: Umidade, cor, comportamento viscoamilográfico e parâmetros térmicos do DSC da massa e das três porções dos pães pré-assados e dos pães reassados

	Massa	MIPA	MEPA	CPA	MIRA	MERA	CRA
Umidade	45,19 ± 0,12 ab	42,89 ± 0,16 c	43,11 ± 0,41 c	19,43 ± 0,77 d	44,89 ± 0,47 b	46,21 ± 0,24 a	13,18 ± 0,87 e
Cor							
L*	---	66,86 ± 1,32 a	---	68,33 ± 1,16 a	66,54 ± 1,27 a	---	61,24 ± 3,20 b
a*	---	5,41 ± 0,22 c	---	8,92 ± 0,86 b	5,28 ± 0,14 c	---	13,55 ± 1,37 a
b*	---	18,65 ± 0,43 c	---	26,16 ± 1,03 b	18,79 ± 0,41 c	---	30,07 ± 0,72 a
RVA							
Temperatura de pasta (°C)	93,75 ± 0,92 b	95,55 ± 0,07 a	95,48 ± 0,04 a	94,38 ± 0,04 ab	95,48 ± 0,04 a	95,60 ± 0,07 a	94,88 ± 0,25 ab
Viscosidade máxima (cP)	953 ± 23 a	436 ± 8 bc	416 ± 3 c	474 ± 14 bc	292 ± 2 d	329 ± 5 d	324 ± 10 d
Tempo visc. máxima (min)	6,03 ± 0,14 c	6,67 ± 0 ab	6,63 ± 0,14 ab	6,37 ± 0,23 bc	6,97 ± 0,05 a	6,87 ± 0,09 ab	6,56 ± 0,14 ab
Viscosidade mínima (cP)	622 ± 13 a	406 ± 16 c	394 ± 4 c	462 ± 14 b	257 ± 6 e	305 ± 1 d	315 ± 12 d
Breakdown (cP)	332 ± 36 a	30 ± 8 b	22 ± 1 b	12 ± 0 b	35 ± 4 b	24 ± 4 b	8 ± 5 b
Viscosidade final a 50°C (cP)	1299 ± 1 a	768 ± 14 c	751 ± 11 c	903 ± 8 b	585 ± 6 e	612 ± 1 de	652 ± 22 d
Setback (cP)	678 ± 15 a	363 ± 2 c	357 ± 7 cd	441 ± 6 b	328 ± 1 de	307 ± 2 e	336 ± 10 cde
DSC							
Amilopectina retrogradada							
T₀ (°C)	nd	47,03 ± 0,47 a	49,80 ± 1,94 a	43,62 ± 13,73 a	47,60 ± 1,12 a	43,53 ± 6,82 a	51,06 ± 2,85 a
T_p (°C)	nd	51,30 ± 0,16 a	54,82 ± 1,60 a	46,78 ± 9,27 a	53,14 ± 0,18 a	49,22 ± 6,52 a	55,88 ± 1,28 a
ΔH (J/g)	nd	0,28 ± 0,05 a	0,08 ± 0,05 a	0,20 ± 0,20 a	0,34 ± 0,04 a	0,37 ± 0,36 a	0,05 ± 0,02 a
Gelatinização do amido							
T₀ (°C)	59,88 ± 0,33 b	nd	nd	64,82 ± 1,21 a	nd	nd	63,86 ± 0,55 a
T_p (°C)	66,55 ± 0,12 b	nd	nd	69,17 ± 0,39 a	nd	nd	69,68 ± 1,58 a
ΔH (J/g)	1,87 ± 0,23 a	nd	nd	0,46 ± 0,11 b	nd	nd	0,43 ± 0,08 b
Complexo amilose-lipídeo							
T₀ (°C)	87,07 ± 1,16 a	88,64 ± 1,24 a	91,22 ± 0,72 a	87,34 ± 1,25 a	87,86 ± 1,26 a	86,94 ± 7,60 a	85,70 ± 1,07 a
T_p (°C)	95,46 ± 0,87 a	97,40 ± 0,29 a	96,85 ± 3,31 a	96,16 ± 0,70 a	98,61 ± 0,18 a	100,06 ± 6,04 a	96,79 ± 0,57 a
ΔH (J/g)	0,36 ± 0,13 a	0,51 ± 0,09 a	0,25 ± 0,07 a	0,41 ± 0,03 a	1,74 ± 0,16 a	1,65 ± 1,32 a	0,55 ± 0,05 a

* média ± desvio padrão, n = 3. Médias seguidas pela mesma letra, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05). MIPA = miolo interno do pão pré-assado, MEPA = miolo externo do pão pré-assado, CPA = crosta do pão pré-assado, MIRA = miolo interno do pão reassado, MERA = miolo externo do pão reassado, CRA = crosta do pão reassado, T₀ = temperatura inicial, T_p = temperatura de pico, ΔH = entalpia e nd = não detectado.

3.3. Cor

Os valores de L^* , a^* e b^* do miolo e da crosta do pão pré-assado e do pão reassado estão apresentados na Tabela 4.2. A crosta do pão reassado apresentou significativamente ($p < 0,05$) menor luminosidade e maiores valores de a^* e b^* em relação à crosta do pão pré-assado, o que significa que a crosta daquele apresentou-se mais escura e com maior tendência às cores vermelha e amarela que a crosta deste. Observa-se também que a luminosidade da crosta do pão pré-assado não se diferenciou da luminosidade dos miolos dos pães pré-assados e dos pães reassados. A característica típica de um pão pré-assado que o diferencia de um pão comum é a sua cor pálida, a qual é requerida para enfatizar a necessidade de reassamento. Ao consumidor é dada a impressão que o produto é uma massa ao invés de um pão (SLUIMER, 2005). Na etapa de pré-assamento, o forneamento do pão ocorre até que o miolo esteja formado e a cor da crosta não esteja desenvolvida, ou seja, o processo é finalizado antes que a reação de *Maillard* ocorra na crosta (BÁRCENAS; ROSELL, 2006a, 2006b; FIK; SURÓWKA, 2002). Já na segunda fase de forneamento o objetivo é proporcionar coloração amarronzada à crosta (SLUIMER, 2005). Com relação à cor do miolo nota-se que ela não foi afetada pelo processo de reassamento, uma vez que os miolos do pão pré-assado e do pão reassado não apresentaram diferença significativa dos valores de L^* , a^* e b^* . Este resultado está de acordo com o encontrado por Leuschner, O'Callaghan e Arendt (1997).

3.4. Propriedades de pasta

O perfil de pasta da massa e das três porções dos pães pré-assados e dos pães reassados está apresentado na Figura 4.3 e na Tabela 4.2. A temperatura de pasta dá uma indicação da temperatura mínima requerida para cozinhar uma determinada amostra e também indica o custo de energia (LEON *et al.*, 2010). Observa-se que as amostras apresentaram temperatura de pasta em torno de 95°C, valor bem mais alto quando comparado ao valor do amido de trigo: 63,4 a 68,7°C (AZIZI; RAO, 2005; SHIBANUMA; TAKEDA; HIZUKURI, 1996). Este retardamento da temperatura de pasta da massa pode ter ocorrido devido à presença do sal e também do farelo e do germe, os quais possuem componentes que competem com o amido pela água e adiam o processo de gelatinização. Em adição, a formulação utilizada contém emulsificante e enzima glicolipase, a qual deixa disponíveis na massa lipídeos polares monoacil que podem complexar com a amilose. A literatura explica que a formação de complexo ente amilose

(parcialmente) lixiviada e emulsificantes pode atrasar o inchamento do grânulo. Os emulsificantes podem influenciar as propriedades de inchamento e viscosidade do amido durante o aquecimento (GELDERS; GOESAERT; DELCOUR, 2006). Como consequência do aumento da temperatura de pasta, houve também um retardamento no tempo em que a viscosidade máxima se desenvolveu (tempo de viscosidade máxima).

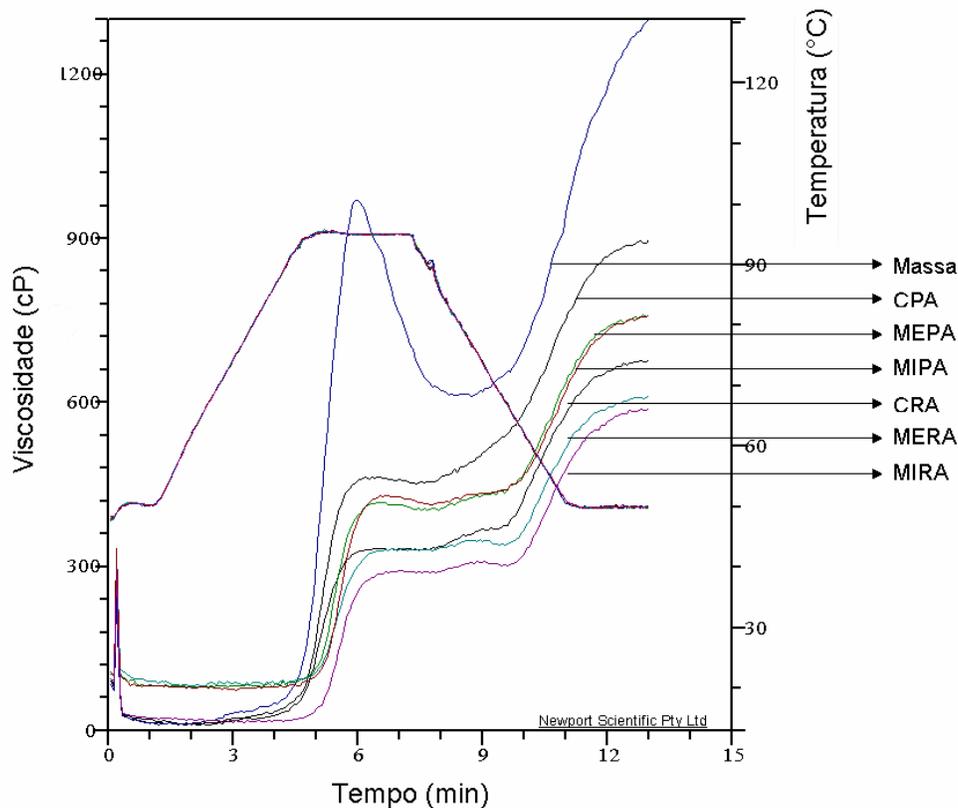


Figura 4.3: Perfil de pasta da massa, do miolo interno do pão pré-assado (MIPA), do miolo externo do pão pré-assado (MEPA), da crosta do pão pré-assado (CPA), do miolo interno do pão reassado (MIRA), do miolo externo do pão reassado (MERA) e da crosta do pão reassado (CRA)

Todas as porções dos pães apresentaram significativamente ($p < 0,05$) viscosidade máxima menor que a da massa. Isto pode estar relacionado ao fato que a viscosidade máxima obtida pela massa foi resultado da gelatinização dos grânulos de amido nela presente. As porções dos pães pré-assados e dos pães reassados (miolo interno, miolo externo e crosta) já tiveram parte do amido gelatinizado no processo de panificação nas etapas de forneamento. A viscosidade máxima obtida por estas porções dos pães devem ser provavelmente à gelatinização dos grânulos de amido que ainda estavam intactos.

Valor mais baixo da viscosidade da pasta é uma indicação de uma redução do amido disponível para gelatinização (COLLAR; SANTOS; ROSELL, 2006). Logo, pelos valores de viscosidade máxima notamos que todas as porções do pão pré-assado provavelmente possuem mais amido intacto (amido não gelatinizado) do que as porções dos pães reassados. As porções dos pães pré-assados apresentaram viscosidade máxima significativamente maior ($p < 0,05$) do que as porções dos pães reassados.

Os valores de viscosidade mínima seguiram o mesmo perfil dos valores de viscosidade máxima. A massa apresentou significativamente ($p < 0,05$) maior viscosidade mínima em relação a todas as porções dos pães e, as porções dos pães pré-assados apresentaram maior viscosidade mínima em relação às porções dos pães reassados ($p < 0,05$).

O *breakdown*, que está relacionado à habilidade dos amidos em suportarem o aquecimento a alta temperatura e o estresse de cisalhamento, não foi estatisticamente diferente entre as porções dos pães pré-assados e dos pães reassados. No entanto, a massa apresentou *breakdown* significativamente superior a todas as porções dos pães. Somente parte do amido das porções dos pães pré-assados e dos pães reassados foi gelatinizada durante o aquecimento no RVA, uma vez que a outra parte dos grânulos já tinha sido gelatinizada durante o processo de forneamento do pão. Logo, o *breakdown* das porções dos pães foi menor que o da massa por possuírem menos grânulos de amido gelatinizados durante a análise susceptíveis ao estresse do calor e cisalhamento. Altos valores de *breakdown* estão associados com altos valores de viscosidade máxima, o que está relacionado ao grau de inchamento dos grânulos de amido durante o aquecimento (RAGAE; ABDEL-AAL, 2006).

Observa-se que a viscosidade aumentou rapidamente no resfriamento de 95 a 50 °C em todas as amostras. A massa apresentou maiores valores de viscosidade final e *setback* em relação a todas as porções do pão pré-assado e do pão reassado ($p < 0,05$). Comparando-se as porções do pão pré-assado e as do pão reassado, as porções dos primeiros apresentaram estatisticamente maiores valores de viscosidade final e *setback* que as porções dos últimos, ou seja, o pão reassado apresentou menor tendência à retrogradação que o pão pré-assado. Como o pão pré-assado possui uma maior quantidade de amido a ser gelatinizado na análise de RVA, ele também disponibilizará um maior número de amiloses lixiviadas, que quando recristalizadas, contribuirão para uma maior viscosidade final. Quando o amido gelatinizado esfria, a reorganização da amilose

resulta em um aumento na viscosidade até que um gel seja formado no final do teste (viscosidade final). A diferença entre a viscosidade final e a mínima é o *setback*, que está relacionado à retrogradação das cadeias de amilose (JI *et al.* 2010).

3.5. Transições térmicas do amido

Quatro picos podem ser obtidos no termograma durante o aquecimento no DSC de uma amostra contendo amido em excesso de água. Se grânulos intactos de amido estão presentes no sistema, a gelatinização aparecerá como um pico endotérmico na faixa de 55-75°C. A gelatinização do amido é um processo irreversível e se uma amostra que já foi gelatinizada e resfriada for reaquecida imediatamente no DSC, somente uma transição será registrada durante o segundo aquecimento devido ao complexo amilose-lipídio. Este pico endotérmico aparece na faixa de 90-110°C. A transição é reversível, o complexo é novamente formado durante o resfriamento. Porém, se a amostra é estocada pelo menos um dia antes do reaquecimento, uma nova endoterma será observada próxima ao intervalo da gelatinização. Este pico é atribuído à fusão da amilopectina recristalizada e ocorre na faixa de 45-65°C. Outro pico endotérmico que pode ser observado é devido à fusão da amilose retrogradada que ocorre a temperaturas acima de 110°C (COLONNA; BULEON, 2010; ELIASSON, 2003; JAGANNATH *et al.*, 1998; LÉON; DURAN, BARBER, 1997; LIU, 2005; RASMUSSEN; HANSEN, 2001). Através dos termogramas obtidos na análise de DSC da massa e das três porções do pão pré-assado e do pão reassado foi possível observar as transições do amido (Tabela 4.2 e Figura 4.4).

Dois picos endotérmicos apareceram no termograma quando a massa foi aquecida de 20 a 120°C no DSC. O primeiro pico do termograma corresponde ao processo de gelatinização do amido, o qual ocorreu em $66,55 \pm 0,12^\circ\text{C}$ e teve entalpia de $1,87 \pm 0,23 \text{ J/g}$ e o segundo pico correspondente à fusão do complexo amilose-lipídeo ocorreu a $95,46 \pm 0,87^\circ\text{C}$ e com entalpia de $0,36 \pm 0,13 \text{ J/g}$. Com relação ao pico de gelatinização do amido da massa, Bárcenas *et al.* (2003) e Leon *et al.* (1997) verificaram que este evento ocorreu em duas etapas, ou seja, houve dois picos referentes à gelatinização do amido da massa. Um primeiro pico correspondente à gelatinização da fase amorfa do amido, o qual apareceu entre 67,2 e 83,4°C e um segundo pico correspondente à fusão dos cristais mais estáveis da estrutura do amido, o qual apareceu entre 88,1 e 90,9°C. Este comportamento é típico do amido quando aquecido na presença de quantidade limitada de água, condição diferente da realizada no presente trabalho.

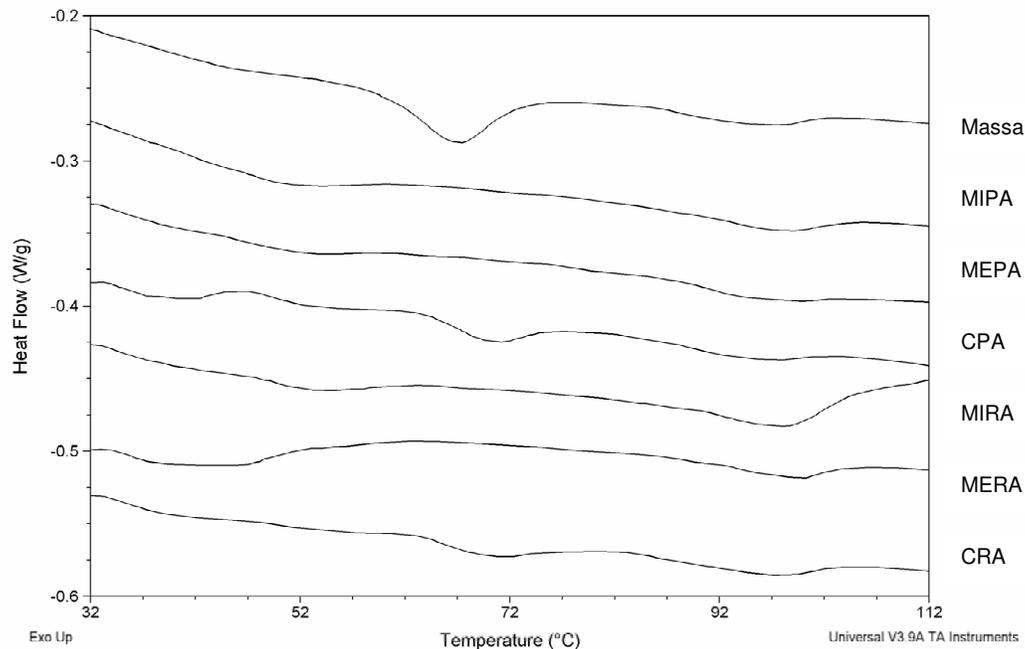


Figura 4.4: Termogramas do DSC de cima para baixo da massa, do miolo interno do pão pré-assado (MIPA), do miolo externo do pão pré-assado (MEPA), da crosta do pão pré-assado (CPA), do miolo interno do pão reassado (MIRA), do miolo externo do pão reassado (MERA) e da crosta do pão reassado (CRA)

Como no termograma da massa, nos miolos do pão pré-assado e do pão reassado foram detectados dois picos. O segundo pico também foi referente à fusão do complexo amilose-lipídeo, mas o primeiro ocorreu no intervalo de 43 a 54 °C, o que caracteriza um pico da fusão da amilopectina retrogradada. Os miolos não apresentaram pico referente à gelatinização do amido. Farahnaky e Majzoubi (2008) também observaram a presença de somente dois picos endotérmicos (fusão da amilopectina retrogradada e transição do complexo amilose-lipídeo) nos termogramas do miolo interno de pães pré-assados de diferentes marcas comerciais. De acordo com os autores, este fato confirma que no final do primeiro assamento para todos os oito pães pré-assados analisados não existiam grânulos de amido intactos e quase todos os grânulos foram gelatinizados. Neste trabalho citado, valores de entalpia de 0,9 a 4,5 J/g foram encontrados para a fusão da amilopectina retrogradada e 0,69 a 1,35 J/g para a transição do complexo amilose-lipídeo.

Os termogramas das crostas do pão pré-assado e do pão reassado apresentaram três picos: fusão da amilopectina recristalizada, gelatinização do amido e fusão do complexo amilose-lipídeo. A entalpia de gelatinização do amido das crostas do pão pré-

assado e do pão reassado foi significativamente inferior à entalpia de gelatinização do amido da massa e as temperaturas inicial e de pico da gelatinização do amido daquelas porções foram significativamente superiores à esta. Durante o forneamento, a quantidade de água na crosta não é suficiente para gelatinizar o amido, então somente os grânulos de amido mais susceptíveis gelatinizarão. Os grânulos que permanecem depois do processo de forneamento serão mais estáveis, como refletido pela maior temperatura de fusão no termograma do DSC (PRIMO-MARTIN *et al.*; 2007).

As crostas do pão pré-assado e do pão reassado não apresentaram diferença significativa entre si com relação à temperatura inicial, temperatura de pico e entalpia de gelatinização do amido. Este resultado dá indícios de que nenhuma alteração ocorre na crosta do pão pré-assado durante o reassamento com relação à gelatinização do amido. Apesar de 33% do tempo de reassamento ter sido realizada sob vapor, a água disponível nesta porção do pão durante esta etapa do processamento provavelmente não alterou a estrutura do amido. Para os miolos interno e externo, a mesma observação é válida. Os picos de fusão da amilopectina retrogradada não apresentaram diferença quanto à temperatura inicial, temperatura de pico e entalpia do pão pré-assado para o pão reassado, ou seja, nenhuma mudança do amido no processo de reassamento foi detectada pela análise de DSC.

A massa e as porções dos pães pré-assados e dos pães reassados não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) quanto à temperatura inicial, temperatura de pico e entalpia do pico endotérmico referente à transição do complexo amilose-lipídeo. Isto nos leva a notar que o complexo amilose-lipídeo presente ou formado na massa não foi alterado pelas etapas de processamento do pão pré-assado.

3.6. Difractometria de raios x

A difratometria de raios x foi utilizada para investigar as mudanças na cristalinidade do amido que podem ter ocorrido devido às etapas do processamento. Os difratogramas de raios x da massa e das três porções do pão pré-assado e pão reassado estão apresentados na Figura 4.5. Foram identificados na massa picos nos ângulos $2\theta = 15, 17,18$ e 23° , o que corresponde ao arranjo tipo A associado aos amidos de cereais (WU *et al.*, 2009).

Os difratogramas adquiridos dos miolos internos e externo do pão pré-assado e do pão reassado mostraram um arranjo típico de um sistema amorfo, sugerindo que o amido perdeu sua cristalinidade tipo A nativa já no processo de pré-assamento. Quando o amido é gelatinizado, o padrão de difração é o do tipo V, que é relativamente amorfo, apresentando baixa cristalinidade (KARIM; NORZIAH; SEOW, 2000). Nestas amostras verificou-se a predominância de um pico a 20° a 2θ , pico que corresponde ao padrão V referente à presença de complexos amilose-lipídeo cristalinos (OTTENHOF; FARHAT, 2004; ZOBEL; KULP, 1996). Ozkoc *et al.* (2009) e Ribotta *et al.* (2004) verificaram que o pão fresco convencional possuía também no difratograma somente um pico a 20° correspondente à estrutura tipo V. De acordo com Karim, Norziah e Seow (2000), o amido no pão fresco é na sua maior parte amorfo. Farahnaky e Majzoobi (2008), ao analisar o miolo de diferentes pães pré-assados, observaram que as amostras apresentaram pequenos picos em particular de 14 a 24° a 2θ , o que indicou que os miolos dos pães pré-assados apresentaram alguma retrogradação. Esta diferença de resultado pode ter sido encontrado, pois possivelmente estes autores não analisaram os pães recém pré-assados.

Com relação às crostas do pão pré-assado e do pão reassado, os difratogramas apresentaram além do pico a 20° , picos em 17 e 23° a 2θ . A cristalinidade tipo B é caracterizada por um pico bem definido a 17° a 2θ (WU *et al.*, 2010) e está relacionada à retrogradação do amido (LIU, 2005). A retrogradação do amido é essencialmente um processo que envolve a reorganização das moléculas que eventualmente levarão ao desenvolvimento de cristalinidade. Durante a gelatinização, o padrão de difração de raios-x do amido nativo desaparece. Durante a estocagem, um padrão de raios-x, padrão B, surge. Para amido de cereais, o padrão V também será detectado devido ao complexo amilose lipídeo. Ambas amilose e amilopectina recristalizadas dão o padrão B na difração de raios x (ELIASSON, 2003).

É interessante observar que o pico a 20° foi encontrado em todas as amostras, ou seja, a estrutura cristalina tipo V do complexo amilose-lipídeo estava presente simultaneamente às demais estruturas (padrões tipo A e B) em todas as amostras, inclusive na massa.

No geral, o resultado obtido possibilita observar que os processos de pré-assamento e reassamento interferiram na cristalinidade do amido da massa. Ela diminuiu em relação aos miolos e alterou o perfil em relação às crostas, uma vez que estas apresentaram um padrão de retrogradação ao invés de um padrão de amido intacto.

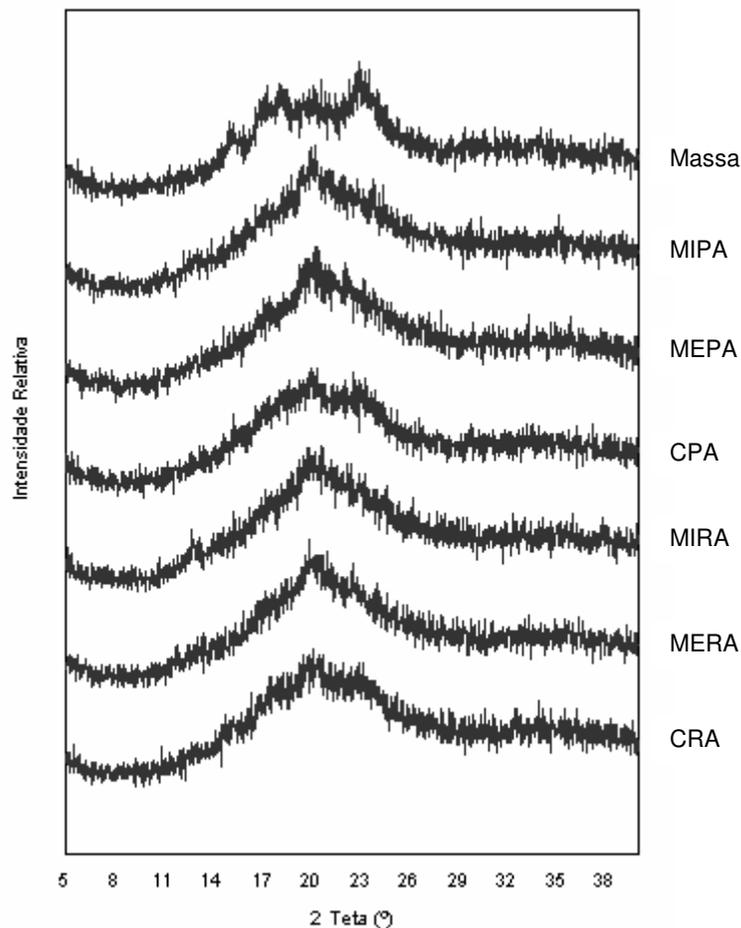


Figura 4.5: Difratogramas de raios-x de cima para baixo da massa, do miolo interno do pão pré-assado (MIPA), do miolo externo do pão pré-assado (MEPA), da crosta do pão pré-assado (CPA), do miolo interno do pão reassado (MIRA), do miolo externo do pão reassado (MERA) e da crosta do pão reassado (CRA)

3.7. Espectrometria no infravermelho

Na Figura 4.6 estão representados os espectros de absorção no infravermelho da massa e das três porções do pão pré-assado e do pão reassado. É possível verificar que a massa e as três porções do pão pré-assado e do pão reassado apresentaram as mesmas bandas na região de 1200 a 800 cm^{-1} (Figura 4.6b.), que é uma região do espectro que tem mostrado ser sensível ao grau de organização molecular do amido (OTTENHOF; HILL; FARHAT, 2005). A massa e as porções dos pães apresentaram picos em torno de 1047-1080 cm^{-1} característicos da região cristalina do amido e de 1019-1022 cm^{-1} , característicos da região amorfa do amido. Analisando estes espectros de absorção pode-se verificar a preponderância de regiões cristalinas ou de regiões amorfas, pela intensidade desses dois picos (SMITS *et al.*, 1998). A taxa entre as segundas derivadas das bandas 1047 cm^{-1} e 1022 cm^{-1} ($1047 \text{ cm}^{-1}/1022 \text{ cm}^{-1}$) pode expressar o grau de ordem do amido. Entre as amostras, a massa apresentou a maior taxa, 0,97, o que mostra a maior cristalinidade dos grânulos de amido nesta amostra. As crostas do pão pré-assado e do pão reassado apresentaram taxa um pouco inferior à massa. Valores de 0,91 e 0,93, respectivamente foram encontrados nestas porções. Estas taxas ficaram próximas às encontrados para o miolo interno e miolo externo do pão pré-assado (0,91 e 0,94, respectivamente). Os miolos interno e externo do pão reassado apresentaram as menores taxas 0,60 e 0,82, respectivamente, o que mostra o menor grau de cristalinidade dos grânulos de amido nestas porções dos pães. A redução progressiva da cristalinidade das porções do pão pré-assado e do pão reassado em relação à massa foi provavelmente devido à gelatinização do amido, o que provocou a perda da ordem molecular do amido. Ji *et al.* (2010) encontraram taxa entre 0,87 e 0,90 para miolo de bolo de arroz e Smits *et al.* (1998) taxa entre 0,90 e 0,99 para amido de batata.

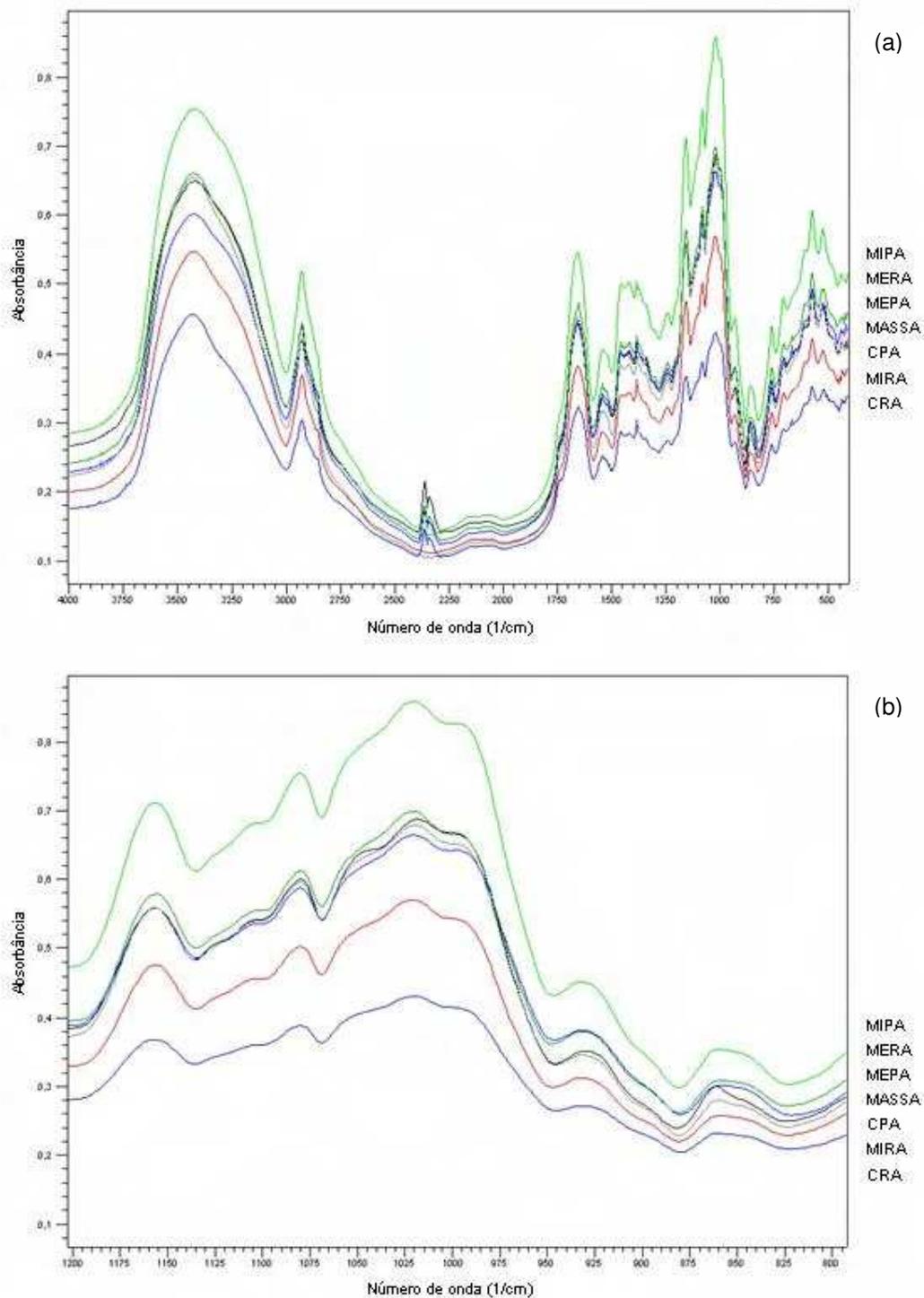


Figura 4.6: Espectros de absorção no infravermelho na região de (a) 4000–400cm⁻¹ e (b) 1200–800cm⁻¹ da massa, do miolo interno do pão pré-assado (MIPA), do miolo externo do pão pré-assado (MEPA), da crosta do pão pré-assado (CPA), do miolo interno do pão reassado (MIRA), do miolo externo do pão reassado (MERA) e da crosta do pão reassado (CRA)

3.8. Microscopia óptica de luz polarizada

As imagens microscópicas da massa e das três porções do pão pré-assado e do pão reassado sob luz regular e luz polarizada são apresentadas na Figura 4.7. Sob um microscópio de luz polarizada, os grânulos de amido exibem birrefringência, conhecida como cruz de Malta. A birrefringência da cruz de Malta reflete o arranjo radial das moléculas no grânulo de amido (JANE, 2004). Verifica-se que na massa os grânulos apresentaram-se intactos, exibindo cruz de malta sob a luz polarizada. Ao analisarmos os miolos interno e externo do pão pré-assado e do pão reassado observa-se uma perda de birrefringência dos grânulos, o que é reflexo do decréscimo de cristalinidade e integridade estrutural. Quando os grânulos de amido gelatinizam e sua estrutura é rompida, a birrefringência é perdida (DONALD, 2004). Na micrografia dos miolos alguns grânulos ainda exibiram orientação molecular. Nas crostas do pão pré-assado e do pão reassado também se observou perda de birrefringência, mas em menor proporção da que ocorreu nos miolos. Em panificação, o nível de gelatinização depois do assamento depende da temperatura e da quantidade de água disponível no sistema, ou seja, diferentes resultados com relação à birrefringência do amido no miolo e crosta podem ocorrer. Cerca de 40% do amido na crosta não gelatiniza devido à ausência de água (PRIMO-MARTIN *et al.*, 2007).

Apesar de haver esta hipótese da gelatinização não ter ocorrido em todos os grânulos do miolo e em maior evidência nos grânulos da crosta, Vodovotz *et al.* (2001) mencionam que quando o amido começa a retrogradar no pão, ocorre o ressurgimento da cruz de malta sob a luz polarizada. Logo, a presença de grânulos na crosta e no miolo exibindo birrefringência pode ser devido à não ocorrência da gelatinização, ao desenvolvimento de retrogradação ou devido a coexistência destes duas causas. A orientação molecular dos grânulos da crosta possivelmente é consequência da ausência de gelatinização dos grânulos, uma vez que a endoterma de gelatinização foi detectada na análise de DSC. Para o miolo, suposta birrefringência devido à retrogradação é possível, pois a endoterma de gelatinização não foi verificada para as amostras referentes à esta porção do pão. Mas, por outro lado, a verificação da ausência da endoterma de gelatinização pode ter ocorrido devido ao número destes grânulos ser muito pequeno comparado ao número total de grânulos presentes na amostra.

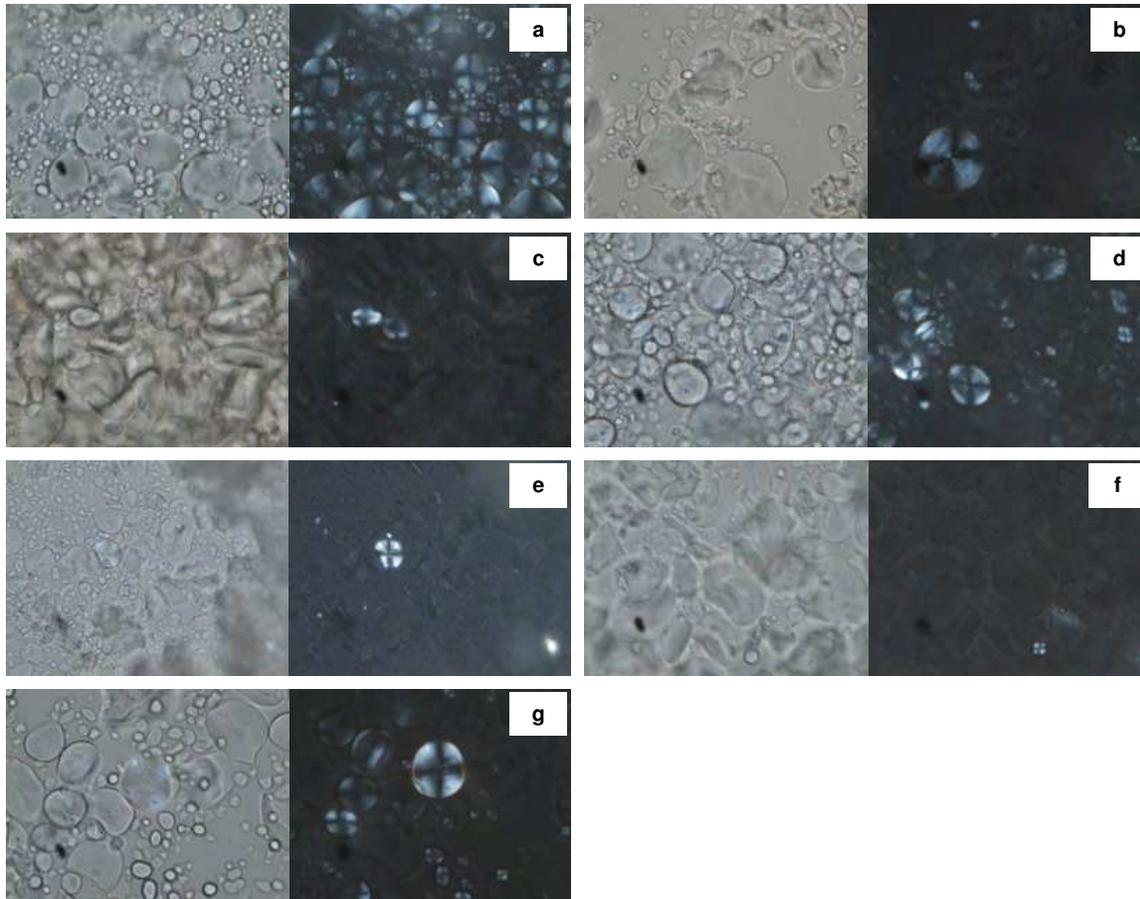


Figura 4.7: Imagem microscópica com ampliação de 100 x (a) da massa, (b) do miolo interno do pão pré-assado (MIPA), (c) do miolo externo do pão pré-assado (MEPA), (d) da crosta do pão pré-assado (CPA), (e) do miolo interno do pão reassado (MIRA), (f) do miolo externo do pão reassado (MERA) e (g) da crosta do pão reassado (CRA). Imagem sob luz regular à esquerda e sob luz polarizada à direita

3.9. Microscopia eletrônica de varredura

A microestrutura da massa e das três porções do pão pré-assado e do pão reassado está apresentada nas Figuras 4.8 e 4.9. Na microestrutura da massa é bem evidenciada a presença da característica morfológica típica dos grânulos do amido do trigo: os grânulos maiores lenticulares tipo A e os grânulos menores esféricos tipo B. Em todas as microestruturas das porções dos pães é possível diferenciar duas fases, uma fase contínua formada pela rede protéica do glúten desnaturado e uma fase descontínua composta claramente por grânulos de amido distintos embebidos na fase contínua

(BÁRCENAS; ROSELL, 2006b). As microestruturas do miolo e da crosta apresentaram alguns grânulos de amido menores, que parecem estar intactos quanto a sua forma granular, ou seja, grânulos que não passaram pelo processo de gelatinização. Primo-Martin *et al.* (2007) demonstraram a presença de amido granular na crosta e de grânulos remanescentes quando ia-se em direção ao miolo. Observa-se que, apesar da massa ter passado pelas etapas de pré-assamento e de reassamento, uma parte dos grânulos de amido no miolo e a maioria dos grânulos na crosta não perderam sua identidade e não se desintegraram completamente, apesar de terem seu formato totalmente deformado. Esta observação está de acordo Gray e Bemiller (2003) e Ozkoc *et al.* (2009). Observa-se que os grânulos na massa se apresentavam bem esféricos, enquanto que no miolo e na crosta passaram a apresentar um formato plano, que por vezes fizeram uma dobra em si próprios. Os grânulos planos nos dão a impressão de estarem vazios, como se tivessem perdido seu conteúdo. Não se encontram visualmente diferenças entre as microestruturas das porções dos pães pré-assados e as dos pães reassados, o que sugere que qualquer mudança que ocorra no pão após o pré-assamento, tanto em termos de miolo como de crosta, são mudanças submicroscópicas, isto é, a nível molecular.

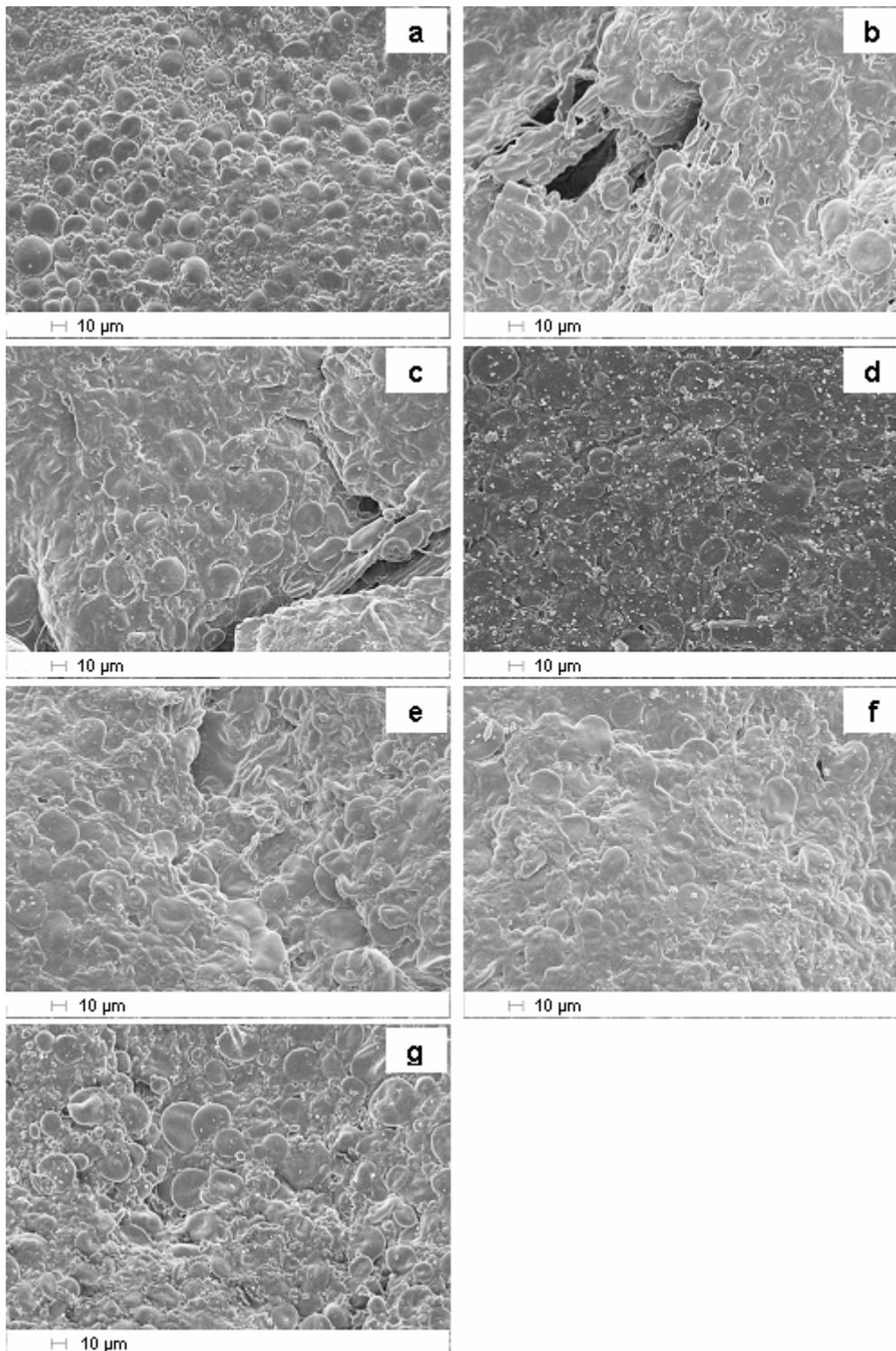


Figura 4.8: Microestrutura a 1000 vezes de ampliação (a) da massa, (b) do miolo interno do pão pré-assado (MIPA), (c) do miolo externo do pão pré-assado (MEPA), (d) da crosta do pão pré-assado (CPA), (e) do miolo interno do pão reassado (MIRA), (f) do miolo externo do pão reassado (MERA) e (g) da crosta do pão reassado (CRA)

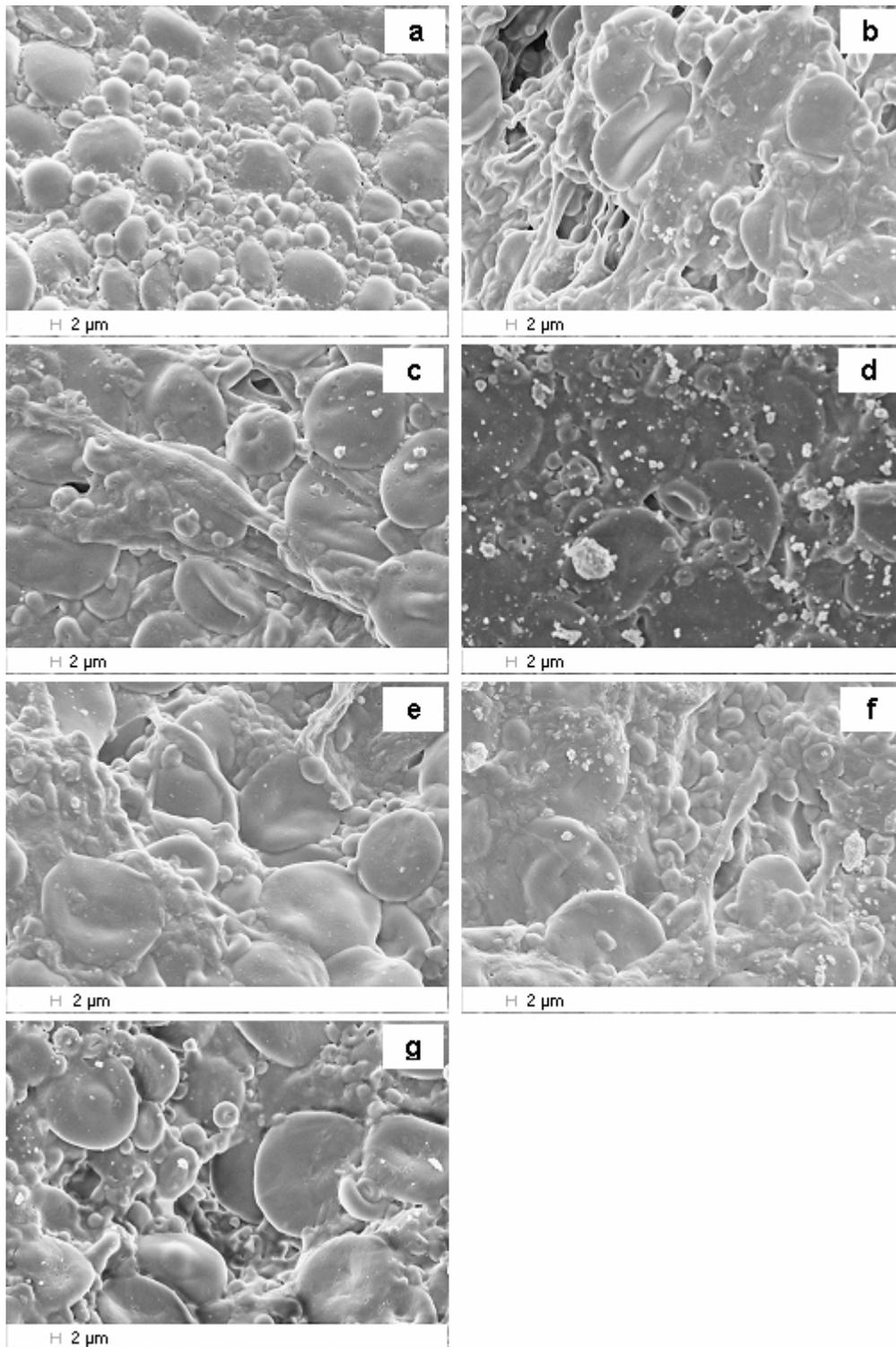


Figura 4.9: Microestrutura a 3000 vezes de ampliação (a) da massa, (b) do miolo interno do pão pré-assado (MIPA), (c) do miolo externo do pão pré-assado (MEPA), (d) da crosta do pão pré-assado (CPA), (e) do miolo interno do pão reassado (MIRA), (f) do miolo externo do pão reassado (MERA) e (g) da crosta do pão reassado (CRA)

4. CONCLUSÃO

Através das análises realizadas neste trabalho foi possível identificar as mudanças estruturais que ocorreram nos processos de pré-assamento e reassamento dos pães. A análise de umidade mostrou que os miolos interno e externo do pão reassado apresentaram o mesmo conteúdo de água que a massa, o que demonstrou que a aplicação de vapor durante alguns minutos no reassamento contornou problemas de ressecamento e perda de peso de pães reassados. A análise de cor mostrou que os miolos interno e externo do pão não foram afetados pelo reassamento e a cor da crosta do pão pré-assado apresentou-se similar à cor dos miolos interno e externo deste mesmo pão, o que é ideal para a comercialização do produto. Todos os parâmetros de análise do RVA demonstraram maior presença de amido a ser gelatinizado na massa do que nas porções do pão pré-assado e estas por sua vez, possuíam maior quantidade de amido a ser gelatinizado que as porções do pão reassado. As análises de DSC e microscopia óptica de luz polarizada tenderam a mostrar que no final do pré-assamento não existia mais grânulos de amido intactos no miolo e quase todos os grânulos já tinham sido gelatinizados. A crosta foi a porção do pão pré-assado que apresentou grande número de grânulos de amido intacto e que este fato não se alterou após o reassamento. A difratometria de raios-x também mostrou este perfil nas porções dos pães através da perda da cristalinidade do amido do miolo logo após a etapa de pré-assamento e alteração do padrão de cristalinidade da crosta. A microestrutura apresentada na microscopia eletrônica de varredura mostrou os grânulos de amido intactos da massa e os grânulos de amido deformados no miolo e crosta, não sendo observadas diferenças nas porções do pão das etapas de pré-assamento para a de reassamento. Portanto, houve a verificação que a massa passa por maiores transformações na etapa de pré-assamento do que na etapa de reassamento. A crosta apresentou grandes diferenças em relação aos miolos e, os miolos interno e externo mostraram o mesmo perfil de alterações ao longo dos processo de assamento, não apresentando grandes diferenças entre si.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC - American Association of Cereal Chemists **Approved methods of the American Association of Cereal Chemists**. 11^a ed. St. Paul: Approved Methods Committee, 2010. Disponível em: <<http://www.aaccnet.org/ApprovedMethods/default.aspx>>. Acesso em: 15 jan. 2010.

AIB -American Institute of Baking. **Science of baking**: correspondence course. Manhattan: AIB International, Inc., 2001. 4v.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists **Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemists**. 16 ed., 3. rev. Gaithersburg: AOAC International, 1997.

AZIZI, M. H.; RAO, G. V. Effect of surfactant in pasting characteristics of various starches. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p. 739–743, 2005.

BÁRCENAS, M. E.; HAROS, M.; BENEDITO, C.; ROSELL, C. M. Effect of freezing and frozen storage on the staling of part-baked bread. **Food Research International**, v. 36, p. 863-869, 2003.

BÁRCENAS, M. E.; ROSELL, C. M. Different approaches for improving the quality and extending the shelf life of the partially baked bread: low temperatures and HPMC addition. **Journal of Food Engineering**, v. 72, p. 92–99, 2006a.

BÁRCENAS, M. E.; ROSELL, C. M. Effect of frozen storage time on the bread crumb and aging of par-baked bread. **Food Chemistry**, v. 95, p. 438–445, 2006b.

BRASIL Portaria SVS/MS nº 27, de 13 de janeiro de 1998. Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16 jan 1998. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=97&word=>>>. Acesso em: 18 nov. 2005.

CARR, L. G.; RODAS, M. A. B.; TORRE, J. C. M. D.; TADINI, C. C. Physical, textural and sensory characteristics of 7-day frozen part-baked French bread. **LWT – Food Science and Technology**, v. 39, p. 540–547, 2006.

COLLAR, C.; SANTOS, E.; ROSELL, C. M. Significance of dietary fiber on the viscometric pattern of pasted and gelled flour-fiber blends. **Cereal Chemistry**, v. 83, p. 370-376, 2006.

COLONNA, P.; BULEON, A. Thermal transitions of starches. In: BERTOLINI, A. C. (Ed.). **Starches**: characterization, properties and applications Boca Raton: CRC Press, 2010. Paginação irregular.

DONALD, A. M. Understanding starch structure and functionality. In: Eliasson. A.-C. (Ed.). **Starch in food**: structure, function and applications. Boca Raton: CRC Press LLC; Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2004. Paginação irregular.

ELIASSON, A.-C. Utilization of thermal properties for understanding baking and staling processes. In: BRESLAUER, K. J.; KALETUNC, G. (Eds.). **Characterization of cereals and flours: properties, analysis and applications**. New York: Marcel Dekker, Inc., 2003. Paginação irregular.

FARAHNAKY, A.; MAJZOBI, M. Physicochemical properties of partbaked breads. **International Journal of Food Properties**, v. 11, p. 186–195, 2008.

FERREIRA, P. B. M.; WATANABE, E. ; BENASSI, V. T. Estudo do processo de produção de pão francês pré-assado. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 2, p. 91-95, 1999.

FIK, M.; SURÓWKA, K. Effect of prebaking and frozen storage on the sensory quality and instrumental texture of bread. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 82, p. 1268-1275, 2002.

GELDERS, G. G.; GOESAERT, H.; DELCOUR, J. A. Amylose–lipid complexes as controlled lipid release agents during starch gelatinization and pasting. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 1493–1499, 2006.

GRAY, J. A.; BEMILLER, J. N. Bread staling: molecular basis and control. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 2, p. 1-21, 2003.

HILLEBRAND, M. **Altering equipment to produce par-baked breads: with some modifications to existing lines, any baker that has the means to bake and freeze can produce par-baked breads**. Disponível em: <<http://bakingmanagement.bakery-net.com/article/7877>>. Acesso em: 14 jul. 2005.

JAGANNATH, J. H.; JAYARAMAN, K. S.; ARYA, S. S.; SOMASHEKAR R. Differential scanning calorimetry and wide-angle x-ray scattering studies of bread staling. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 67, p. 1597–1603, 1998.

JANE, J.-L. Starch: structure and properties. In: TOMASIK, P. (Ed.). **Chemical and functional properties of food saccharides**. Boca Raton: CRC Press LLC, 2004. Paginação irregular.

JI, Y.; ZHU, K.; ZHOU, H.; QIAN, H. Study of the retrogradation behaviour of Rice cake using rapid visco analyser, Fourier transform infrared spectroscopy and X-ray analysis. **International Journal of Food Science and Technology**, v.45, p. 871–876, 2010.

KARIM, A. A.; NORZIAH, M. H.; SEOW, C. C. Methods for the study of starch retrogradation. **Food Chemistry**, v. 71, p. 9-36, 2000.

KENNEDY, J. C. (Ed.). **Managing frozen foods**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited; Boca Raton: CRC Press LLC, 2000. Paginação irregular.

LEON, A.; DURAN, E.; BARBER, C. B. A new approach to study starch changes occurring in the dough-baking process and during bread storage. **Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung A**, v. 204, p. 316-320, 1997.

LEON, E.; PISTON, F.; AOUNI, R.; SHEWRY, P. R.; ROSELL, C. M.; MARTIN, A.; BARRO, F. Pasting properties of transgenic lines of a commercial bread wheat expressing combinations of HMW glutenin subunit genes. **Journal of Cereal Science**, v. 51, p. 344-349, 2010.

LEUSCHNER, R. G. K.; O'CALLAGHAN, M. J. A.; ARENDT, E. K. Optimization of baking parameters of part-baked and rebaked Irish brown soda bread by evaluation of some quality characteristics. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 32, p. 487-493, 1997.

LEUSCHNER, R. G. K.; O'CALLAGHAN, M. J. A.; ARENDT, E. K. Bacilli spoilage in part-baked and rebaked brown soda bread. **Journal of Food Science**, v. 63, p. 915-918, 1998.

LEUSCHNER, R. G. K.; O'CALLAGHAN, M. J. A.; ARENDT, E. K. Moisture distribution and microbial quality of part baked breads as related to storage and rebaking conditions. **Journal of Food Science**, v. 64, p. 543-546, 1999.

LIU, Q. Understanding Starches and Their Role in Foods. In: CUI, S. W. (Ed.). **Food Carbohydrates: chemistry, physical properties and applications**. Boca Raton: Taylor & Francis Group, LLC, 2005. Paginação irregular.

MARQUART, L.; SLAVIN, J. L.; FULCHER, R. G. (Eds.). **Whole-grain foods in health and disease**. St Paul: American Association of Cereal Chemists, Inc., 2002. 382p.

NUTRINEWS **Semi-assado e supergelado: o pãozinho francês se modernizou**. Disponível em: < <http://www.nutrinews.com.br/edicoes/9905/mat01.html>>. Acesso em: 23 jan 2011.

OTTENHOF, M.-A.; FARHAT, I. A. The effect of gluten on the retrogradation of wheat starch. **Journal of Cereal Science**, v. 40, p. 269-274, 2004.

OTTENHOF, M.-A.; HILL, S. E.; FARHAT, I. A. Comparative study of the retrogradation of intermediate water content waxy maize, wheat, and potato starches. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 631-638, 2005.

OZKOC, S. O.; SUMNU, G.; SAHIN, S.; TURABI, E. Investigation of physico chemical properties of breads baked in microwave and infrared-microwave combination ovens during storage. **European Food Research Technology**, v. 228, p. 883-893, 2009.

PRIMO-MARTIN, C.; VAN NIEUWENHUIJZENA, N. H.; HAMER, R. J.; VAN VLIET, T. Crystallinity changes in wheat starch during the bread-making process: starch crystallinity in the bread crust. **Journal of Cereal Science**, v. 45, p. 219-226, 2007.

RAGAEI, S.; ABDEL-AAL, E-S. M. Pasting properties of starch and protein in selected cereals and quality of their food products. **Food Chemistry**, v. 95, p. 9-18, 2006.

RASMUSSEN, P. H.; HANSEN, A. Staling of wheat bread stored in modified atmosphere. **LWT – Food Science and Technology**, v. 34, p. 487-491, 2001.

RIBOTTA, P. D.; CUFFINI, S.; LEÓN, A. E. ; ANÓN, M. C. The staling of bread: an X-ray diffraction study. **European Food Reserch Technology**, v. 218, p. 219–223, 2004.

RODRIGO, C. P.; VADILLO, V. R. El trigo, el pan y la pasta en la dieta mediterránea. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 54, n. 1, p. 52-58, 2004.

SHIBANUMA, Y.; TAKEDA, Y.; HIZUKURI, S. Molecular and pasting properties of some wheat starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 29, p. 235–261, 1996.

SLUIMER, P. **Principles of breadmaking**: functionality of raw materials and process steps. St. Paul: The American Association of Cereal Chemists, Inc., 2005. 212p.

SMITS, A. L. M.; RUHNAU, F. C.; VLIEGENTHART, J. F. G.; VAN SOEST, J. J. G. Ageing of starch based systems as observed with T-IR and solid state NMR spectroscopy. **Starch**, v. 50, p. S. 478–483, 1998.

SUMNU, S. G.; OZKOC, S. O. Infrared Baking and Roasting. In: PAN, Z.; ATUNGULU, G. G. (Eds.). *Infrared heating for food and agricultural processing*. Boca Raton: CRC Press, LLC. 2010. Paginação irregular

VODOVOTZ, Y.; BAIK, M.; VITTADINI, E.; CHINACHOTI, P. Instrumental techniques used in bread staling analysis. In: CHINACHOTI, P.; VODOVOTZ, Y. (Eds.). **Bread staling**. Boca Raton: CRC Press LLC, 2001. Paginação irregular.

WU, Y.; CHEN, Z.; LI, X.; LI, M. Effect of tea polyphenols on the retrogradation of rice starch. **Food Research International**, v. 42, p. 221–225, 2009.

WU, Y.; CHEN, Z.; LI, X.; WANG, Z. Retrogradation properties of high amylose rice flour and rice starch by physical modification. **LWT – Food Science and Technology**, v. 43, p. 492–497, 2010.

YOKOYAMA, W. H.; HUDSON, C. A.; CHIU, M. M.; BETSCHART, A. A. Effect of formulation and processing on the enzymatic digestion of common cereal products. **Cereal Foods World**, v. 39, n. 6, p. 439-443, 1994.

ZOBEL, H. F., KULP, K. The staling mechanism. In: HEBEDA, R.E., ZOBEL, H.F. (Eds.). **Baked goods freshness**: technology, evaluation, and inhibition of staling. New York: Marcel Dekker, 1996. p. 1–64.

CONCLUSÕES GERAIS

Através deste trabalho verificou-se que é possível produzir pão francês pré-assado congelado elaborado com farinha do trigo integral possuindo boas características de qualidade e com boa aceitação e intenção de compra do consumidor. Além disso, verificou-se que alguns problemas relacionados a pães pré-assados podem ser resolvidos através de ajustes de processo e de formulação. O pão pré-assado já possui uma estrutura frágil. Quando elaborado com a farinha do trigo integral, que possui grande quantidade de fibras e que retém grande quantidade de água, o produto fica mais frágil ainda, e a probabilidade deste pão colapsar logo após sua saída do pré-assamento é grande. Através deste estudo constatou-se que este problema de colapso da estrutura do pão pré-assado pode ser contornado através da adoção conjunta dos seguintes parâmetros: formulação adequada às características da mistura de farinhas de trigo para que um formato mais arredondado da estrutura seja alcançado, realização de uma modelagem mais aberta e etapa da fermentação finalizada quando a massa ainda apresenta resistência ao toque (para que a massa não perca seu poder de sustentação da estrutura e alcance maior volume em uma estrutura frágil). Para evitar o problema de ressecamento e perda de peso apresentado pelos pães pré-assados, a realização da etapa de reassamento sob vapor nos primeiros instantes se mostrou efetiva.

No Capítulo 1 deste trabalho observou-se que a fermentação é uma etapa crítica do processamento de pães pré-assados e que deve ser cautelosamente monitorada. Tempos de fermentação além do ponto que a massa perde a resistência ao toque tendem a deixar os pães pré-assados com maiores volumes específicos e elasticidade do miolo, mas que perdem em pestana, abertura e apresentam colapso da estrutura.

No Capítulo 2 verificou-se que as enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase tiveram desempenho satisfatório sendo possível utilizá-las na formulação de pão pré-assado congelado elaborado com farinha do trigo integral e obter produtos de boa qualidade. Faixas de dosagem destas enzimas para utilização conjuntamente com uma formulação base foram estabelecidas de tal forma que o pão francês pré-assado apresentasse boas características de tolerância à fermentação, salto de forno, formato, abertura e pestana. Na maioria destes parâmetros, as três enzimas apresentaram interação entre si, ou seja, a resposta de cada enzima às variações de dosagem foi influenciada pela dosagem das demais. As concentrações de 30 a 75 ppm de glicolipase,

91 a 359 ppm de hemicelulase e 30 a 120 ppm de hexose oxidase utilizadas conjuntamente sobre a formulação base utilizada neste estudo são indicadas.

No Capítulo 3 verificou-se que os pães pré-assados obtidos poderiam ser estocados até 65 dias congelados sem que mudanças de suas características com 7 dias de estocagem congelada fossem notadas pelos consumidores. A alteração de muitos parâmetros de qualidade dos pães ao longo do período de estocagem congelada foi dependente da formulação utilizada (presença/ausência ou quantidades diferentes das enzimas glicolipase, hemicelulase e hexose oxidase na formulação). O volume específico, a firmeza do miolo, a umidade, a temperatura de transição vítrea, os parâmetros do DSC da fusão da amilopectina retrogradada e a aceitação sensorial foram afetados pelo período de estocagem congelada em algumas formulações. Porém, a elasticidade do miolo, as propriedades da água medidas por DSC, os parâmetros de DSC da transição do complexo amilose-lipídeo e a intenção de compra dos consumidores não foram alteradas pelo período de estocagem congelada, independentemente da formulação.

No Capítulo 4 houve a verificação que a massa do pão passa por maiores transformações na etapa de pré-assamento do que na etapa de reassamento. A crosta apresentou grandes diferenças em relação aos miolos e, os miolos interno e externo mostraram o mesmo perfil de alterações ao longo dos processo de assamento, não apresentando grandes diferenças entre si. Logo após a etapa de pré-assamento, os grânulos de amido dos miolos (interno e externo) já gelatinizaram, restando apenas alguns grânulos intactos isolados. A crosta após o pré-assamento apresentou considerável quantidade de grânulos de amido intactos, perfil que persistiu na crosta do pão reassado.

ANEXOS

ANEXO I

Cálculo da quantidade de fibra alimentar no pão

	(% base farinha)	(% massa)	Perda de Água	(% pão)	(% fibra)
Farinha de trigo branca	40	24,04	24,04	27,15	0,73
Farinha de grão inteiro de trigo	60	36,05	36,05	40,72	4,97
Água	62	37,26	25,80	29,13	---
Fermento Biológico	0,8	0,48	0,48	0,54	---
Sal	2,0	0,60	0,60	0,68	---
Glúten Vital	1,0000	1,2000	1,2000	1,3600	---
Datem	0,5000	0,3000	0,3000	0,3400	---
Ácido Ascórbico	0,0170	0,0102	0,0102	0,0115	---
Azodicarbonamida	0,0045	0,0027	0,0027	0,0031	---
α -amilase fúngica 5000 SKB	0,0200	0,0120	0,0120	0,0136	---
Glicolipase	0,0150	0,0090	0,0090	0,0102	---
Hemicelulase	0,0450	0,0270	0,0270	0,0305	---
Hexose Oxidase	0,0150	0,0090	0,0090	0,0102	---
Total	166,42	100,00	88,54	100,00	5,70

* Considerações: Perda de água entre a massa e o pão reassado = 11,46% (determinado experimentalmente). De acordo com (HHS; USDA, 2005): conteúdo de fibra alimentar total da farinha do trigo refinado = 2,70% e conteúdo de fibra alimentar total da farinha do trigo integral = 12,20%.

ANEXO II

Coeficientes de regressão para as diferentes respostas do Capítulo 2

Coeficientes de regressão para a resposta tempo de mistura rápida

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (7)	p - valor
Média*	5,54	0,34	16,49	<0,0001
GL (L)	0,14	0,16	0,89	0,4011
GL (Q)	0,01	0,17	0,06	0,9511
HM (L)	0,00	0,16	0,03	0,9767
HM (Q)	0,08	0,17	0,49	0,6406
HO (L)	0,18	0,16	1,14	0,2932
HO (Q)	-0,07	0,17	-0,41	0,6928
GL x HM	-0,19	0,21	-0,90	0,3981
GL x HO*	0,53	0,21	2,58	0,0366
HM x HO	0,01	0,21	0,03	0,9766

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 95% de confiança ($p < 0,05$).

Coeficientes de regressão para a resposta tempo de fermentação

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (7)	p - valor
Média*	1,53	0,13	12,05	<0,0001
GL (L)	0,02	0,06	0,31	0,7646
GL (Q)	-0,01	0,07	-0,10	0,9208
HM (L)*	0,18	0,06	2,97	0,0208
HM (Q)	0,02	0,07	0,35	0,7400
HO (L)	0,07	0,06	1,13	0,2961
HO (Q)*	0,14	0,07	2,14	0,0697
GL x HM	-0,06	0,08	-0,80	0,4493
GL x HO*	0,33	0,08	4,27	0,0037
HM x HO*	0,19	0,08	2,40	0,0472

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 90% de confiança ($p < 0,10$).

Coeficientes de regressão para a resposta volume dos pães pré-assados

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (7)	p - valor
Média*	291,30	16,32	17,85	<0,0001
GL (L)	-4,45	7,66	-0,58	0,5797
GL (Q)	1,72	8,44	0,20	0,8444
HM (L)	11,87	7,66	1,55	0,1655
HM (Q)	-0,05	8,44	-0,01	0,9954
HO (L)	-0,41	7,66	-0,05	0,9592
HO (Q)	-0,58	8,44	-0,07	0,9471
GL x HM	8,25	10,01	0,82	0,4372
GL x HO	22,50	10,01	2,25	0,0595
HM x HO	13,75	10,01	1,37	0,2121

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 95% de confiança ($p < 0,05$).

Coeficientes de regressão para a resposta peso dos pães pré-assados

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (2)	p - valor
Média*	79,91	0,42	190,95	<0,0001
GL (L)	0,22	0,20	1,11	0,3828
GL (Q)	0,44	0,22	2,03	0,1797
HM (L)	0,05	0,20	0,27	0,8142
HM (Q)	0,04	0,22	0,21	0,8561
HO (L)	0,17	0,20	0,86	0,4812
HO (Q)	0,08	0,22	0,36	0,7527
GL x HM	-0,08	0,26	-0,32	0,7816
GL x HO	-0,18	0,26	-0,72	0,5485
HM x HO	0,08	0,26	0,30	0,7945

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 95% de confiança ($p < 0,05$).

Coeficientes de regressão para a resposta volume específico dos pães pré-assados

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (7)	p - valor
Média*	3,64	0,21	17,08	<0,0001
GL (L)	-0,07	0,10	-0,65	0,5345
GL (Q)	0,00	0,11	0,02	0,9815
HM (L)*	0,15	0,10	1,47	0,1852
HM (Q)	0,00	0,11	-0,02	0,9815
HO (L)	-0,01	0,10	-0,08	0,9349
HO (Q)	-0,02	0,11	-0,15	0,8833
GL x HM	0,10	0,13	0,79	0,4541
GL x HO*	0,29	0,13	2,19	0,0650
HM x HO*	0,17	0,13	1,29	0,2383

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 95% de confiança ($p < 0,05$).

Coeficientes de regressão para a resposta volume dos pães reassados

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (7)	p - valor
Média*	267,92	16,22	16,51	<0,0001
GL (L)	-2,91	7,62	-0,38	0,7136
GL (Q)	3,44	8,39	0,41	0,6943
HM (L)	11,43	7,62	1,50	0,1771
HM (Q)	5,20	8,39	0,62	0,5546
HO (L)	-0,28	7,62	-0,04	0,9714
HO (Q)	0,61	8,39	0,07	0,9443
GL x HM	5,25	9,95	0,53	0,6142
GL x HO	18,50	9,95	1,86	0,1054
HM x HO	10,25	9,95	1,03	0,3374

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 95% de confiança ($p < 0,05$).

Coeficientes de regressão para a resposta peso dos pães reassados

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (2)	p - valor
Média*	79,25	0,41	193,87	<0,0001
GL (L)	0,39	0,19	2,04	0,1777
GL (Q)	0,53	0,21	2,52	0,1276
HM (L)*	-0,15	0,19	-0,79	0,5107
HM (Q)	-0,10	0,21	-0,49	0,6736
HO (L)	0,21	0,19	1,12	0,3808
HO (Q)	0,12	0,21	0,57	0,6285
GL x HM	-0,01	0,25	-0,04	0,9718
GL x HO*	-0,29	0,25	-1,16	0,3670
HM x HO*	-0,21	0,25	-0,83	0,4950

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 95% de confiança ($p < 0,05$).

Coeficientes de regressão para a resposta volume específico dos pães reassados

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (7)	p - valor
Média*	3,38	0,22	15,65	<0,0001
GL (L)	-0,07	0,10	-0,68	0,5173
GL (Q)	0,01	0,11	0,07	0,9454
HM (L)	0,15	0,10	1,48	0,1827
HM (Q)	0,07	0,11	0,64	0,5420
HO (L)	-0,01	0,10	-0,12	0,9043
HO (Q)	0,00	0,11	0,04	0,9698
GL x HM	0,06	0,13	0,48	0,6452
GL x HO	0,24	0,13	1,84	0,1085
HM x HO	0,14	0,13	1,05	0,3300

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 95% de confiança ($p < 0,05$).

Coeficientes de regressão para a resposta redução de volume

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (2)	p - valor
Média*	23,38	3,28	7,14	0,0191
GL (L)	-1,54	1,54	-1,00	0,4229
GL (Q)	-1,72	1,69	-1,01	0,4171
HM (L)	0,43	1,54	0,28	0,8050
HM (Q)	-5,25	1,69	-3,10	0,0901
HO (L)	-0,12	1,54	-0,08	0,9435
HO (Q)	-1,19	1,69	-0,70	0,5557
GL x HM	3,00	2,01	1,49	0,2742
GL x HO	4,00	2,01	1,99	0,1849
HM x HO	3,50	2,01	1,74	0,2238

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 95% de confiança ($p < 0,05$).

Coeficientes de regressão para a resposta redução de peso

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (2)	p - valor
Média*	0,66	0,13	5,23	0,0347
GL (L)	-0,17	0,06	-2,93	0,0996
GL (Q)	-0,09	0,07	-1,44	0,2858
HM (L)	0,20	0,06	3,44	0,0751
HM (Q)	0,15	0,07	2,25	0,1530
HO (L)	-0,05	0,06	-0,76	0,5254
HO (Q)	-0,04	0,07	-0,63	0,5912
GL x HM	-0,07	0,08	-0,92	0,4564
GL x HO	0,11	0,08	1,37	0,3053
HM x HO	0,28	0,08	3,65	0,0676

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 95% de confiança ($p < 0,05$).

Coeficientes de regressão para a resposta redução de volume específico

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (2)	p - valor
Média*	0,26	0,05	5,33	0,0334
GL (L)	0,00	0,02	0,16	0,8862
GL (Q)	-0,01	0,03	-0,21	0,8546
HM (L)	0,00	0,02	-0,12	0,9134
HM (Q)	-0,07	0,03	-2,93	0,0994
HO (L)	0,00	0,02	0,18	0,8732
HO (Q)	-0,02	0,03	-0,84	0,4912
GL x HM	0,04	0,03	1,33	0,3148
GL x HO	0,04	0,03	1,41	0,2931
HM x HO	0,03	0,03	1,00	0,4235

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 95% de confiança ($p < 0,05$).

Coeficientes de regressão para a resposta firmeza dos pães pré-assados

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (2)	p - valor
Média*	101,59	3,21	31,62	0,0010
GL (L)	2,82	1,51	1,87	0,2024
GL (Q)	1,11	1,66	0,67	0,5740
HM (L)*	-18,27	1,51	-12,11	0,0068
HM (Q)	3,76	1,66	2,27	0,1517
HO (L)	-0,16	1,51	-0,10	0,9268
HO (Q)	3,54	1,66	2,13	0,1667
GL x HM	2,00	1,97	1,02	0,4167
GL x HO*	-20,65	1,97	-10,48	0,0090
HM x HO*	-8,76	1,97	-4,44	0,0471

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 95% de confiança ($p < 0,05$).

Coeficientes de regressão para a resposta firmeza dos pães reassados

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (2)	p - valor
Média*	98,60	6,40	15,40	0,0042
GL (L)	4,68	3,01	1,56	0,2596
GL (Q)	0,24	3,31	0,07	0,9480
HM (L)	-8,42	3,01	-2,80	0,1074
HM (Q)	2,73	3,31	0,83	0,4961
HO (L)	2,00	3,01	0,67	0,5742
HO (Q)	5,94	3,31	1,80	0,2144
GL x HM	0,68	3,93	0,17	0,8779
GL x HO*	-18,11	3,93	-4,61	0,0440
HM x HO	-7,35	3,93	-1,87	0,2023

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 95% de confiança ($p < 0,05$).

Coeficientes de regressão para a resposta diferença de firmeza

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (2)	p - valor
Média	-2,99	4,35	-0,69	0,5636
GL (L)	1,86	2,04	0,91	0,4585
GL (Q)	-0,86	2,25	-0,38	0,7385
HM (L)*	9,85	2,04	4,82	0,0405
HM (Q)	-1,03	2,25	-0,46	0,6918
HO (L)	2,16	2,04	1,06	0,4019
HO (Q)	2,40	2,25	1,07	0,3975
GL x HM	-1,32	2,67	-0,49	0,6705
GL x HO	2,54	2,67	0,95	0,4417
HM x HO	1,41	2,67	0,53	0,6510

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 95% de confiança ($p < 0,05$).

Coeficientes de regressão para a resposta elasticidade do miolo dos pães pré-assados

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (2)	p - valor
Média*	51,01	0,44	116,01	0,0001
GL (L)	-0,26	0,21	-1,27	0,3324
GL (Q)	-0,17	0,23	-0,76	0,5276
HM (L)	-0,12	0,21	-0,58	0,6227
HM (Q)	0,18	0,23	0,79	0,5125
HO (L)	0,31	0,21	1,48	0,2769
HO (Q)	-0,31	0,23	-1,36	0,3077
GL x HM	0,59	0,27	2,18	0,1614
GL x HO	-0,21	0,27	-0,77	0,5223
HM x HO	0,71	0,27	2,61	0,1206

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 95% de confiança ($p < 0,05$).

Coeficientes de regressão para a resposta elasticidade do miolo dos pães reassados

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (2)	p - valor
Média*	53,44	0,47	113,32	0,0001
GL (L)	-0,38	0,22	-1,74	0,2245
GL (Q)	-0,17	0,24	-0,69	0,5601
HM (L)	-0,01	0,22	-0,04	0,9710
HM (Q)	-0,22	0,24	-0,90	0,4618
HO (L)	0,20	0,22	0,91	0,4578
HO (Q)	-0,11	0,24	-0,45	0,6947
GL x HM	0,33	0,29	1,13	0,3751
GL x HO	-0,16	0,29	-0,54	0,6408
HM x HO	0,19	0,29	0,66	0,5788

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 95% de confiança ($p < 0,05$).

Coeficientes de regressão para a resposta diferença de elasticidade

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (2)	p - valor
Média*	2,43	0,34	7,17	0,0189
GL (L)	-0,12	0,16	-0,77	0,5200
GL (Q)	0,00	0,17	0,02	0,9861
HM (L)	0,11	0,16	0,69	0,5603
HM (Q)	-0,40	0,17	-2,29	0,1494
HO (L)	-0,10	0,16	-0,65	0,5808
HO (Q)	0,20	0,17	1,13	0,3748
GL x HM	-0,26	0,21	-1,25	0,3367
GL x HO	0,05	0,21	0,24	0,8320
HM x HO	-0,52	0,21	-2,48	0,1310

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 95% de confiança ($p < 0,05$).

Coeficientes de regressão para a resposta altura da massa antes do forno

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (2)	p - valor
Média*	4,92	0,09	55,79	0,0003
GL (L)	0,05	0,04	1,11	0,3838
GL (Q)	-0,01	0,05	-0,21	0,8508
HM (L)	0,00	0,04	0,09	0,9354
HM (Q)	0,06	0,05	1,38	0,3026
HO (L)	0,02	0,04	0,47	0,6817
HO (Q)	-0,01	0,05	-0,21	0,8508
GL x HM	0,01	0,05	0,25	0,8232
GL x HO	0,09	0,05	1,73	0,2254
HM x HO	0,03	0,05	0,53	0,6484

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 95% de confiança ($p < 0,05$).

Coeficientes de regressão para a resposta altura dos pães após pré-assamento

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (2)	p - valor
Média*	6,39	0,10	63,26	0,0002
GL (L)	-0,07	0,05	-1,39	0,3003
GL (Q)	-0,05	0,05	-0,98	0,4311
HM (L)	0,10	0,05	2,01	0,1823
HM (Q)	-0,12	0,05	-2,30	0,1482
HO (L)	-0,01	0,05	-0,27	0,8109
HO (Q)	-0,06	0,05	-1,22	0,3482
GL x HM	0,02	0,06	0,36	0,7512
GL x HO	0,06	0,06	0,89	0,4683
HM x HO	-0,02	0,06	-0,28	0,8041

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 95% de confiança ($p < 0,05$).

Coeficientes de regressão para a resposta salto de forno no pré-assamento

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (2)	p - valor
Média*	1,47	0,05	29,90	0,0011
GL (L)*	-0,11	0,02	-4,84	0,0401
GL (Q)	-0,04	0,03	-1,63	0,2444
HM (L)*	0,09	0,02	3,97	0,0579
HM (Q)*	-0,18	0,03	-7,21	0,0187
HO (L)	-0,03	0,02	-1,42	0,2925
HO (Q)	-0,05	0,03	-2,12	0,1681
GL x HM	0,01	0,03	0,29	0,7985
GL x HO	-0,04	0,03	-1,29	0,3265
HM x HO	-0,05	0,03	-1,54	0,2639

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 90% de confiança ($p < 0,10$).

Coeficientes de regressão para a resposta largura do pão pré-assado

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (2)	p - valor
Média*	8,00	0,19	41,97	0,0006
GL (L)	0,02	0,09	0,20	0,8632
GL (Q)	-0,03	0,10	-0,28	0,8047
HM (L)	0,24	0,09	2,69	0,1146
HM (Q)	0,06	0,10	0,62	0,6007
HO (L)	-0,01	0,09	-0,07	0,9532
HO (Q)	0,00	0,10	0,02	0,9834
GL x HM	0,06	0,12	0,53	0,6463
GL x HO	0,31	0,12	2,67	0,1161
HM x HO	0,10	0,12	0,81	0,5017

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 95% de confiança ($p < 0,05$).

Coeficientes de regressão para a resposta formato do pão pré-assado

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (2)	p - valor
Média*	0,80	0,01	120,57	0,0001
GL (L)	-0,01	0,00	-3,07	0,0919
GL (Q)	0,00	0,00	-1,29	0,3249
HM (L)	-0,01	0,00	-3,69	0,0664
HM (Q)	-0,02	0,00	-5,41	0,0326
HO (L)	0,00	0,00	0,31	0,7866
HO (Q)	-0,01	0,00	-2,84	0,1051
GL x HM	0,00	0,00	-0,31	0,7884
GL x HO	-0,02	0,00	-5,21	0,0350
HM x HO	-0,01	0,00	-3,37	0,0780

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 90% de confiança ($p < 0,10$).

Coeficientes de regressão para a resposta comprimento do pão pré-assado

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (2)	p - valor
Média*	10,89	0,48	22,56	0,0020
GL (L)	-0,18	0,23	-0,78	0,5182
GL (Q)	0,09	0,25	0,37	0,7450
HM (L)	0,26	0,23	1,15	0,3686
HM (Q)	-0,03	0,25	-0,10	0,9283
HO (L)	0,04	0,23	0,18	0,8751
HO (Q)	-0,09	0,25	-0,37	0,7463
GL x HM	-0,11	0,30	-0,37	0,7487
GL x HO	0,35	0,30	1,18	0,3601
HM x HO	0,40	0,30	1,34	0,3128

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 95% de confiança ($p < 0,05$).

Coeficientes de regressão para a resposta abertura do pão pré-assado

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (2)	p - valor
Média*	3,239	0,055	58,498	0,0003
GL (L)	-0,033	0,026	-1,268	0,3323
GL (Q)*	-0,241	0,029	-8,424	0,0138
HM (L)	-0,043	0,026	-1,664	0,2380
HM (Q)*	0,114	0,029	3,991	0,0574
HO (L)*	0,122	0,026	4,681	0,0427
HO (Q)*	0,084	0,029	2,941	0,0988
GL x HM*	-0,198	0,034	-5,813	0,0283
GL x HO*	0,213	0,034	6,255	0,0246
HM x HO	0,000	0,034	0,000	1,0000

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 90% de confiança ($p < 0,10$).

Coeficientes de regressão para a resposta pestana do pão pré-assado

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (2)	p - valor
Média*	1,15	0,03	45,62	0,0005
GL (L)*	-0,04	0,01	-3,65	0,0676
GL (Q)*	-0,08	0,01	-6,01	0,0266
HM (L)*	-0,06	0,01	-4,87	0,0397
HM (Q)*	0,04	0,01	3,25	0,0830
HO (L)*	0,06	0,01	4,83	0,0403
HO (Q)*	0,10	0,01	8,02	0,0152
GL x HM*	-0,11	0,02	-6,89	0,0204
GL x HO*	0,07	0,02	4,62	0,0437
HM x HO	0,02	0,02	1,05	0,4023

GL = glicolipase, HM = hemicelulase, HO = hexose-oxidase, L = fator linear; Q = fator quadrático.

* fatores estatisticamente significativos a 90% de confiança ($p < 0,10$).

ANEXO III

Análise de Variância (ANOVA) dos modelos obtidos no Capítulo 2

ANOVA para a resposta tempo de fermentação

Fontes de variação	Soma de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F calculado
Regressão	1,84	4	0,46	12,38
Resíduos	0,45	12	0,04	
Falta de ajuste	0,30	10	0,03	
Erro puro	0,14	2	0,07	
Total	2,29	16		

% variação explicada (r^2) = 0,8049; $F_{4; 12; 0,10} = 2,48$

ANOVA para a resposta firmeza dos pães pré-assados

Fontes de variação	Soma de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F calculado
Regressão	8583,42	3	2861,14	11,00
Resíduos	3382,58	13	260,20	
Falta de ajuste	3320,40	11	301,85	
Erro puro	62,18	2	31,09	
Total	11966,01	16		

% variação explicada (r^2) = 0,7173; $F_{3; 13; 0,05} = 3,41$

ANOVA para a resposta diferença de firmeza

Fontes de variação	Soma de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F calculado
Regressão	1324,06	1	1324,06	38,07
Resíduos	521,75	15	34,78	
Falta de ajuste	407,56	13	31,35	
Erro puro	114,19	2	57,09	
Total	1845,81	16		

% variação explicada (r^2) = 0,7173; $F_{1; 15; 0,05} = 4,54$

ANOVA para a resposta salto de forno no pré-assamento

Fontes de variação	Soma de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F calculado
Regressão	0,62	3	0,21	10,24
Resíduos	0,26	13	0,02	
Falta de ajuste	0,25	11	0,02	
Erro puro	0,01	2	0,01	
Total	0,89	16		

% variação explicada (r^2) = 0,7026; $F_{3; 13; 0,10} = 2,56$

ANOVA para a resposta formato do pão pré-assado

Fontes de variação	Soma de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F calculado
Regressão	0,0113	5	0,0023	6,61
Resíduos	0,0037	11	0,0003	
Falta de ajuste	0,0035	9	0,0004	
Erro puro	0,0003	2	0,0001	
Total	0,0150	16		

% variação explicada (r^2) = 0,7502; $F_{5; 11; 0,10} = 2,45$

ANOVA para a resposta abertura do pão pré-assado

Fontes de variação	Soma de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F calculado
Regressão	2,12	6	0,35	11,16
Resíduos	0,32	10	0,03	
Falta de ajuste	0,30	8	0,04	
Erro puro	0,02	2	0,01	
Total	2,44	16		

% variação explicada (r^2) = 0,8700; $F_{6; 10; 0,10} = 2,46$

ANOVA para a resposta pestana do pão pré-assado

Fontes de variação	Soma de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F calculado
Regressão	0,53	8	0,07	2,84
Resíduos	0,19	8	0,02	
Falta de ajuste	0,18	6	0,03	
Erro puro	0,00	2	0,00	
Total	0,72	16		

% variação explicada (r^2) = 0,7395; $F_{8; 8; 0,10} = 2,59$